

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ**

UZMANLIK TEZİ

**SARS-CoV-2 PCR NEGATİF HASTALARDA DİĞER SOLUNUM YOLU
VİRUSLARININ RETROSPEKTİF DEĞERLENDİRİLMESİ**

DR. AYGÜN MEHDİYEVA

**DANIŞMAN
PROF. DR. ALİ AĞAÇFİDAN**

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

İSTANBUL-2022

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ**

UZMANLIK TEZİ

**SARS-CoV-2 PCR NEGATİF HASTALARDA DİĞER SOLUNUM YOLU
VİRUSLARININ RETROSPEKTİF DEĞERLENDİRİLMESİ**

DR. AYGÜN MEHDİYEVA

**DANIŞMAN
PROF. DR. ALİ AĞAÇFİDAN**

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

İSTANBUL-2022

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Aygün MEHDİYEVA

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince desteğini her zaman hissettiğim Anabilim Dalı Başkanımız ve danışman hocam Prof. Dr. Ali AĞAÇFİDAN'a,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen Prof. Dr. Betigül ÖNGEN, Prof. Dr. Meltem Uzun, Prof. Dr. Özden BÜYÜKBABA BORAL, Prof. Dr. Zayre Erturan, Doç. Dr. Yaşar NAKİPOĞLU, Doç. Dr. Sevim MEŞE, Doç. Dr. Hayriye KIRKOYUN UYSAL, Doç. Dr. Gonca ERKÖSE GENÇ, Uzm. Dr. Deniz Bahar AKGÜN KARAPINAR'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarım ve diğer çalışma arkadaşlarıma,

Tez çalışmamın yürütülmesi sürecinde desteğini benden esirgemeyen Uzm. Dr. Cihan YEŞİLOĞLU, PhD. Dr. Kutay SARSAR, Uzm. Dr. Hasan BAYRAK, Uzm. Dr. Kübra ERDEM'e

Her zaman yanımda olan aileme ve dostlarıma teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	iii
ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
KISALTMALAR LİSTESİ	viii
ÖZET	x
ABSTRACT.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. SOLUNUM YOLU VİRUSLARI	4
2.1.1. Koronavirüs.....	4
2.1.2. İnfluenza.....	5
2.1.3. Parainfluenza virüsü.....	7
2.1.4. Respiratuvar Sinsisyal Virüs	8
2.1.5. İnsan Metapnövmovirüs.....	9
2.1.6. Adenovirüs	10
2.1.7. İnsan Bokavirüsü.....	11
2.1.8. Picornavirüsler	11
2.1.8.1. Enterovirüsler	12
2.1.8.2. Rinovirüsler.....	13
2.1.9. Laboratuvar tanısı	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	15
3.1. HASTA GRUBU	15
3.2. COVID-19 TANISI	15
3.2.1. Örneklerin toplanması, saklanması ve transferi	15
3.2.2. Reaktifler ve Cihazlar	15
3.2.2.1. Cihazlar	15
3.2.2.2. Reaktifler.....	15
3.3. SOLUNUM YOLU VİRUSLARININ TANISI	16
3.3.1. Reaktifler ve Ekipman	16

3.3.1.1. Reaktifler.....	16
3.3.1.2. Cihazlar	16
3.3.2. Örneklerin Seçilmesi.....	16
3.3.3. DNA Ekstraksiyonu:	16
3.3.3.1. Örneklerin Hazırlanması:	16
3.3.3.2. QIAGEN EZ1 VIRUS Mini Kit V2 İle Ekstraksiyon.....	17
3.3.4. FTD Respiratory Pathogens 21 (Fast-track Diagnostics)) Real-time kiti	18
3.3.4.1. Temiz odadaki işlemler.	18
3.3.4.2. Ekstraksiyon odasındaki işlemler:.....	18
3.3.5. Sonuçların değerlendirilmesi:	18
3.4. İstatiksel analiz.....	18
4. BULGULAR.....	20
5. TARTIŞMA	23
KAYNAKLAR	27
ÖZGEÇMİŞ	31

ŞEKİLLER LİSTESİ

ŞEKİL 4.1. COVID-19 PCR negatif hastalarda diğer solunum yolu viruslarının pozitiflik dağılımı.

ŞEKİL4.2. Hastaların yaş ve cinsiyet dağılımı.

ŞEKİL 4.3. Hastaların aylara göre dağılımı.

ŞEKİL 4.4. RV pozitif hastaların yaşa ve cinsiyete göre dağılımı.



KISALTMALAR LİSTESİ

DNA: Deoksiribonükleik asit

RNA: Ribonükleik asit

SARS: Şiddetli akut solunum yolu sendromu

MERS: Orta Doğu solunum yolu sendromu

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RT-PCR: Rivers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu

AV: Adenovirus

İV: İnfluenza virus

PİV: Parainfluenza virus

EV: Enterovirus

CoV: Koronavirüs

İBoV: İnsan bokavirüsü

İMPV: İnsan Metapnövmovirüsü

RV: Rinovirüs

RSV: Respiratuvar Sinsityal Virüs

ACE2: Anjiyotensin dönüştürücü enzim 2

HA: Hemaglütinin

NA: Nöraminidaz

NH: Hemaglütinin nöroaminidaz

RNP: Ribonükleoprotein

NS: Yapısal olmayan protein

ARDS: Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu

ICAM1: Hücrelerarası adezyon molekülü 1

LDLR: Düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü

CDHR3: Kaderin ile ilişkili aile üyesi 3

İPeV: İnsan Parechovirusu

BT: Bilgisayarlı Tomografi

EMEM: Eagle's Minimum Essential Medium



ÖZET

SARS-CoV-2 PCR Negatif Hastalarda Diğer Solunum Yolu Viruslarının Retrospektif Değerlendirilmesi

Amaç: Mart 2020-Mart 2021 tarihleri arasında COVID-19 klinik ön tanısı ile İstanbul Üniversitesi (İÜ), İstanbul Tıp Fakültesi Viroloji ve Temel İmmunoloji Bilim Dalı laboratuvarına gönderilen, SARS-CoV-2 PCR testi negatif çıkan klinik örneklerde moleküler tanı yöntemi gerçek zamanlı RT-PCR kullanılarak diğer solunum yolu viruslarının araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntemler: COVID-19 tanısı, İstanbul Üniversitesi (İÜ), İstanbul Tıp Fakültesi Viroloji ve Temel İmmunoloji Bilim Dalı COVID-19 laboratuvarında Bio-Speedy Viral Nükleik Asit İzolasyon kiti ve Bio-Speedy COVID-19 RT-qPCR Tespit Kiti kullanılarak konmuştur.

COVID-19 negatif örneklerde diğer solunum yolu virusları, İÜ. İstanbul Tıp Fakültesi Viroloji ve Temel İmmunoloji Bilim Dalı Moleküler Biyoloji Laboratuvarında multipleks gerçek zamanlı RT-PCR yöntemi ile Fast Track FTD Respiratory pathogens 21 kiti kullanılarak Rotor Gene Q Real-Time PCR (Qiagen, Hilden, Germany) cihazında yapılmıştır.

Bulgular: SARS-CoV-2 PCR testi negatif 397 hastadan 52'sinde diğer solunum yolu virusları pozitif bulunmuştur. Diğer solunum yolu virusları pozitif 52 hastadan 35'i (%67) rinovirus (RV) pozitif, 6'sı (%11) koronovirus (Cov) OC43, NL63, 229E, HKU1 pozitif, 2'si (%4) adenovirus (AV) pozitif, 2'si (%4) respiratuvar sinsitiyel virus (RSV) pozitif, 1'i (%2) enterovirus (EV) pozitif, 1'i (%2) insan metapnömovirus (İMPV) pozitif, 1'i (%2) parainfluenza-4 (PİV-4) pozitif, 4'ü (%8) koenfeksiyon (RV+RSV, RV+AV, RV+ insan bokavirüsü (İBoV), RSV+CoV 229E) pozitif olarak saptanmıştır. İnfluenza virus (İV), PİV-1, PİV-2, PİV-3, insan parechovirus (İpeV) saptanmamıştır.

Sonuç: Maske, mesafe, el yıkama, izolasyon gibi koruyucu önlemlerin solunum yolu viruslarının yayılımını önemli ölçüde azalttığı sonucuna varılmıştır.



ABSTRACT

Retrospective Evaluation of Other Respiratory Tract Viruses in SARS-CoV-2 PCR Negative Patients

Objective: It was aimed to investigate other respiratory tract viruses by molecular diagnosis method real-time RT-PCR in clinical samples with negative SARS-CoV-2 PCR test, which were sent to Istanbul University (IU), Istanbul Medical Faculty, Department of Virology and Basic Immunology laboratory between March 2020 and March 2021 with the clinical pre-diagnosis of COVID-19.

Materials and methods: The diagnosis of COVID-19 was made using the Bio-Speedy Viral Nucleic Acid Isolation kit and the Bio-Speedy COVID-19 RT-qPCR Detection Kit in the COVID-19 laboratory of Istanbul University (IU), Istanbul Medical Faculty, Department of Virology and Basic Immunology.

Other respiratory tract viruses in COVID-19 negative samples were detected in Rotor Gene Q Real-Time PCR (Qiagen, Hilden, Germany) device using Fast Track FTD Respiratory pathogens 21 kit with multiplex real-time RT-PCR method in Istanbul University (IU), Istanbul Medical Faculty, Department of Virology and Basic Immunology, Molecular Biology Laboratory.

Results: Other respiratory tract viruses were detected positive in 52 of 397 patients with negative SARS-CoV-2 PCR test. From 52 patients positive for other respiratory tract viruses, 35 (67%) were rhinovirus (RV) positive, 6 (11%) coronavirus (Cov) OC43, NL63, 229E, HKU1 positive, 2 (4%) adenovirus (AV) positive, 2 (4%) respiratory syncytial virus (RSV) positive, 1 (2%) enterovirus (EV) positive, 1 (2%) human metapneumovirus (HMPV) positive, 1 (2%) parainfluenza virus-4 (PIV-4) positive, 4 (8%) coinfection (RV+RSV, RV+AV, RV + human bocavirus (HboV), RSV+CoV 229E) were positively detected. Influenza (IV), PIV-1, PIV-2, PIV-3, human parechovirus (HpeV) were not detected.

