


# VİRAL HASTALIKLARDA TANI YÖNTEMLERİ

---

# Virüsün üretilmesi(izolasyonu)

---

- Virüsler yapay besiyerlerinde üreyemediklerinden hücre kültürlerinde veya başka bir canlı sistemde üretilmeleri gerekir.
- Bir çok viral hastalığın tanısında etkenin izolasyonu altın standarttır, buna karşın virüs izolasyonunun duyarlılığı moleküler tanı tekniklerinden daha düşük ve uygulaması daha zahmetlidir.

- 
- 
- Bu nedenle bir çok virüsün tanısı için rutin laboratuvar tanıda kültür yöntemleri uygulanmaz.
  - Virüs izolasyonu için örnekler virüsün en bol olduğu hastalığın **akut** döneminde toplanmalıdır.
  - Virüs izolasyonu için farklı hücre kültürleri kullanılabilir.

# Hücre Kültür Tipleri


---

- **Primer hücre kültürü:** Maymun böbreği, insan amnion zarları gibi dokuların dağıtılmasından elde edilen hücrelerden üretilen kültürdür.
- **Diploid hücre kültürleri:** Birinci kültürden hazırlanan kültürlerdir. İlk pasajlarında orjinleri ile %75 oranında aynı karyotiplidirler. Pasajlarla karyotiplerinde değişikliğe uğrarlar ve en çok 50 pasajda ölürlür.
- **Sürekli hücre kültürleri:** Bazı neoplazmlardan veya transforme hücrelerden elde edilen sürekli pasajlarla uzun süre sürdürülen kültürlerdir. Bunlara heteroploid hücre kültürü de denir.

- 
- Ortomiksovirüsler, paramiksovirüsler ve enterovirüsleri üretmek için primer maymun böbrek hücre dizisi ,
  - CMV başta olmak üzere HSV, VZV, adenovirüs, pikornavirüs gibi çok sayıda virüsü üretmek içinse insan fetal diploid hücre dizisi ideal ortamdır.
  - Hep-2 hücre dizisi ise özellikle RSV, adenovirüs ve HSV izolasyonu için mükemmel bir ortamdır.


- 
- Birçok virüs insan fibroblast hücre kültürlerinde 3 gün içinde üremesine karşın sitopatik etki (SPE)'nin görülmesi 7-21 gün sürer.
  - Bu nedenle daha hızlı sonuç almak için klasik kültür yöntemlerinde bazı modifikasyonlar yapılmıştır.
  - En sık kullanılan yöntem canlı kabuk (*shell vial*) yöntemidir. Bu yöntemde bir lam üzerine tutturulmuş tek tabaka hücre kültürü üzerine santrifüjle hastalık örnekleri inoküle edilir.48-72 saat sonra viral proteinlere özgül monoklonal antikorlarla immün boyama (floresan antikor) yapılarak üreme saptanır.

- 
- Sitopatik etki oluşturmeyen virüslerde üreme hemadsorbsiyon, heterolog interferans veya indikatör boya ile saptanabilir.
  - Bununla birlikte kültürde üreyen virüslerin kesin olarak tanımlanması için özgül antikörlerin kullanıldığı çeşitli testlerden birisi kullanılır.

- 
- 
- Floresan antikor (immün boyama testleri)
  - Kompleman fiksasyon
  - Hemaglutinasyon inhibisyon
  - SPE'nin nötralizasyonu
  - İmmünelektron mikroskopi

bu amaçla kullanılan yöntemlerdir.



- 
- 
- En sık kullanılan immün boyama yöntemleridir.
  - İmmün boyamada genellikle direk immün floresan veya daha seyrek olarak indirek immün floresan yöntemi kullanılır.
  - DFA hızlı sonuç vermesi, özgül ve uygulanmasının basit olması nedeniyle tercih edilen bir yöntemdir.