Conclusion: It was concluded that protective measures such as masks, distance, hand washing and isolation significantly reduced the spread of respiratory viruses.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Solunum yolları viral enfeksiyonların en sık görüldüğü bölgedir. Solunum yolu virusları damlacık, aerosol, yiyecek, içecek, tükürük, yakın ilişki ve ellerle yayılıyor. Benzer solunum yolu semptomlarına neden olan birçok farklı virus vardır. Solunum yolu viral enfeksiyonlarının semptomları ve şiddeti virusun doğasına ve enfeksiyon bölgesine göre değişir. Viremik fazda interferon ve sitokin salınımı indükledikleri için ateş, halsizlik, baş ağrısı, vücut ağrıları gibi klasik grip benzeri semptomlara neden olan birçok solunum yolu virusu vardır (1).

Akut üst ve alt solunum yolu enfeksiyonları dünya çapında önde gelen morbidite ve mortalite nedenidir. Küçük çocuklar, yaşlılar, kronik hastalar ve bağışıklık sistemi baskılanmış veya zayıflamış kişiler solunum yolu enfeksiyonları açısından risk altındadır. Viruslar solunum yolu hastalıklarının en önemli nedenlerinden biridir (2). Respiratuvar sinsityal virus, influenza virus, parainfluenza virus, metapnömovirus, rinovirus, enterovirus ve koronavirus gibi RNA virusları daha baskın patojenlerdir. RNA virusları gibi solunum yolu tutulumuna neden olan DNA virusları arasında adenovirusler, bokavirusler bulunur (3).

Bu viruslar hafif soğuk algınlığı benzeri, grip benzeri semptomlardan oksijen takviyesi ve ölüme yol açabilen akut solunum sıkıntısı sendromuna kadar sayısız semptomlara neden olabilirler. Çoğu solunum yolu virusu her yerde bulunur ve mevsimsel eğilim gösterir. Bazıları ise yıl boyu dolaşır (4).

Viral solunum yolu enfeksiyonlarının patogenezi tam olarak anlaşılmamıştır. Viruslar, sistemik enfeksiyona neden olmadan solunum yolu epitelinde lokal olarak çoğalır. Virusa bağlı olarak bu, mukozal sekresyonlarda artış, lökosit infiltrasyonu, siliyer ve mukus üretim aktivitelerinde bozulma ile sonuçlanabilir. Hasar, bakteriyel süperenfeksiyona yatkınlık yaratabilir. Konak immün yanıtının patogeneizde önemli bir rol oynadığı görülmektedir. Şiddetli solunum yolu enfeksiyonlarında, epitelin iltihaplanması ve nekrozu obstrüksiyonuna yol açabilir, küçük hava yolları tıkanabilir (2).

Solunum yolu virusları, solunum salgıları ile ve bir kaç başka yoldan bulaşabilirler. Solunum yolu virusları, enfekte olmuş bir kişi ile duyarlı bir kişi

arasındaki fiziksel temas yoluyla, dolaylı olarak kontamine yüzeyler veya nesneler ile temas yoluyla veya doğrudan solunum yoluyla bulaşır. Bu dört ana bulaş yolu (doğrudan temas, dolaylı temas/nesne, damlacık ve aerosol) genellikle koruyucu önlemlerin odaklarıdır. Bazı solunum yolu virusları, gastrointestinal sistemdeki hücreleri enfekte edebilir, bu da enfeksiyonun dışkı yoluyla yayılabileceğini düşündürür; örneğin, tuvalet sifonu sırasında aerosolizasyon yoluyla (5). Damlacık yoluyla bulaş, solunum yolu viruslarının yayılmasının birincil yoludur. İzolasyon, ev dışındaki zorunlu olmayan aktiviteleri azaltmak ve halka açık alanlarda maske takmak, solunum yolu virus enfeksiyonlarının bulaşma yollarını büyük ölçüde engelleyebilir (6).

SARS-CoV-2, SARS-CoV, MERS-CoV ve influenza A virusları, salgınlara ve pandemilere neden olan, öncelikle insan solunum sistemini hedef alan patojenlerdir. Hafif solunum yolu hastalığından akut pnömoniye ve hatta solunum yetmezliğine kadar değişen klinik tabloya neden olurlar. 1918'den beri, influenza A virusları dört pandemiye neden olmuştur. H1N1 influenza A virusu suşundan kaynaklanan, "İspanyol gribi" olarak bilinen ilk ve en şiddetli salgın 1918'de meydana geldi. "Asya gribi" olarak bilinen ikinci pandemi 1957'de meydana geldi ve bir H2N2 İnflenza A suşundan kaynaklandı . "Hong Kong gribi" olarak bilinen üçüncü pandemi, 1968'de meydana geldi ve bir H3N2 İnflenza A suşundan kaynaklandı. 2009'dan 2010'a kadar devam eden dördüncü pandemiye, "yeni grip A virusu" olarak da bilinen influenza A (H1N1) pdm09 virusu neden oldu. O zamandan beri, yeni influenza A mevsimsel grip virusu olarak yayılmaya devam etti. 2002'de Güney Çin'de SARS-CoV'un neden olduğu ve şiddetli akut solunum yolu sendromu (SARS) olarak bilinen SARS salgını başladı. Eylül 2012'de Suudi Arabistan, MERS-CoV'un neden olduğu ilk Orta Doğu solunum sendromu (MERS) vakası bildirildi (7).

2019'un sonu ve 2020'nin başında, Çin'in Wuhan kentindeki Huanan Deniz Ürünleri Toptan Satış Pazarı ile ilgili olarak çok sayıda yeni koronavirus enfeksiyonu vakası bildirildi. 7 Ocak 2020'de virus yeni bir koronavirus olarak tanımlandı ve DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) tarafından resmi olarak 2019-nCoV olarak adlandırıldı (8). SARS-CoV-2'nin neden olduğu akut solunum yolu hastalığı 2019 (COVID-19) DSÖ tarafından resmi olarak pandemi ve uluslararası öneme sahip bir halk sağlığı acil durumu ilan edildi (9). Patojen, gerçek zamanlı PCR yöntemi ile virus olarak doğrulandı ve yeni nesil dizileme ile hızla dizilendi. Genomu daha önce dizilenmiş herhangi bir virus

genomuyla tam olarak eşleşmediği için yeni virus olarak kabul edildi. “n”nin “novel” anlamına gelmesi ve bu virusun neden olduğu hastalığın COVID-19 olması nedeniyle yeni virusa 2019-nCoV adı verildi (10). Coronaviridae ailesine ait ve insanlarda patojen olan viruslar arasında SARS-CoV-2, SARS-CoV ve MERS-CoV’dan sonra pandemiye neden olan üçüncü virusdur (11).

Etken viral patojenlerin doğru ve hızlı teşhisi, uygun tedaviyi seçmek, salgınları durdurmak ve gereksiz antibiyotik kullanımını azaltmak için önemlidir. Yukarıda bahsedilen tüm viruslar, hem üst hem de alt solunum yolu enfeksiyonlarına neden olabilir, bu da doktorların laboratuvar analizi olmadan etkeni ayırt etmesini zorlaştırır. Solunum yolu viruslarının hızlı ve doğru teşhisi, etkili önleme, uygun antiviral tedavilerin uygulanmasının ve epidemiyolojik izlemeye yardımcı olabilir (12).

Bu çalışmada Mart 2020-Mart 2021 tarihleri arasında COVID-19 klinik ön tanısı ile laboratuvarımıza gönderilen SARS-CoV-2 PCR testi negatif olan klinik örneklerde moleküler tanı yöntemi gerçek zamanlı RT-PCR kullanılarak adenovirus (AV), insan bokavirus (İBoV), koronavirus (CoV) 229E, CoV HKU1, CoV NL63, CoV OC43, enterovirus (EV), insan metapnömovirus (İMPV) A/B, influenza A virusu, influenza A (H1N1) virusu, influenza B virusu, parainfluenza 1-2-3-4, parechovirus, respiratuvar sinsityal virus (RSV) A/B, rinovirus araştırılmıştır.

Solunum yolu enfeksiyonlarında influenza virusları başta olmak üzere bir çok viral etken önemli rol oynamaktadır. Bu sebeple COVID-19 pandemisi sırasında yukarıda adı geçen viral solunum yolu etkenlerinin araştırılması; tedavinin belirlenmesi ve yönlendirilmesinin yanı sıra, epidemiyolojik verilerin elde edilmesi bakımından önem taşımaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. SOLUNUM YOLU VİRUSLARI

2.1.1. Koronavirüs

Koronavirüsler (CoV) zarflı, tek sarmallı, pozitif RNA viruslarıdır. İnsanları, diğer memelileri, kuşları, çiftlik ve evcil hayvanları da enfekte ettikleri için sadece halk sağlığı değil, aynı zamanda veterinerlik ve ekonomi açısından da sorun teşkil ediyorlar. Coronaviridae familyası ve dört cinsten oluşan (alfakoronavirüs, betakoronavirüs, gamakoronavirüs ve deltakoronavirüs) Orthocoronavirinae alt-familyası içerisinde yer alırlar. Alfakoronavirüsler ve betakoronavirüsler memelileri enfekte eder, gamakoronavirüs ve deltakoronavirüsler kuşları enfekte eder (13).

İnsan koronavirüsleri (İCoV) genellikle solunum yolu patojenleridir (14). 2002'de SARS-CoV'un tespit edilmesiyle İnsan koronavirüsleri tanımlandı. SARS-CoV-2'nin de tespit edilmesiyle şuanda yedi insan koronavirüsü vardır. Bunlar 229E, OC43, NL63 ve HKU1 gibi genelde hafif semptomlarla seyreden ve SARS-CoV, MERS-CoV ve SARS-CoV-2 gibi mortaliteye yol açabilen türlerdir (15).

Koronavirüslerin viral genomu dört yapısal protein içerir spike (S), membran (M), zarf (E) ve nukleokapsid (N) proteini. S proteini (E2) virusun konakçı hücre yüzeyine bağlanma, füzyon ve viral girişden sorumludur (15). Aynı zamanda nötralizan antikorların hedefidir (1). M protein en çok bulunan proteindir ve viral zarfın şeklini tanımlar (15). E1 glikoproteini transmembran matriks proteinidir. Bazı suşlar hemaglutinin nöraminidaz (E3) içerir (1). N proteini RNA genomuna bağlanan, viral birleşme ve tomurcuklanmada yer alan tek proteindir (15).

Koronavirüslerin replikasyonu konak hücreye bağlanma ve girişle başlar. Bağlanma S proteini ve onun konak hücre yüzeyindeki spesifik reseptörü arasındaki etkileşimi ile başlar. Bağlanmanın ardından S proteini bir proteaz enzimi tarafından bölünür ve virus füzyon yoluyla konakçı hücre sitozolüne girer. Replikasyon ve viral RNA sentezini takiben olgun virus oluşur ve ekzositoz yoluyla hücre dışına salınır (15). Hem SARS-CoV hem de SARS-CoV-2'nin S proteinleri, reseptör olarak konakçı hücrelerin anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2) reseptörlerini kullanır. ACE2,

anjyotensin II'yi hidrolize eden, özellikle akciğer ve ince bağırsak epitelinde bulunan bir hücre yüzeyi peptidazıdır (16).

Çoğu insan koronavirüsü için viral üreme sıcaklığı 33°C ila 35°C'dir. Bu yüzden enfeksiyon üst solunum yollarında lokalize kalır. Ancak hayvan koronavirüsleri, SARS-CoV ve MERS-CoV da dahil olmak üzere 37°C'de çoğalabilir ve insanlarda sistemik hastalığa neden olabilir. Koronavirüsler büyük ölçüde aerosollerle yayılır ve sitolitik enfeksiyona neden olur. Çoğu zaman üst solunum yolu enfeksiyonlarına neden olurlar. Rinovirüsün neden olduğu soğuk algınlığına benzer hastalığa neden olurlar, ancak daha uzun kluçka süresine sahiptirler (1).

2.1.2. İnfluenza

Ortomiksoviruslar zarflı, segmentli, negatif sarmallı RNA virüsleridir ve Orthomyxoviridae ailesinin üyeleridir. Genomun segmentli olması mutasyon ve farklı insan ve hayvan suşları arasında gen segmentlerinin yeniden düzenlenmesi ile yeni suşların gelişimini kolaylaştırır. Bu genetik dengesizlik yıllık salgınlardan ve periyodik pandemilerden sorumludur. En bilinen İnfluenza pandemisi 1918'den 1919'a kadar devam eden 20-40 milyon insanın ölümüne neden olan İspanyol gribi olmuştur (1).

Bu ailede A, B, C ve D harifleriyle tanımlanan dört influenza virüsü vardır. Tüm influenza türleri omurgalı hayvanları enfekte edebilir ancak yalnızca influenza A ve B virüsleri insanlarda morbidite ve mortaliteye neden olabilir. İnfluenza C virüsü de insanları enfekte edebilir, ancak insanlarda nadiren semptomatik hastalık yaparlar. İnfluenza D virüsü ise insanlarda enfeksiyona neden olmaz (17).

Tüm influenza virüsleri zarflı, segmenter genoma sahip, tek sarmallı, negatif iplikli RNA virüsleridir. RNA polimeraz alt birimleri (PB1, PB2, PA), viral glikoproteinler hemagglutinin ve nöraminidaz (HA, NA), viral nükleoprotein (NP), matriks proteini (M1), zar proteini (M2)'ni kodlayan sekiz RNA segmenti ve yapısal olmayan proteinleri (NS1) vardır (18).

Zarf, hemagglutinin nöraminidaz (HA NA) ve zar (M2), matriks (M1) proteinlerini içerir. HA'nın çeşitli işlevleri vardır. HA bir bağlanma proteindir. Epitelyal hücre yüzey reseptörlerindeki sialik aside bağlanır. Asidik PH'da füzyonu destekler. İnsan, kuş, domuz kan hücrelerini hemaglutine eder. Nötralizan antikorların tepkisini ortaya çıkarır. On sekiz farklı HA alt tipi vardır (H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7,

H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, H16, H17, H18). HA minor (drift) ve major (shift) değişikliğe uğrar. Shift sadece influenza A virusunda meydana gelir. NA enzim aktivitesine sahiptir ve sialik asidi parçalar. Sialik asidin parçalanması bağlanmayı sınırlar ve virusun enfekte hücrelerden salınmasını kolaylaştırır. İnfluenza A virusunun NA'ı antijenik kayma (shift) uğrar ve farklı NA'lar N1, N2, N3, N4, N5, N6, N7, N8, N9, N10, N11 olarak adlandırılır. M1, M2 ve NP proteinleri tipe özgüdür; bu nedenle influenza A'yı B veya C viruslarından ayırt etmek için kullanılırlar. M1 proteinleri virionun içini kaplar ve birleşmeyi destekler. M2 proteini, zarlarda bir proton kanalı oluşturur ve kaplamanın açılmasını ve viral salınımı teşvik eder (1).

İnfluenza antijenik çeşitliliğe iki ana mekanizma ile ulaşır:

1. Antijenik drift: HA ve NA genlerinin mutasyonlarından kaynaklanır ve yeni antijenik varyantlarla sonuçlanır. Böylece önceden var olan konak bağışıklığından kaçınılır (19). Her iki ila üç yılda bir meydana gelir ve yerel influenza A ve B enfeksiyonu salgınlarına neden olur (1).

2. Antijenik shift: Aynı konak içindeki iki farklı influenza virusu arasındaki gen segmentlerinin yeniden düzenlenmesiyle yeni bir suş oluşmasına yol açar (19). Sadece İnfluenza A virusunda gerçekleşir. Ve genellikle pandemilere neden olur. İnfluenza B insan virusudur ve antijenik shift'e uğramaz (1).

İnfluenza virüsü üst solunum yollarının epitel hücrelerinde çoğalıır. Genelde kendi kendini sınırlayan enfeksiyona neden olur. Ancak virusun alt solunum yollarına enerek çoğalma yeteği de vardır. Konakçı hücreye giriş viral HA'in epitel hücre yüzeyinde bulunan sialik aside bağlanmasıyla başlar. Virus daha sonra endozom içerisine alınır ve endozomun içerisindeki asidik ortam viral M2 iyon kanalının açılmasına izin verir. Protonların virusa akışı, viral ve endozomal membranların kaynaşmasını, viral RNA'nın konak hücre sitoplazmasına salınımı kolaylaştırır. Diğer RNA viruslarından farklı olarak RNA transkripsiyonu hücre çekirdeğinde gerçekleşiyor (18).

Virus üst ve alt solunum yollarını enfekte eder. İnfluenza başlangıçta üst solunum yolu enfeksiyonu yapar. Bunu yapmak için virus ilk önce mukus salgılayan, siliyer ve diğer epitel hücrelerini hedef alır ve öldürür. Epitel hücrelerin hasarı lokal semptomlara neden olur. Bu yolla birincil savunma sisteminin kaybına neden olur. Siliyer epitel eksikliği ile yutulan oral ve nazal bakteriler pnömoniye neden olur.

İnfluenza düşük seviyeli bir viremiye neden olabilir, ancak nadiren akciğer dışı organları etkiler. İnfluenza enfeksiyonu güçlü bir interferon indükleyicisidir. Sistemik interferon ve sitokin salınımı enfeksiyondan üç ila dört gün sonra zirve yapar. Tip1 interferon sistemik grip benzeri semptomlara neden olur (1).

2.1.3. Parainfluenza virusu

Parainfluenza virusları (PİV), Paramyxoviridae ailesine ait, zarflı, negatif sarmallı bir RNA virusudur. Parainfluenza viruslarının dört serotipi vardır (PİV-1, PİV-2, PİV-3 ve PİV-4). PİV-1 ve PİV-3 Respirovirus cinsine, PİV-2 ve PİV-4 Rubulavirus cinsine aittir (20). Viral genom altı temel proteini kodlar. Nükleoprotein (N), polimeraz fosfoprotein (P), matris proteini (M), füzyon proteini (F), hemaglütinin nöroaminidaz (HN) glikoproteini ve RNA polimeraz (L) (21). HN ve F proteinleri nötralizan antikorların başlıca hedefidir. Nükleokapsid viral çekirdek, viral RNA, NP, P ve L proteinlerinden oluşur. NH glikoproteini viral bağlanma proteini olup konak epitel hücreleri üzerindeki sialik asite bağlanır. F proteini virus-hücre zarı füzyonuna ve ardından konak hücre enfeksiyonuna neden olur. NH proteininin nöroaminidaz kısmı virusun hücre yüzeyinden ayrılmasında rol oynar (14).

Virusun replikasyonu zarf üzerindeki NH glikoproteinlerinin konak hücrenin üzerindeki sialik aside bağlanmasıyla başlar (1). Hücreye bağlandıktan sonra, F proteini virus-hücre zarı füzyonuna ve konakçı hücre enfeksiyonuna neden olur (14). Transkripsiyon, protein sentezi, replikasyon konak hücrenin sitoplazmasında gerçekleşir. Virionlar füzyon yolu ile hücreye girer ve hücreyi öldürmeden tomurcuklama yolu ile çıkarlar (1).

Parainfluenza virusları üst ve alt solunum yollarının siliyer epitel hücrelerini enfekte eder. Enfeksiyon burun ve orofarinkste başlar. İki ila beş gün sonra en yüksek replikasyona seviyesine ulaşır ve alt solunum yollarına yayılır (22). Hastalığın patogenezinde viral replikasyon ve enfeksiyona karşı konağın immun yanıtı rol oynar. Yüksek viral replikasyon solunum epitel hücre değişikliğine yol açar. Mukus üretiminin artması, artan hücre döngüsü ve müsin hücre hiperplazisi ile ilişkilendirilir (23). Parainfluenza virusu viremi yapmaz ve sistemik hastalığa neden olmaz. Enfeksiyon solunum yolları ile sınırlıdır (1). Hastalığın ağırlığı enfeksiyonun lokasyonu ile ilişkilidir. Üst solunum yollarındaki enfeksiyon soğuk algınlığı semptomlarına neden

olurken, larinks ve trakea enfeksiyonu krup ve broşiolite, alt solunum yollarında virusun replikasyonu pnömoniye neden olur (21).