# Elektron mikroskopi

---

- Elektron mikroskopik inceleme rutin laboratuvar tanıda kullanılan standart bir teknik değildir. Elektron mikroskopisinin duyarlılığı düşüktür.
- Virüsün saptanabilmesi için örneğin mililitresinde yaklaşık  $10^6$  viral partikülün bulunması gerekir.
- Mikroskopta incelenecek örneğe aranan virüse özgü antikorlar eklenirse viral partiküllerin kümelenmesi sağlanarak virüs daha kolay saptanabilir.
- Bu tekniğe **immün-elektron mikroskopi** denir.



---

## □ Elektron mikroskopi

□ rotavirüs,

□ herpes,

□ poks ve

□ papillomavirüs

tanısında kullanılabilir.

# Histoloji/Sitoloji

---

- Hücrede karakteristik sitopatik etki oluşturan virüslerde klinik örneklerin direkt boyalı mikroskopik(sitolojik) incelemesi hızlı tanı için yararlıdır. Hücre morfolojisindeki değişimler;
  - hücre lizisi,
  - vakuolizasyon,
  - sinsitya oluşumu ve
  - inklüzyon cisimcikleri

karakteristik sitopatik etkilerdir.

# Viral inklüzyon cisimcikleri

Hastalık	İsmi	yerleşimi
Kuduz	Negri	İntrastoplazmik
CMV	Baykuş gözü (owl's eye)	İntranükleer
HSV, VZV	Cowdry A	İntranükleer
Poks virüs	Guarneri	İntrastoplazmik asidofilik İntranükleer bazofilik
Adenovirüs		Perinükleer sitoplazmik , asidofilik
Kızamık		İntrasitoplazmik ve intranükleer

# SEROLOJİK YÖNTEMLER


---

- Serolojik testler invitro antijen-antikor birleşmesi mekanizmasına dayanan immünolojik temelli yöntemler olduğundan bu testlerde temel amaç bilinmeyen bir reaktifi (ör: antikor) bilinen bir reaktif kullanarak (ör:antijen) saptamaktır.
- İki temel amacı vardır:
  - Klinik örneklerde mikroorganizma antijeninin saptanması
  - Hasta serumunda etkene özgül antikor varlığının gösterilmesi

# Mikrobiyal antijenlerin saptanması

---

- Mikrobiyal antijenler bir mikroorganizmanın çeşitli yapılarının bileşiminden oluşmaktadır.
- Bir antijenin immün yanıt mekanizmalarını uyaran ve immün yanıt ürünleriyle reaksiyona giren her bir kimyasal yapısına antijenik determinant (**epitop**) denir.

- 
- 
- Kapsül polisakkaritleri
  - Pili ve flajel proteinleri
  - Hücre duvarı komponentleri(peptidoglikan, lipopolisakkrit)
  - Sitoplazmik membran proteinleri
  - Enzim ve toksinler



# Etkene özgül antikorların saptanması

---

- İki klinik uygulaması vardır;
- Primer (akut) enfeksiyonun tanısı (yeni geçirilen enfeksiyon)

Etkene özgül IgM varlığı(IgG yokluğunda)  
Serokonversiyonun gösterilmesi

- İmmünitinin belirlenmesi(geçirilmiş enfeksiyon, kazanılmış bağışıklık)

Etkene özgül IgG pozitifliği

- 
- **Serokonversiyon** enfeksiyonun akut ve konvelasan dönemlerinde (10-14 gün arayla) hastadan alınan iki serum örneği arasında IgG veya total antikor düzeyinin 4 kat veya daha fazla artış göstermesiyle karakterizedir.


- 
- IgM pozitifliği primer enfeksiyonun özgül belirleyicisi değildir. Yani IgM pozitifliği her zaman primer akut enfeksiyonu göstermez. Bunun dışında aşağıdaki durumlarda saptanabilir:
  - Sekonder enfeksiyonlar
    - Reenfeksiyon
    - Reaktivasyon
  - Uzun süren IgM yanıtı
  - Poliklonal B hücre aktivasyonu sonucu özgül olmayan IgM pozitiflikleri
  - Akraba mikroorganizmalarla enfeksiyon sonucu çapraz reaksiyonlara bağlı IgM pozitifliği

# Humoral İmmün Yanıtın Kinetiği

---

- Bir antijen bir konağa ilk kez girdiğinde önce (5-7 gün) IgM, sonra da (7-15 gün) IgG antikor cevabı oluşur. IgM genellikle bir süre (3-6 ay) sonra kaybolur, ancak IgG düzeyi azalarak da olsa uzun süre serumda kalır. Buna **primer immün yanıt** denir.
- Aynı konak aynı antijenle aylar/yıllar sonra ikinci kez tekrar karşılaştığında ise bu kez özgül IgG yanıtı çok daha hızlı ve yüksek düzeyde oluşurken IgM cevabı oluşabilir veya oluşmayabilir (**sekonder immün yanıt**).
- Dolayısıyla bir etkene özgül IgM ve IgG birlikte pozitif bulunursa, primer veya sekonder enfeksiyonun ayrımının yapılması gerekir. (**avidite testleri**)

- 
- Primer enfeksiyonlarda etkene özgül IgG aviditesi düşük iken sekonder enfeksiyonlarda yüksektir. Zaman ilerledikçe bu antikolar olgunlaşır ve aviditesi **artar(avidite olgunlaşması)**.
  - Bunun nedeni yüksek aviditeye sahip antikor üreten B lenfosit popülasyonunun seçilmiş olmasıdır.
  - Dolayısıyla sekonder immün yanıtta, seçilmiş bellek B lenfositleri tarafından aviditesi yüksek antikolar sentezlenir.

- 
- 
- IgG avidite testleri için gerekli en önemli şart, etkene özgül IgG'nin pozitif olmasıdır.
  
  - Bu testlerin yapılması, etkene özgül IgG ve IgM birlikte pozitif ise endikedir.


- 
- Bazı hasta gruplarında avidite testleri tanı, tedavi ve prognoz açısından önem taşır.
  - Bu ayrımın önemi primer enfeksiyonlarda viremi riskinin artmasından ve sıklıkla hastalığın semptomatik olarak geçirilmesinden kaynaklanmaktadır.
  - Örneğin; hamileliğin ilk trimesterinde geçirilen primer TORCH enfeksiyonlarında konjenital geçiş riski %15'ten fazla iken, sekonder enfeksiyonlarda bu risk %1'den azdır ve geçiş olsa bile bebekte malformasyon gelişme riski %0.1'dir.

# Avidite Testlerinin Klinik Kullanımları

---

- Hamilelik sırasında rubella, CMV ve toxoplasma gondii enfeksiyonlarının primer ya da sekonder olduğunun belirlenmesi için
- Organ transplantasyonlu ya da immün supresif hastalarda CMV, EBV, HHV-6, primer veya rekürren enfeksiyonlarının ayırt edilmesi
- Hepatit C virüs enfeksiyonlarında primer özgül antikor yanıtı ile pasif olarak kazanılmış antikorların ayırt edilmesi
- HIV enfeksiyonlarında bulaş zamanının belirlenmesi ve progresyon izlenmesi
- Otoimmün hastalıkların tanısı
- Viral ensefalitlerin multipl sklerozdan ayırt edilmesi
- Aşı çalışma ve uygulamalarında antikor yanıtının izlenmesi



- 
- 
- **Kompleman birleşmesi deneyi,**
  - **nötralizasyon,**
  - **hemaglütinasyon inhibisyonu,**
  - **pasif aglütinasyon ve**
  - **lateks hemaglütinasyon testleri** geleneksel serolojik testler olarak bilinirler.
  
  - Bu testlerin viral enfeksiyonların serolojik tanısında kullanım alanları oldukça sınırlıdır.

- 
- Geleneksel olarak antikor saptayan yöntemler IgG ve IgM yanıtının ayrımını yapamazlar.
  - Serokonversiyon veya akut ve konvelesan dönem örnekleri arasında titre artışı saptanarak tanıya gidilir. Bu amaçla kompleman birleşmesi testi yaygın olarak kullanılmıştır.