Parainfluenza virusu temas ve damlacık yoluyla kişiden kişiye bulaşır (1). Virusa maruz kaldıktan sonra iki ila altı günlük klučka dönemi sonrası klinik semptomlar gelişir. Primer enfeksiyon tipik olarak 5 yaşaltı çocuklarda görülür (14). Krupun başlıca nedenleri olan parainfluenza virusları 1 ve 2 ile enfeksiyonlar sonbaharda ortaya çıkma eğilimi gösterirken, parainfluenza virus 3 enfeksiyonları yıl boyunca ortaya çıkar (1).

2.1.4. Respiratuvar Sinsisyal Virus

Respiratuvar Sinsisyal Virus (RSV) ilk 1955 yılında şempanzelerden, 1957 yılında ciddi alt solunum yolu enfeksiyonu olan bebeklerden izole edildi (24). Bebeklerde ve çocuklarda akut solunum yolu enfeksiyonunun en sık nedenidir. Hemen hemen herkes iki yaşına kadar RSV ile enfekte olur. Yaşlılarda yaşamları boyunca yeniden enfeksiyona neden olabilir (1).

RSV, Pneumoviridae ailesine ait, zarflı, negatif sarmallı RNA virusudur. RSV genomu dokuz yapısal ve iki yapısal olmayan proteini kodluyor. Bağlanma glikoproteini (G), füzyon glikoproteini (F) ve hidrofobik proteini (SH) zar dışında bulunur. Matris proteini (M) viral zarın içini kaplar. Viral RNA, nükleoprotein (N), fosfoprotein (P) ve RNA bağımlı RNA polimerazdan oluşan ribonükleoprotein kompleksi (RNP) içinde kapsidlenir. Nükleoprotein-RNA kompleksi helikal yapıda olup virus replikasyonu için şablon oluşturur. M2 geni M2-1 ve M2-2 proteinlerini kodlar. M2-1, RNA'ya bağlanır. İki yapısal olmayan protein NS1 ve NS2 interferon tip I aktivitesini inhibe ederler (25).

RSV, solunum yollarına lokalize enfeksiyon yapar. Virus hücre yüzeyi proteinlerine ve heparan sülfat proteoglikanlarına bağlanır. Sinsitiyayı indükler ve hücre hasarına neden olur. İnflamasyonda nötrofiller esas rol oynar. Bronşların ve bronşiyollerin nekrozu, daha küçük hava yollarında mukus, fibrin ve nekrotik tıkaçlar oluşur. Bebekler ve küçük çocuklarda hava yolları bu tür tıkaçlarla kolayca tıkanır (1).

RSV, genelde yakın temas yoluyla tükürük veya mukus damlacıkları ile bulaşır. Virus, nazofarinks ve üst solunum yolu epitellerinde kısa süre çoğaldıktan sonra alt solunum yollarına geçebilir. Virusla enfekte olduktan üç ila yedi gün sonra hastalarda

ateş, burun akıntısı, burun tıkanıklığı, öksürük ve göğüste sıkışma gibi semptomlar gelişmeye başlar (24).

2.1.5. İnsan Metapnömovirus

İnsan Metapnömovirusu (İMPV), 2001 yılında, akut alt solunum yolu hastalığı olan Hollandalı çocuklardan alınan örneklerde tespit edilen bir solunum yolu virusudur. Bu virusun daha önce insan respiratuar sinsityal virusu ile benzer bir patoloji ve klinik semptomlar gösterdiği bilinmektedir (26). İMPV, daha çok çocuklarda hastalığa neden olur, ancak yetişkinleri ve bağışıklığı baskılanmış bireyleri de enfekte edebilir. İMPV enfeksiyonu hafif bir üst solunum yolu enfeksiyonundan yaşamı tehdit eden şiddetli bronşiolit ve pnömoniye kadar ilerleyebilir (27). Hastalık genellikle öksürük, boğaz ağrısı, burun akıntısı ve yüksek ateş belirtileri gösterir. Hastaların yaklaşık %10'unda, nefes darlığı, pnömoni, bronşit veya bronşiolit görülür (1).

İMPV, zarflı, negatif sarmallı bir RNA virusudur. Viral genom sekiz gen içerir ve dokuz proteini kodlar: nükleoprotein (N), fosfoprotein (P), matris protein (M), füzyon proteini (F), matris-2 proteinleri (M2-1 ve M2-2), küçük hidrofobik (SH) protein, glikoprotein (G) ve büyük (L) polimeraz proteini. N, L ve P proteinleri birlikte viral replikasyon kompleksini oluşturur. RSV'den farklı olarak yapısal olmayan NS1 ve NS2 proteinleri içermez. Üç transmembran yüzey glikoproteini F, G ve SH lipid zarf üzerinde yerleşmiştir. G proteini, viryonun konak hücreye bağlanmasında rol oynar. F proteini, viral ve konak hücre füzyonuna aracılık eder. SH proteininin tam işlevi bilinmiyor (28). G ve F proteinlerinin yardımıyla İMPV, hücre yüzeyindeki heparan sülfat reseptörlerine bağlanır. Füzyon işleminden sonra viral nükleokapsid, konak hücrenin sitoplazmasına girer ve replikasyona uğrar (27).

İMPV, tüm yaş gruplarını etkileyen ve her yerde bulunan bir patojendir. İMPV, üst ve alt solunum yollarını enfekte eder. İMPV enfeksiyonunun klinik belirtileri RSV enfeksiyonunun klinik belirtilerine benzerdir. Hafif üst solunum yolu enfeksiyonundan bronşiolite ve şiddetli pnömoniye kadar değişir. Hastalık ağırlığı, konağın yaşına ve sağlığına göre değişir. En sık görülen semptomlar ateş, öksürük ve nezledir. Kuluçka dönemi kesin olarak bilinmemekle birlikte, hastane kaynaklı bulaşma vakaları yaklaşık beş ila altı günlük bir kuluçka geçirmektedir (14).

2.1.6. Adenovirus

Adenoviruslar (AV) ilk defa insan adenoid hücre kültüründen izole edilmiştir. 100'e yakın serotipi tanımlanmıştır. İnsan adenoviruslarının yedi alt grubu (A, B, C, D, E, F, G) vardır, en yaygın olanları birden yediye kadar numaralandırılmış olanlardır. Adenoviruslar en çok solunum yolu enfeksiyonlarına, faringo-konjunktivit, hemorajik sistit ve gastroenterite neden olurlar (1).

Adenoviruslar zarfsız, çift sarmallı DNA viruslarıdır. Viral kapsid hekson, penton ve fiber adı verilen üç kapsid proteininden oluşur. Kapsid 252 kapsomerden oluşur. Kapsomerler de 240 hekson proteini ve 12 penton proteininden oluşur. Tabanda penton proteini ve her tepe noktasında bir fiber protein çıkıntısı vardır. Fiber proteini bir bağlanma proteinidir. Adenovirus serotiplerinin genel yapısı aynı gibi görünse de, fiber proteinleri uzunluğu değişebilir ve tipe spesifiktir. Antikorlar tarafından tanınan epitopların çoğu hekson ve fiber proteinlerinde bulunur (14). Penton ve fiber tipe özgü antijenlere sahiptir. Penton tabanı ve fiber proteini hücreler için toksiktir. Çekirdek kompleksi, viral DNA ve en az iki ana proteinden oluşur. Adenovirus virionu en az 11 protein içerir bunlardan dokuzunun tanımlanmış yapısal fonksiyonu vardır (1).

AV enfeksiyonları yıl boyunca ortaya çıkmakla beraber, adenovirus salgınları daha çok kışın ve ilkbahar başlarında olur. Yayılma, damlacık, yakın temas, fekal oral yollardır. AV birçok dezenfektana, karşı dirençlidir. İnkübasyon süresi 2-14 gün arasındadır. Asemptomatik taşıyıcılık haftalar ve aylarca sürebilir. Salgınlar, hastaneler, yenidoğan kreşleri, bakım tesisleri, yatılı okullar, yurtlar, çocuk evleri gibi kapalı alanlarda hızla yayılır (29).

AV3, AV4, AV7, AV8, AV14 ve AV55 genellikle salgınlarla ilişkili serotiplerdir, daha öldürücüdürler ve yayılma olasılıkları daha yüksektir. Bunlar arasında AV serotip 7 (AV7) en virülen olanıdır, ciddi komplikasyonlara ve önemli mortaliteye neden olmaktadır. Tipik semptomlar çoğunlukla öksürük, burun tıkanıklığı, ateş ve komplike pnömoniye ilerleme olabilir. Pnömoni geliştiğinde, akut solunum sıkıntısı sendromuna ve solunum yetmezliğine yol açabilir (30).

AV'ler epitel hücrelerinde litik, lenfoid hücrelerde latent enfeksiyona neden olur. Litik enfeksiyon, virusun konakçı hücrelerin içine girip çoğalmasıyla meydana gelir. Virus, makromoleküler sentezi inhibe eder ve mRNA'yı hücrenin sitoplazmasına taşıyarak hücre ölümüne ve lizisine neden olur. Aynı zamanda viryonların oluşumu,

konakçının inflamatuvar yanıtına neden olur. Litik enfeksiyonun ardından AV'lar yıllarca hücrelerde latent kalabilir (31).

Virus ilk olarak orofarenksi kaplayan epitel hücrelerini enfekte eder. Enfeksiyon farinks, konjunktiva veya üst solunum yollarında başlar, daha sonra lenf düğümlerine ve alt solunum yollarına yayılır. Enfeksiyon iyileşebilir veya latent hale gelebilir ve bağışıklığı baskılanmış bireylerde yeniden aktive olabilir. Viremi lokal replikasyondan sonra ortaya çıkar ve viseral organlara yayılabilir. Bu yayılma daha çok bağışıklığı baskılanmış hastalarda görülür (1).

2.1.7. İnsan Bokavirusu

İnsan bokavirusu (İBoV), ilk kez 2005 yılında nazofarengial örneklerden PCR yöntemi ile izole edilen bir parvovirustur (32). O zamandan beri, virus solunum ve gastrointestinal örneklerde yaygın olarak bulunmuştur. İBoV'nun viral solunum ve gastrointestinal sistem enfeksiyonlarına neden olduğu bilinmektedir. Ancak virusun patojenitesi tam olarak bilinmemektedir. İBoV yılın herhangi bir zamanında ortaya çıkabilir, en çok kış ve ilkbahar aylarında yaygındır. İBoV her yaştan bireyde enfeksiyona neden olur, ancak çoğunlukla 6-24 aylık bebeklerde izole edilmiştir (33).