# Direk Hemaglutinasyon

---

- Bu yöntem bazı enfeksiyonlarda eritrosit yüzeyindeki antijenlere karşı doğal olarak oluşan antikörlerin tespitinde kullanılır.
- Örneğin EBV akut enfeksiyöz mononükleozisinde koyun eritrositlerini aglutine eden heterofil antikörler gibi (Paul-Bunnell testi).
- Bu testler hızlı tanı için yararlı olmalarına rağmen özgüllük ve duyarlılıkları düşüktür.

# Kompleman Birleşmesi Testi

---

- Bu test, hasta serumunda etkene özgül antikor titrelerinin belirlenmesinde, özgül antijen-antikor birleşmesi sonucu komplemanın aktive edilmesi esasına dayanan klasik bir yöntemdir.
- Öncelikle hasta serumları 56°C'de 30 dk tutularak insan komplemanı ortadan kaldırılır.
- Daha sonra hasta serumlarının seri sulandırılmaları hazırlanarak üzerine önce bilinen antijen ve sonra da kompleman (1 günlük erkek kobay serumu) eklenir.

- 
- Bir gece 4°C’de bekletilir. Bu sürede hasta serumunda özgül antikor varsa ve kompleks komplemanı bağlayacaktır.
  - Ertesi gün tüm çukurlara indikatör olarak hazır antijen antikor kompleksi yani hemolitik sistem eklenir.
  - Hasta serumunda özgül antikor varlığında kompleman fikse edilmiş olduğundan hemolitik sistem üzerine bir etkide bulunmaz, buna karşın özgül antikor yoksa kompleman serbest olduğundan hemolitik sisteme etki ederek eritrositleri parçalar.

# Hemaglutinasyon(HA) Önlenim Testi

---

- Bazı virüsler doğal olarak bazı hayvan eritrositlerinin yüzey reseptörlerine bağlanarak onları aglutine etme yeteneğindedirler.
  
- Bu özellikten yararlanarak hemaglutinasyon yapan virüslere karşı özgül antikor varlığının araştırılmasında hemaglutinasyon önlenim testi kullanılır. Örneğin;
  - Kabakulak
  - Rubella
  - İnfluenza
  - Paramiksovirüsler
  - Arbovirüsler gibi.

# Hemadsorbsiyon(Had) Önlenim Testi

---

- Hemadsorbsiyon, bazı virüslerle enfekte olan hücrelerin yüzeylerine viral antijenler eksprese edildiğinden bazı hayvan eritrositlerinin adsorbe olması (yapışması) olayıdır.
- Genelde hemaglütinasyon yapan virüsler hemadsorbsiyon da yaparlar.
- Bu olay özgül antikor varlığında önlenir ve bu teste HaÖ adı verilir. HaÖ testi canlı hücre kültürlerinde gerçekleşir.

- 
- Bu amaçla, hasta serumu standart miktarda bilinen antijenle (virüsle) karıştırılarak hücre kültürüne inoküle edilir.
  - Virüsün hücrelere penetrasyonu ve replikasyonu için gerekli süre inkübe edilir. Sonra hücre kültürü içine eritrosit süspansiyonu eklenir ve inkübasyona bırakılır.
  - Hasta serumunda özgül antikor varsa virüsü bloke ederek hücreleri enfekte etmesini ve üremesini önler ve eritrositler hücre yüzeylerine yapışmaz.



# İşaretli Katı Faz Yöntemleri

---

- Hızlı yöntemler olarak bilinen bu testler tek bir serum örneğinde istenilen antikor tipinin (IgG, IgM, IgA, total) veya hasta serumunda bulunan antijenlerin kısa zamanda saptanmasına olanak sağlar.
- İşaretli katı faz yöntemlerinin ortak ve temel mekanizması reaktiflerden birisinin (antijen veya antikor) katı faza bağlanarak hareketsizleştirilmesive daha sonra özgül birleşmenin işaretli bir reaktif (konjugat) kullanılarak gösterilmesidir.

# Başlıca İşaretli Katı Faz Yöntemleri ve Özellikleri

yöntem	İşaretleme maddesi	Katı faz	Değerlendirme
Enzim immünoassay (ELISA, EIA)	enzim	Mikropleyt çukurları, polistren bilyalar	Spektrofotometre ile absorbans ölçümü
Radyoimmünoassay (RIA)	Radyoaktif madde	Tüpler ve cam bilyalar	Gama sayacı ile radyoaktivite ölçümü
İmmünofloresan antikor (IFA)	Floresanlı boya	Üzerine antijenlerin fikse edildiği lamalar	Floresan mikroskopu ile parlak sarı-yeşil boyanmanın görülmesi
kemilüminesans	Biolüminesans madde	Manyetik partiküller, mikropleyt çukurları	Luminometre ile ışık salınımının ölçümü
Line immünoassay	Enzim	Antijen emdirilmiş özel şeritler	Görsel olarak koyu renkli bant oluşumunun izlenmesi
Membrana bağlı immünoassay (kaset testleri)	Enzim	Nitroselüloz, naylon gibi membranlar	Görsel olarak koyu renkli nokta veya çizgi oluşumu
Optik immünoassay (OIA)	enzim	Silikon yüzeyler	Görsel olarak altın renkli zeminde pembe-mor noktaların oluşumu

# Enzim Bağlı Katı Faz Yöntemleri (ELISA,EIA)

---

- Konjugatı işaretlemek için enzimlerin kullanıldığı yöntemler ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) olarak adlandırılırlar.
- Manuel ELISA yöntemlerinde kullanılan katı faz, genellikle çukurlarına analitlerin (antijen veya antikor) bağlanmış olduğu 96 çukurlu mikropleytlerdir. ELISA prensibi ile çalışan otomatize sistemlerde ise submikron boyutlarında manyetik bilyalar veya lateks partikülleri kullanılır.

# ELISA ile antijen tespiti

---

- Katı faza bağlanmış özgül antikörlerin kullanıldığı ELISA sistemleriyle de klinik örneklerden viral antijenler saptanabilir.
- ELISA ile antijen aranırken hastanın örneğinde bulunan viral antijenler katı fazdaki antikora bağlanır. Ardından teste katı fazdaki antikora aynı özgüllüğe sahip antiviral antikörler ve enzimle işaretli AHG eklenir. Eğer antijen katı fazdaki özgül antikora ve eklenen ikinci antiviral antikora bağlanırsa, sonradan eklenen enzimle işaretli AHG de ikinci antiviral antikora bağlanır.

- 
- Son aşamada ortama eklenen kromojenik substrat AHG'ye bağlı durumda bulunan enzimle parçalanır ve oluşan renk değişikliği spektrofotometreyle saptanır.
  - Bu amaçla en yaygın olarak **hepatit B yüzey antijeni** ve **hepatit C kor antijeni** saptayan sistemler kullanılır. Ayrıca ELISA **RSV**, **influenza virüs** ve **HSV** tanısı için de kullanılır.

# ELISA ile antikor tespiti

---

- Mikropleyt ukurlarına özgül antijen bağlıdır. Çukurlara hasta serumu dilüsyonları eklenir. Özgül antikor (IgG veya IgM) varsa antijenle birleşir. İnkübasyon ve yıkama işleminden sonra hangi tip antikor araştırılıyorsa ona özgül konjugat eklenir. Ardından kromojenik substrat eklenir.
- Reaksiyon sonucu oluşan renk değişikliği hasta serumundaki antikor miktarı ile doğru orantılıdır ve spektrofotometrik olarak değerlendirilir.

# IgM Yakalama (Capture) Yöntemi

---

- Özellikle etkene özgül IgM antikorlarının araştırılmasında yalancı pozitiflikleri (romatoid faktöre bağlı) ve yalancı negatiflikleri (fazla miktarda özgül IgG varlığına bağlı) ortadan kaldırmak amacıyla kullanılır.