İBoV, Parvoviridae ailesinin, Parvovirinae alt ailesinin üyesidir. Parvoviridae ailesinin üyeleri küçük, zarfsız, lineer, negatif veya pozitif tek sarmallı DNA viruslarıdır (34). Genom, üç yapısal ve iki yapısal olmayan proteini kodlar. Bokavirus solunum epitelinde çoğalır ve enfeksiyon yapar. Virus solunum yolu salgılarıyla bulaşmakla beraber dışkıdan da izole edilebilir. Bokavirus hafif veya şiddetli akut solunum yolu hastalığına neden olabilir. Daha şiddetli hastalık, bronşiyolit ve viremi iki yaşından küçük çocuklarda görülür (1).

2.1.8. Picornaviruslar

Picornaviridae, en büyük virus ailelerinden biridir. Adından da anlaşılacağı gibi bu viruslar, zarfsız, küçük (pico), ribonükleik asit (RNA) viruslarıdır. Genomu bir mRNA'dır. Picornavirusların pozitif RNA'sı ikosahedral kapsidle çevrilidir. Kapsid 12 pentamerik köşeden oluşur ve her pentamer beş protomerik proteinden oluşur. Protomerler dört virion polipeptidinden (VP1, VP2, VP3, VP4) oluşur. Bu proteinler, virusun hücresele reseptöre bağlanmasıyla salınır. Picornaviruslar sitoplazmada çoğalır ve virusların çoğu sitolitikdir. Ailenin, Enterovirus (Poliovirus, Cocksackievirus A/B,

Echovirus, Parechovirus, Enterovirus), Rinovirus, Hepatovirus (Hepatit A virusu), Cardiovirus ve Aphthovirus dahil olmak üzere dokuz cinse ayrılmış 230'dan fazla üyesi vardır (1).

2.1.8.1. Enteroviruslar

Enteroviruslar (EV), picornaviridae ailesine ait zarfsız, tek sarmallı, küçük, ikosahedral RNA viruslarıdır. Enteroviruslar, çoğu zaman hafif, grip benzeri semptomlarla ilerleyen akut enfeksiyona neden olur. Ancak virusun gastrointestinal veya solunum yolları gibi birincil enfeksiyon odağından, sekonder dokulara (pankreas, kalp, karaciğer veya beyin gibi) yayılması daha ciddi hastalıklara neden olabilir. Bu durum özellikle immun yetmezliği olan hastalar ve yenidoğan popülasyonlarında görülür (35). İnsan enteroviruslarının dört alt grubu vardır (A, B, C, D) (36). Enterovirus D68 (EV-D68) ve enterovirus A71 (EV-A71) en sık solunum yolu hastalığına neden alt gruplardır (37). Aside dirençli ve insan gastrointestinal sisteminde replike olan diğer enterovirusların aksine, EV-D68 aside dirençli değil, daha düşük sıcaklıkta çoğalır. Bu nedenle solunum yollarında çoğalabilir; İnsan solunum yolu endotel hücrelerinin yüzeyinde sialik asidin varlığı, EV-D68'in solunum yollarında replikasyonunun nedeni olabilir (38).

Adlarının aksine enteroviruslar genellikle enterik hastalığa neden olmazlar, gastrointestinal sistemde çoğalırlar ve fekal-oral yolla bulaşırlar. Enterovirus enfeksiyonları, esas olarak doku tropizmindeki farklılıklar ve virusun sitolitik kapasitesi ile belirlenir. Virionlar mide asidine, proteazlara ve safraya dirençlidir. Enteroviruslar üst solunum yolu ve ağız yoluyla bulaşır. Viral replikasyon bademciklerde, farenksin mukoza ve lenfoid dokusunda başlar (1). Viremi birkaç gün içinde ortaya çıkar; EV'lar karaciğer, dalak, kemik iliği ve daha uzak lenf düğümleri dahil olmak üzere retikuloendotelial sisteme yayılır. Konağın immün sistemi, viral replikasyonu sınırlayabilir ve enfeksiyonun diğer bölgelere yayılmasını önleyebilir (subklinik enfeksiyon). Aksi takdirde retikuloendotelial sistemdeki replikasyon, sekonder bir viremiye (üç-yedi gün sonra) yol açabilir. İkincil bölgelerdeki viral yük genellikle yaklaşık yedi gün sonra azalır. Antikorlar, EV enfeksiyonlarına karşı en önemli korunma şeklidir ve tipe özgü nötralize edici antikor seviyeleri arttığında viremi düzelir (39).

Enteroviruslar insandan insana solunum yoluyla, fekal-oral yolla, kontamine olmuş çevresel kaynaklar yoluyla bulaşır (40). Enteroviruslar neden olduğu klinik sendromlar, 1) viral serotip; 2) enfektif doz; 3) doku tropizmi; 4) giriş portalı; 5) hastanın yaşı, cinsiyeti ve sağlık durumu dahil olmak üzere çeşitli faktörler tarafından belirlenir. Enterovirus hastalığının kuluçka süresi, virusa, hedef dokuya göre 1-35 gün arasında değişmektedir. Solunum yollarını etkileyen viruslar en kısa kuluçka sürelerine sahiptir (1).

2.1.8.2. Rinoviruslar

Rinoviruslar (RV), insanlarda viral enfeksiyonların en sık nedenlerinden biridir. Soğuk algınlığının başlıca nedenlerinden olup, üst solunum yolu enfeksiyonlarıyla beraber alt solunum yolu enfeksiyonlarına da neden olurlar (14). Son iyirmi yılda RV'lar hastaneye yatış gerektiren şiddetli alt solunum yolu enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Daha şiddetli klinik durumlar, RV'ların astım, kronik obstruktif akciğer hastalığı, kronik bronşiolit ve toplum kökenli pnömoni gibi kronik solunum yolu hastalıklarını alevlendirmeleri ile ilişkilidir (41).

Rinoviruslar Picornaviridae ailesine ait, küçük, zarfsız, tek sarmallı pozitif RNA viruslardır. Rhinovirus-A (RV-A), Rhinovirus-B (RV-B) ve Rhinovirus-C (RV-C) olmak üzere üç türe ayrılmıştır. RV-A ve RV-B daha pürüzsüz, küresel kapsid yapıya sahipken, RV-C virionun dış yüzeyinde 60 spike benzeri çıkıntıya sahiptir. RV genomu, viral kapsidi oluşturan dört yapısal proteini (VP1, VP2, VP3, Vp4) ve yapısal olmayan yedi proteini (2A, 2B, 2C, 3A, 3B, 3C ve 3D) kodlar (42).

Rinoviruslar, konak epitel hücrelerine bağlanmak için üç ana tip membran glikoproteininden birini kullanır. Tüm RV-B ve çoğu RV-A tipini oluşturan viruslar, reseptör olarak hücrelerarası adezyon molekülü (ICAM-1) kullanır. Bazı ana grup RV'lar, alternatif bir reseptör olarak heparan sülfatı kullanabilirler. On iki RV-A tipini içeren minör grup viruslar ise, ICAM-1 yerine düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörüne (LDLR) bağlanır. Tüm RV-C, siliyer solunum yolu epitel hücreleri tarafından eksprese edilen bir protein olan kaderin ile ilişkili aile üyesi 3 (CDHR3) ile reaksiyona girer (43).

Rinoviruslar, tüm üst solunum yolu enfeksiyonlarının en az yarısına neden olur. Rinoviruslar iki mekanizma ile bulaşabilir: aerosol yoluyla ve eller veya kontamine cansız nesnelerden. Rinoviruslar, enfekte kişilerin sadece yarısında klinik hastalığa

neden olur. Asemptomatik bireyler virusu yayabilirler. Rinoviruslar asidik pH'a karşı dayanıksızdırlar. Enterovirusların aksine, rinoviruslar gastrointestinal kanalda çoğalamazlar. Virus burun, ağız, gözlerden giriş yapar ve boğaz da dahil olmak üzere üst solunum yollarının enfeksiyonunu başlatır. Çoğu viral replikasyon burunda meydana gelir, çünkü RV en iyi 33°C'de çoğalırlar. Enfekte hücreler bradikinin ve histamin salgılar ve bu da burun akıntısına neden olur. Enfeksiyon oranları bebeklerde ve çocuklarda en yüksektir (1).

2.1.9. Laboratuvar tanısı

Solunum yolu viruslarının tespitine yardımcı olmak için çeşitli laboratuvar yöntemleri mevcuttur. Bunlar virus kültürü, immünofloresan testleri, hızlı antijen tespit testleri, gerçek zamanlı RT-PCR, diğer nükleik asit amplifikasyon testleri ve serolojik testleridir. Kültürde solunum yolu viruslarının izolasyonu ve viral antijenlerin hızlı tespiti, on yıllardır tanıya yönelik geleneksel yaklaşımlardır. Ancak, zaman içinde RT-PCR gibi moleküler amplifikasyon yöntemlerinin gelişimi, salgınlarda solunum yolu viruslarını hızlı ve doğru bir şekilde tespit etmemizi büyük ölçüde geliştirdi. Gerçek zamanlı RT-PCR, solunum yolu viruslarının tespiti için şu anda en çok tercih edilen ve yaygın olarak kullanılan moleküler yöntemidir. (2).

Semptomları olan hastalarda tek solunum yolu virusu saptanabilse de, aynı anda başka solunum yolu virusları ile koenfeksiyonlar da olabilir. Özellikle beş yaş altı çocuklarda, koenfeksiyon sıklığı yüksek bulunur. Tek bir tüpte aynı anda birkaç potansiyel viral patojenin hızlı tespiti yapılabilir. Multipleks gerçek zamanlı PCR, kısa sürede birden fazla solunum yolu virusunun aynı anda saptanmasını sağlıyor. Singlepleks yaklaşımla karşılaştırıldığında, multipleks tanımlama yaklaşımı daha yüksek numune kullanıma, daha kısa geri dönüş süresine ve daha az miktarda numune gereksinimine sahiptir (12).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. HASTA GRUBU

Mart 2020-Mart 2021 tarihleri arasında COVID-19 klinik ön tanısı ile İstanbul Üniversitesi (İÜ), İstanbul Tıp Fakültesi Viroloji ve Temel İmmunoloji Bilim Dalı laboratuvarına gönderilen SARS-CoV-2 PCR testi negatif olan klinik örnekler çalışmaya dahil edilmiştir. Bu çalışma İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından (Dosya no:2022/159 Tarih:25/02/2022 04 sayılı toplantı) onaylanmıştır.