- 
- Anti-insan IgM antikorları bağlanmış çukurlara hasta serumu eklenir. Hasta serumunda var olan bütün IgM'ler etkene özgül olsun veya olmasın yakalanacaktır.
  - Sonra özgül antijen eklenir.
  - Antijen yakalanmış ve hareketsizleştirilmiş IgM'lerden kendisine özgül olanı bağlar. Antijene özgül enzimle işaretli konjugat eklenir ardından kromojenik substrat eklenir.
  - Reaksiyon sonucu oluşan renk değişikliği spektrofotometrik olarak değerlendirilir.



# İmmünofloresans Yöntemi (IFA)

---

- Bu yöntemde katı faz lam(slide)lardır.
- Konjugatın işaretlendiği madde bir flokrom boyasıdır ve değerlendirme floresans mikroskobu ile yapılır. En sık kullanılan boya 'fluorescein isothiocyanate (FITC)'tır.

# Direk floresans antikör testi (DFA)

---

- Bu yöntem klinik örnekte antijen aramak için kullanılır.
- Antijen aranan hastalık örneği bir lamın üstüne tespit edilerek üzerine floresanla işaretlenmiş özgül antikör eklenir ve örnek bir süre bekledikten sonra yıkanır.
- Antijenle birleşen floresanlı antikör yıkama işlemiyle uzaklaşmaz ve floresan mikroskopunda gri-yeşil floresan veren enfekte hücreler görülür.

# İndirek floresans antikor testi (IFA)

---

- Bu yöntemde hasta serumunda antikor tespiti yapılır. Burada kullanılan lamalar üzerine istenilen antijenlerin fikse edilmesiyle hazırlanır. Hasta serumu örnekleri bu lamalar üzerindeki özel alanlara damlatılır. Örnek bir süre bekledikten sonra yıkanır.
- Antijen-antikor birleşmesi olmuşsa antikor yıkama işlemiyle uzaklaşmaz. İkinci aşamada örneğe floresanla işaretli AHG eklenir. İşaretli AHG ilk aşamada oluşan antijen-antikor kompleksine bağlanır ve floresan mikroskobunda gri-yeşil floresan izlenir.
- Enfekte hücreye daha fazla boya bağlanabildiği için indirekt yöntem daha duyarlıdır. Sonuçlar 1-2 saat içinde alınabilir.

# Western Blot Yöntemi

---

- Bu yöntemde poliakrilamid jel elektroforezi ile molekül ağırlıklarına göre ayrıştırılan bir mikroorganizmaya ait tüm doğal antijenler (**protein, glikoprotein**) bantlar halinde nitroselüloz kağıt membranlara geçirilir ve bu membranlar şeritler halinde hazırlanır.
- Üzerine hasta serumu dilüsyonu eklenir ve inkübe edilir. Hasta serumunda bu antijenlere karşı özgül antikor varlığı enzimle işaretli anti-insan antikorlarının ve daha sonra da substratın eklenmesiyle saptanır.

- 
- **İmmüno blot yöntemi, line immünoassay (LIA), rekombinant immüno blot assay (RIBA)** de benzer mekanizmaya dayanır.
  
  - WB yöntemine benzer olarak, poliakrilamid jel elektroforezi ile ayrıştırılan
  
  - **DNA** moleküllerinin kağıt üzerinde belirlenmesi ile **southern blot**,
  - **RNA** moleküllerinin belirlenmesi ile **northern blot** yöntemleri de uygulanmaktadır.

# Viral Nükleik Asitlerin Saptanması

---

- Tanısal virolojide en hızlı gelişen alan kalitatif ve kantitatif sonuçlar alınmasını sağlayan moleküler amplifikasyon yöntemleridir.
- PCR'da örnekte az miktarda bulunan viral nükleik asitin (DNA veya RNA) miktarının artırılması amaçlanır.