3.2. COVID-19 TANISI

İstanbul Üniversitesi (İÜ), İstanbul Tıp Fakültesi Viroloji ve Temel İmmunoloji Bilim Dalı bünyesinde bulunan Sağlık Bakanlığı tarafından yetkilendirilmiş COVID-19 PCR laboratuvarında Bio-Speedy Viral Nükleik Asit İzolasyon kiti ve Bio-Speedy COVID-19 RT-qPCR Tespit Kiti kullanılarak ekarte edilmektedir. Nükleik asit izolasyonu manuel olarak yapılmaktadır. COVID-19 RT-qPCR işlemi ise Rotor Gene Q Real-Time PCR (Qiagen, Hilden, Germany) cihazında gerçekleştirilmiştir.

3.2.1. Örneklerin toplanması, saklanması ve transferi

Swab örnekleri, Dacron veya Polyester swablar kullanılarak toplanmıştır. Taşıma aşamasında, Bio-Speedy® vNAT® Viral Transfer Tüpleri (Kat No: BS-NA - 513-100) kullanılmıştır. Örnekler laboratuvara gelene kadar 2-8°C'de saklanmış ve taşınmıştır.

3.2.2. Reaktifler ve Cihazlar

3.2.2.1. Cihazlar

Rotor Gene Q Real-Time PCR

3.2.2.2. Reaktifler

Bio-Speedy COVID-19 RT-qPCR Tespit Kiti

3.3. SOLUNUM YOLU VİRUSLARININ TANISI

COVID-19 negatif örneklerde diğer solunum yolu virusları, İÜ. İstanbul Tıp Fakültesi Viroloji ve Temel İmmunoloji Bilim Dalı Moleküler Biyoloji Laboratuvarında multipleks gerçek zamanlı RT-PCR yöntemi ile araştırılmaktadır. PCR işleminden önce solunum yolu örneklerinden nükleik asit izolasyonu EZ1 Virus Mini Kit v2.0 (Qiagen, Hilden, Germany) kiti kullanılarak EZ1 Advanced XL (Qiagen, Almanya) cihazında otomatik olarak yapılmıştır. Multipleks gerçek zamanlı RT-PCR işlemi ise Fast Track FTD Respiratory pathogens 21 kiti kullanılarak (AV, HBoV, CoV 229E, CoV HKU1, CoV NL63, CoV OC43, enterovirus, human metapneumovirus A/B, influenza A virusu, influenza A (H1N1) virusu, influenza B virusu, parainfluenza 1 -4, parechovirus, respiratuvar sinsityal virus A/B, rhinovirus) Rotor Gene Q Real-Time PCR (Qiagen, Hilden, Germany) cihazında yapılmıştır.

3.3.1. Reaktifler ve Ekipman

3.3.1.1. Reaktifler

Qiagen EZ1 Virus mini kiti V2

FTD Respiratory Pathogens 21 (Fast-track Diagnostics) Real-Time PCR Kit'i

3.3.1.2. Cihazlar

Qiagene EZ1 DNA ekstraksiyon cihazı

Rotor-Gene Q PCR cihazı

3.3.2. Örneklerin Seçilmesi

Burun sürüntüsü örnekleri alınarak çalışılmıştır.

3.3.3. DNA Ekstraksiyonu:

Qiagen EZ1 Virus Mini Kit V2 ve EZ1 DNA ekstraksiyon Cihazı Kullanılmıştır. İnternal kontrol, Pozitif kontrol, Negatif kontrol (PCR aşamasında kullanılmıştır); FTD Respiratory Pathogens 21 (Fast-track Diagnostics)' Real-Time PCR Kit'i ekstraksiyon odasında - 20 C'de saklanmıştır. İnternal kontrol, Negatif kontrol ve hasta serum örnekleri ekstraksiyon öncesi buzluktan çıkarılarak çözülmüştür.

3.3.3.1. Örneklerin Hazırlanması:

Virus transport medium (virocult) içinde sürüntü olarak gelen örnekler üzerine, EMEM çözeltilisinden 5 ml'lik tek kullanımlık pipetler ile 2 ml çekilerek konulmuştur.

Virocultün kapağı kapatılmıştır ve vorteksle kuvvetlice karıştırılmıştır. Bu işlem sırasında virocultun dibi sıkıştırılarak tüp içindeki jelden ve pamuktan sıvının dağılması sağlanmıştır. Bu işlem ve vorteksle karıştırma bir iki kez tekrarlanmıştır. Böylece virusların sıvı ortama geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra tek kullanımlık 2 ml'lik pipetle virocult içindeki sıvı çekilerek 2 ml'lik crio tüplere alınmıştır ve ekstraksiyonu yapılmıştır.

3.3.3.2. QIAGEN EZ1 VİRUS Mini Kit V2 İle Ekstraksiyon

Taşıyıcı RNA (liofilize halde, oda ısısında), üzerine 310 ul AVE çözeltisi konarak çözölmüştür. Kullanıldıktan sonra – 20 C'de saklanmıştır.

Lizis çözeltisinin hazırlanması

3,8 ul taşıyıcı RNA çözeltisi

2 ul internal kontrol

54,2 ul AVE çözeltisi

- Örnek sayısına göre tek tüpte lizis çözeltisi hazırlanmıştır. Her örnek için bir tüp olacak şekilde, cihazın 1,5 ml'lik tüpleri içine 60 şar ul bu karışımdan dağıtılmıştır.

- Cihazın 2 ml'lik tüpleri numaralandırılmıştır, hasta örneklerinden ve negatif kontrolden 400'er ul dağıtılmıştır.

- Cihazda:

- 1 nolu sıraya 1,5 ml lik tüpler üzerleri numaralandırılıp kapakları açılarak cihaza konulmuştur.

- 2 nolu sıraya önce uçların kapları sonra uçlar konulmuştur.

- 3 nolu sıraya 60 ul lizis çözeltisi dağıtılmış olan 1,5 ml'lik tüpler kapakları açılarak konulmuştur.

- 4 nolu sıraya numaralandırılarak, örnek dağıtılmış 2 ml'lik tüpler kapakları açılarak konulmuştur.

Cihaz içindeki kartuş yerleştirme kısmı (metal) dışarıya alınmıştır. Kitin içinden çıkarılan kartuşlar vortekslenerek manyetik boncukları karıştırılmıştır ve kartuşlar metal taşıyıcıdaki yerine ok yönünde yerleştirilmiştir. Kartuş üzerinde son kısımda bulunan deliklere 2 ml'lik tüpler kapakları açık olarak konulmuştur. Kolonlar çekilerek çıkıp

çıkmadığı kontrol edilmiştir. Taşıyıcı öne eğilerek kartuşun kulak kısımları yuvaya yerleşecek şekilde cihazdaki yerine konulmuştur.

Ekstraksiyon işlemi 45 dk sürmüştür. Daha sonra ekstraksiyon ürünleri PCR aşamasında kullanılmıştır.

3.3.4. FTD Respiratory Pathogens 21 (Fast-track Diagnostics)) Real-time kiti

3.3.4.1. Temiz odadaki işlemler.

Beş adet PCR karışımı hazırlanacak boş eppendorf tüpde S (sarı), K (kırmızı), M (mavi), P (pembe, mor), Y (yeşil) PCR karışımı hazırlanmıştır. Hazırlanan karışım tüpler alt-üst edilerek veya pipetle karıştırılıp kısa santüfjü yapılmıştır ve ekstraksiyon odasına geçilmiştir.

3.3.4.2. Ekstraksiyon odasındaki işlemler:

Örnek ve kontrol tüplerine sırasıyla temiz odada üzerine S, K, M, P, Y yazan tüplerde hazırlanan PCR karışımından 15 ‘er ul eklenmiştir. Daha sonra herbir örnek ekstraksiyonundan 10’ar ul S, K, M, P, Y PCR karışımı içeren 5 PCR tüpüne dağıtılmıştır. Birer tüpe de pozitif kontrolden dağıtılmıştır. Dağıtım bitince tüplerin kapakları kapatılmış Rotor Gene PCR aletine yüklenmiştir. Internal kontrolü negatif olan örnekler PCR inhibitörü nedeni ile tekrar edilmiştir.

3.3.5. Sonuçların değerlendirilmesi:

Negatif kontrole, standartlara, hasta örneklerine ait eğrilerin ve çalışma kapsamında bulunan tüm internal kontrol eğrilerinin uygunluğu değerlendirilmiştir. Uygunsuzluk durumunda, Negatif kontrolde pozitifliğin saptanması veya pozitif kontrolün negatif olarak saptanması durumunda tüm çalışma tekrar edilmiştir. Hasta örneklerine ait internal kontrolün çalışmaması durumunda hasta örneği tekrar çalışılmış veya gerektiğinde örnek uygun dilüsyonlarda seyreltilerek çalışılmıştır. Hastaya ait sonuçların, hastanın klinik durumu veya geçmiş sonuçları ile uyumsuzluğu durumunda yeni klinik örnekle çalışma yapılmıştır.