- 
- PCR'da virüsün çoğaltılması istenen özgül DNA segmenti hedef alınır. Bu amaçla yaklaşık 20 bazlık özgül nükleotid dizileri (primerler) kullanılır.
  - PCR'da primerlerin viral DNA'ya tutunup karşıt sarmalı sentezleyebilmesi için serbest nükleotidlere ve reaksiyonu katalizleyecek ısıya dirençli **taq polimeraz** enzimine gereksinim vardır.

- 
- Bu karışım bir ısı düzenleyicisinin içine konur. Isı önce 90-95 °C'ye artırılarak DNA segmentleri ayrılır, sonra ısı 50-60 °C'ye düşürülerek primerlerin hedeflerine tutunması sağlanır. Ardından ısı tekrar 72 °C'ye yükseltilerek primerlerin 5'-3' yönünde uzaması sağlanır.
  - Bu işlem 30-40 kez tekrarlandığında çok sayıda kopya elde edilir. Elde edilen bu PCR ürünü **amplikon** olarak adlandırılır.



- 
- RNA genomu olan virüslerde PCR işleminden önce revers transkripsiyon ile komplementer DNA(cDNA)'nın elde edilmesi gerekir. Bu tür PCR'a **RT-PCR** denmektedir.
  - Duyarlılığı artırmak için bazen **nested PCR** da uygulanabilir. Bu yöntemde PCR işlemi iki kez uygulanır.

- 
- PCR işleminden sonra elde edilen amplikonlar **agaroz jel elektroforezde** yürütüldükten sonra etidyum bromidle boyanarak spesifik DNA bantı saptanabilir.
  - Farklı primer setleri kullanılarak bir örnekte farklı virüslere ait viral DNA'lar da aranabilir. Örneğin; HSV, CMV ve VZV için farklı primer çiftleri kullanılarak klinik örnekte her üç virüsün DNA'sı tek bir testle aranabilir. Bu işleme **multipleks PCR** denir.

- 
- HIV, HCV enfeksiyonu gibi durumlarda hastaların tedaviye yanıtını izlemek için virüs yükünün bilinmesi önemlidir. Birim hacimdeki virüsün kopya sayısını kantite edebilen bu yöntemler içinde **real-time PCR** yaygın bir kullanım alanı bulmuştur.



---

□ PCR dışında nükleik asit amplifikasyonu temeline dayanan farklı yöntemler bulunmaktadır:


- *Ligaz chain reaction (LCR)*
- *Nucleic acide sequence-based amplification (NASBA)*
- *Transcription mediated amplification (TMA)*
- *Strand displacement amplification (SDA)*
- *Branched chain DNA (bDNA)*

- 
- Moleküler yöntemler klinik örneklerden etkeni saptamanın yanısıra antiviral ilaç direncini saptamak için de kullanılabilir. Bu amaçla en sık HIV, HBV ve HCV'de DNA dizi analizi, line probe assay PCR-RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) yöntemlerinden biri kullanılarak ilaç direncine yol açan mutasyonlar araştırılmaktadır.

# Laboratuvarımızda Uygulanan Viral Tanı Yöntemleri

---

- **CMV** IgG, IgM ve CMV avidite
- **EBV** EBNA IgG, IgM ve VCA IgG, IgM
- **HSV tip 2** IgG, IgM
- **Parvovirüs** IgG, IgM
- **Rubella** IgG, IgM
- **Kızamık** IgG
- **Kabakulak** IgG
- **Rotavirüs**
- **Adenovirüs**
- **HAV** IgG, IgM
- **HEV** IgG, IgM
- **HDV** Ag, Anti HDV
- **HBsAg, HBeAg, anti-HBc** IgM, anti-HBc IgG, anti-HBe, anti-HBs
- **Anti-HCV**
- **Anti-HIV**

- 
- 
- **HBV DNA**
  - **HBV ilaç direnci**
  - **HCV RNA**
  - **HCV genotipleme**
  - **CMV DNA**



---

# TEŞEKKÜRLER