3.4. İstatiksel analiz

Hastaların demografik bilgileri hastane bilgi işlem sisteminden alınmıştır. Verilerin istatiksel analizi için İstanbul Üniversitesi tarafından lisanslı olan ‘Statistical Package for the Social Sciences’ (SPSS) 28 programı kullanılmıştır. Kategorik verilerin

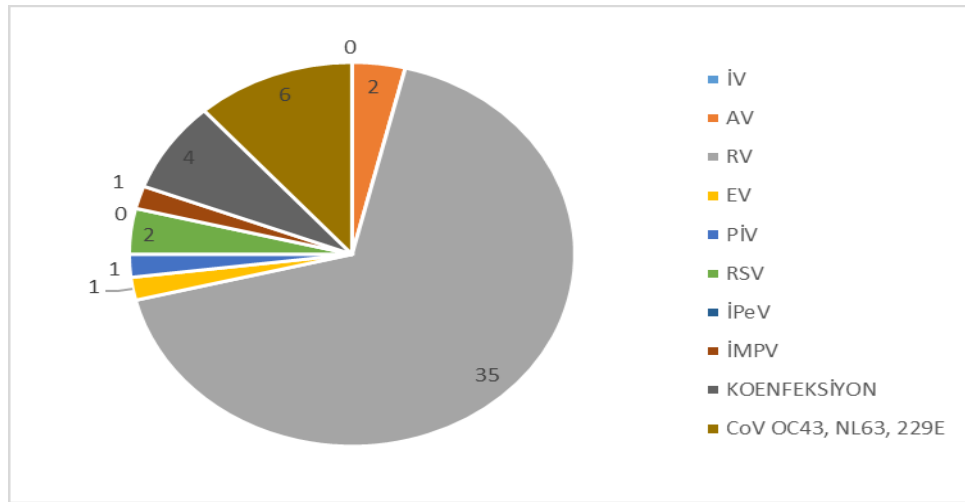
karşılaştırılmasında Ki-Kare testi kullanılmıştır. Veriler %95 güven aralığında değerlendirilmiş olup $p>0.05$ anlamsız $p<0.05$ ise anlamlı kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

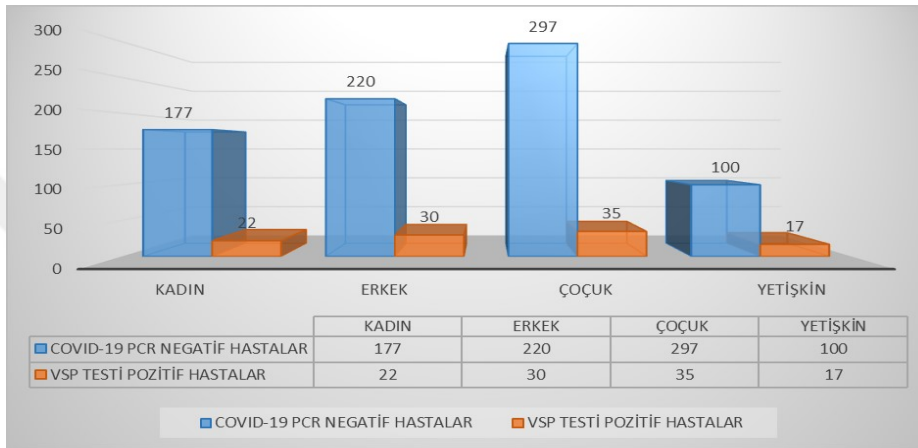
Bu çalışmada Mart 2020-Mart 2021 tarihleri arasında COVID-19 klinik ön tanısı ile İstanbul Üniversitesi (İÜ), İstanbul Tıp Fakültesi Viroloji ve Temel İmmunoloji Bilim Dalı laboratuvarına gönderilen SARS-CoV-2 PCR testi negatif çıkan 397 klinik örnekte moleküler tanı yöntemi gerçek zamanlı PCR kullanılarak adenovirus (AV), insan bokavirus (İBoV), koronavirus (CoV) 229E, CoV HKU1, CoV NL63, CoV OC43, enterovirus (EV), insan metapnömovirus (İMPV) A/B, influenza A virusu, influenza A (H1N1) virusu, influenza B virusu, parainfluenza 1-4, parechovirus, respiratuvar sinsityal virus (RSV) A/B, rinovirus araştırılmıştır.

Çalışmaya COVID-19 PCR negatif 397 hasta dahil edilmiştir. Bu 397 hastadan 52'sinde diğer solunum yolu virusları pozitif bulunmuştur. Diğer solunum yolu virusları pozitif bulunan 52 hastadan 35'i (%67) RV pozitif, 6'sı (%11) Cov OC43, NL63, 229E pozitif, 2'si (%4) AV pozitif, 2'si (%4) RSV pozitif, 1'i (%2) EV pozitif, 1'i (%2) İMPV pozitif, 1'i (%2) PİV-4 pozitif, 4'ü (%8) koenfeksiyon (RV+RSV, RV+AV, RV+İBoV, RSV+CoV 229E) pozitif olarak saptanmıştır. İV, PİV-1/2/3, İPeV saptanmamıştır.



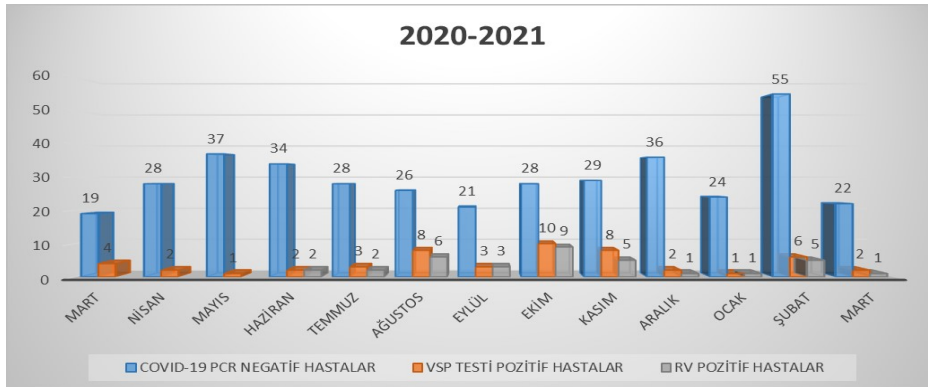
ŞEKİL 4.1. COVID-19 PCR negatif hastalarda diğer solunum yolu viruslarının pozitiflik dağılımı.

Hastaların 297'si çocuk (0-17 yaş), 100'ü yetişkin (>18 yaş), 177'si kadın ve 220'si erkek hastadır. Viral solunum yolu virusları açısından pozitif bulunan hastaların ise 35'i çocuk (0-17 yaş), 17'si yetişkin (>18 yaş), 22'si kadın ve 30'u erkek hastadır. Çocukluk yaş grubu ve yetişkin hastalar arasında (p:0.24) diğer solunum yolu viruslarının pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.



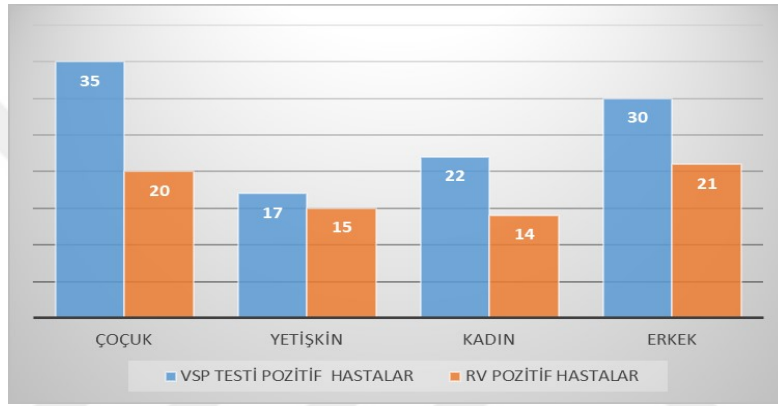
ŞEKİL 4.2. Hastaların yaş ve cinsiyet dağılımı.

Örneklerin kabul tarihlerine aylara göre bakacak olursak en çok örnek gönderilen ay şubat ayıdır. Aylara göre pozitiflik oranına bakacak olursak en yüksek pozitiflik (10 hasta, 9'u RV pozitif) ekim ayındadır.



ŞEKİL 4.3. Hastaların aylara göre dağılımı.

52 pozitif hastadan 35 hasta RV pozitif olarak bulundu. RV pozitif hastalardan 20'si çocuk, 15'i yetişkin, 14'ü kadın, 21'i erkek hastadır. Çocuk hastalar, yetişkin hastalar, kadın hastalar ve erkek hastalar arasında diğer solunum yolu viruslarının pozitifliği ve RV pozitifliği açısından ($p:0.81$) istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.



ŞEKİL 4.4. RV pozitif hastaların yaşa ve cinsiyete göre dağılımı.

Çalışmaya dahil edilen COVID-19 klinik ön tanılı ancak SARS-CoV-2 PCR negatif 397 hastanın 37'sinde SARS-CoV-2 PCR testinin negatif tespit edilmesine rağmen COVID-19'la uyumlu BT tablosu vardır. Bu 37 hastanın sadece beşinde diğer solunum yolu virusları pozitif bulunmuştur.

5. TARTIŞMA

SARS-CoV-2 Çin'in Wuhan kentinde ortaya çıktı. Virus hemen tüm dünyaya hızla yayıldı ve pandemiye neden oldu. SARS-CoV-2 damlacık yoluyla yayılır. Bu nedenle DSÖ viral enfeksiyonların yayılmasını önlemek için el yıkamayı, sosyal mesafeyi korumayı ve kalabalık yerlerden kaçınmayı önerdi. Bu önleyici tedbirlere ek olarak, çoğu ülke seyahat kısıtlamaları ve sokağa çıkma yasakları getirdi (44). Pandemi kontrol önlemleri, SARS-CoV-2'le beraber bir çok viral solunum yolu enfeksiyonlarının insidansını azalttı (45). Bu nedenle COVID-19'a benzer semptomlara neden olabilecek farklı patojenlerin taranması, hastalığa özgü uygun önlemleri almak için önemlidir (46).

Çalışmamıza 397 COVID-19 klinik ön tanılı SARS-CoV-2 PCR testi negatif hasta dahil edilmiştir. SARS-CoV-2 PCR testi negatif 397 hastanın 52'sinde diğer solunum yolu virusları pozitif olarak tespit edilmiştir. Diğer solunum yolu virusları pozitif 52 hastadan 35'i (%67) RV pozitif, 6'sı (%11) Cov OC43, NL63, 229E pozitif, 2'si (%4) AV pozitif, 2'si (%4) RSV pozitif, 1'i (%2) EV pozitif, 1'i (%2) İMPV pozitif, 1'i (%2) PİV-4 pozitif, 4'ü (%8) koenfeksiyon (RV+RSV, RV+AV, RV+İBoV, RSV+CoV 229E) pozitif olarak saptanmıştır. İV, PİV-1/2/3, İpeV saptanmamıştır. Görüldüğü üzere maske, mesafe, el yıkama, izolasyon önlemlerinin SARS-CoV-2'le beraber diğer solunum yolu viruslarının da yayılımını engellemiştir.

Japonya'da 10 Mart-7 Mayıs 2020 tarihleri arasında yapılan bir çalışmada da benzer sonuçlara ulaşılmıştır. En yüksek enfeksiyon oranının rinovirus / enterovirustan kaynaklandığı görülmüştür. İnfluenza virusunun hiç tespit edilememesi, önlemler almanın influenza viruslarının yayılımını önleyebileceğini göstermiştir (44). Başka bir çalışma da cerrahi maskelerin, influenza virusu partiküllerinin damlacık yoluyla yayılmasını etkili bir şekilde azaltabildiğini, ancak aerosollerde etkili olmadığını göstermektedir (47).

Güney Kore'de 2010-2019 ve 2020 yılları arasında 8 solunum virusunun haftalık pozitiflik oranlarının karşılaştırıldığı bir çalışma yapılmıştır. Bu viruslar için genel ortalama pozitiflik oranı 2010-2019'da %54,7'den 2020'de %39,1'e düştüğü belirlenmiştir. Pandemi kontrol önlemlerinin viral solunum yolu enfeksiyonlarının insidansını azaltmış olduğu görülmüştür. Düşüş en fazla influenza virusunda görüldüğü

halde, RV için pozitiflik oranı influenzanın aksine artış göstermiştir (45). Başka bir çalışmada RV tespiti influenza A virusu ile negatif bir ilişkisi olduğu ve RV enfeksiyonunun, insan solunum yolu epitel hücrelerinde influenza A virusu enfeksiyonuna karşı koruma sağlayan bir antiviral interferon tepkisini indüklediği gösterilmiştir (48).

COVID-19'un influenza ve diğer solunum yolu virus enfeksiyonları üzerindeki etkisini araştırmak için Ocak 2018 ile Eylül 2020 arasında Japonya'da solunum yolu hastalıkları olan klinik örnekler çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmada Mayıs 2020'den sonra zarflı virusları (yani influenza virusu; insan metapnömovirusu; insan parainfluenza virusu 1, 2, 3 ve 4; ve insan respiratuar sinsityal virusu) tespit etmediklerini, ancak rinovirus gibi zarfsız virusları tespit ettiklerini belirtmişler. Bu çalışmada, önerilen önlemlere rağmen çocuklarda rinovirus enfeksiyonunun önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir (49). Rinovirusun nesneler (50) veya aerosol (51) yoluyla bulaşabileceğini gösteren ve rinovirusun etanol içeren dezenfektanlara nispeten dirençli ve çevresel yüzeylerde uzun süre hayatta kalabilen zarfsız bir virus olduğunu gösteren çalışmalar vardır (52).

Çalışmamıza dahil edilen COVID-19 klinik ön tanıli ancak SARS-CoV-2 PCR testi negatif 397 hastanın 37'sinde SARS-CoV-2 PCR testinin negatif tespit edilmesine rağmen COVID-19'la uyumlu BT tablosu vardır. Bu 37 hastanın sadece beşinde diğer solunum yolu virusları pozitif bulunmuştur. Daha önceki çalışmalarda klinik bulgular ve BT taramasına göre COVID-19 klinik ön tanıli hastaların olduğu, ancak PCR testlerinin negatif sonuç gösterdiği ortaya konmuştur. Bu şekilde, negatif bir PCR testi sonucu COVID-19 enfeksiyonunu dışlamaz. PCR testi BT taraması ve klinik semptomlarla birlikte dikkate alınmalıdır. Örneklerin uygun olmayan koşullarda alınması, taşınması, amplifikasyon inhibitörleri gibi çeşitli faktörler yanlış negatif sonuçlara yol açabilir. Gerçek zamanlı RT-PCR sonuçları ayrıca hastalık gelişimi döneminden ve numune alma zamanlamasından etkilenebiliyor (53).

Çalışmamızda diğer solunum yolu virusları pozitif saptanan 52 hastadan dördünde koenfeksiyon (RV+RSV, RV+AV, RV+İBoV, RSV+CoV 229E) saptanmıştır. Akut alt solunum yolu enfeksiyonu klinik ön tanıli çocuklarda multipleks PCR yöntemiyle yapılan bir prospektif çalışmada koenfeksiyon saptanan hastalarda RV, İBoV ve AV daha çok saptanmıştır (54). Başka bir çalışmada AV, İBoV ve RV

gibi viruslar için lenfoid dokuların rezervuar görevi gördüğü ve bu durumda asemptomatik bireylerin virüsü daha uzun süre yaymaya devam ettiği görülmüştür (55). Bir diğer çalışmada, sağlıklı çocuklardan alınan solunum örneklerinin PCR analizinde, 41 güne kadar devam eden RV pozitifliği ve 44 güne kadar devam eden İBoV pozitifliği saptadıklarını göstermişler (56). İBoV diğer viruslarla çok sık aynı anda tespit edilse de, İBoV'nun bir patajen mi yoksa sadece eşlik eden bir virus mu olduğu hala açıklanamamıştır (57).



6. SONUÇ

Sonuç olarak, maske, mesafe, izolasyon gibi pandemi önlemlerinin SARS-CoV-2 ile beraber diğer solunum yolu viruslarının da insidansını azalttığı görülmektedir. Çalışmanın yapıldığı tarih aralığında İV'un hiç tespit edilmemesi ve dünyada da benzer çalışmaların olması, koruyucu önlemlerinin İV'un yayılmasını önemli ölçüde etkilediği görülmektedir. Koruyucu önlemlerle beraber hastaların influenza aşısı olup olmadığı da sonucu değişebilecek etkenlerden biridir. Ancak çalışmamıza dahil edilen hastaların influenza aşısı olup olmadıkları belli olmadığından bu konunun önemi belirtilememiştir. Aynı zamanda bir çalışmada da belirtildiği gibi zarflı virusların daha az dirençli olması da İV yayılmasını etkileyen nedenlerden biri olabilir.

Çalışmamızda belirlenen pozitiflik oranlarının RV pozitif ağırlıklı olması ve daha çok çocuklarda tespit edilmesi, RV'un sadece damlacık yolu ile değil nesneler yoluyla da bulaşması ve zarfsız virus olduğu için dezenfektanlara dirençli olması, ortamlarda daha uzun süre canlı kalması ile doğrulanabilir. Pandemi döneminde çocukların maske alışkalının yetişkinlere göre daha az olması, el yıkama alışkanlıklarının büyüklerin kontrolü altında olması RV'un çocuklarda daha çok görülmesini açıklayabilir.

KAYNAKLAR

1. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Virology. Medical Microbiology. USA: Elsevier; 2020. p. 361-564.
2. Hodinka RL. Respiratory RNA Viruses. Microbiol Spectr. 2016;4(4).
3. Clementi N, Ghosh S, De Santis M, Castelli M, Criscuolo E, Zanoni I, et al. Viral Respiratory Pathogens and Lung Injury. Clin Microbiol Rev. 2021;34(3).
4. Ursin RL, Klein SL. Sex Differences in Respiratory Viral Pathogenesis and Treatments. Annu Rev Virol. 2021;8(1):393-414.
5. Leung NHL. Transmissibility and transmission of respiratory viruses. Nat Rev Microbiol. 2021;19(8):528-45.
6. Zhu Y, Li W, Yang B, Qian R, Wu F, He X, et al. Epidemiological and virological characteristics of respiratory tract infections in children during COVID-19 outbreak. BMC Pediatr. 2021;21(1):195.
7. Abdelrahman Z, Li M, Wang X. Comparative Review of SARS-CoV-2, SARS-CoV, MERS-CoV, and Influenza A Respiratory Viruses. Front Immunol. 2020;11:552909.
8. Li G, Fan Y, Lai Y, Han T, Li Z, Zhou P, et al. Coronavirus infections and immune responses. J Med Virol. 2020;92(4):424-32.
9. Guo YR, Cao QD, Hong ZS, Tan YY, Chen SD, Jin HJ, et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak - an update on the status. Mil Med Res. 2020;7(1):11.
10. Kadam SB, Sukhramani GS, Bishnoi P, Pable AA, Barvkar VT. SARS-CoV-2, the pandemic coronavirus: Molecular and structural insights. J Basic Microbiol. 2021;61(3):180-202.
11. Renu K, Prasanna PL, Valsala Gopalakrishnan A. Coronaviruses pathogenesis, comorbidities and multi-organ damage - A review. Life Sci. 2020;255:117839.
12. Zhang N, Wang L, Deng X, Liang R, Su M, He C, et al. Recent advances in the detection of respiratory virus infection in humans. J Med Virol. 2020;92(4):408-17.
13. V'Kovski P, Kratzel A, Steiner S, Stalder H, Thiel V. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. Nat Rev Microbiol. 2021;19(3):155-70.
14. Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ. Viral Diseases. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Canada: Elsevier; 2019. p. 1795-2287.
15. Malik YA. Properties of Coronavirus and SARS-CoV-2. Malays J Pathol. 2020;42(1):3-11.
16. Hartenian E, Nandakumar D, Lari A, Ly M, Tucker JM, Glaunsinger BA. The molecular virology of coronaviruses. J Biol Chem. 2020;295(37):12910-34.
17. Weis S, Te Velthuis AJW. Influenza Virus RNA Synthesis and the Innate Immune Response. Viruses. 2021;13(5).
18. Mifsud EJ, Kuba M, Barr IG. Innate Immune Responses to Influenza Virus Infections in the Upper Respiratory Tract. Viruses. 2021;13(10).
19. Lampejo T. Influenza and antiviral resistance: an overview. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2020;39(7):1201-8.
20. Russell E, Ison MG. Parainfluenza Virus in the Hospitalized Adult. Clin Infect Dis. 2017;65(9):1570-6.
21. Branche AR, Falsey AR. Parainfluenza Virus Infection. Semin Respir Crit Care Med. 2016;37(4):538-54.

22. Castleman WL, Northrop PJ, McAllister PK. Replication of parainfluenza type-3 virus and bovine respiratory syncytial virus in isolated bovine type-II alveolar epithelial cells. *Am J Vet Res.* 1991;52(6):880-5.
23. Schomacker H, Schaap-Nutt A, Collins PL, Schmidt AC. Pathogenesis of acute respiratory illness caused by human parainfluenza viruses. *Curr Opin Virol.* 2012;2(3):294-9.
24. Shang Z, Tan S, Ma D. Respiratory syncytial virus: from pathogenesis to potential therapeutic strategies. *Int J Biol Sci.* 2021;17(14):4073-91.
25. Ke Z, Dillard RS, Chirkova T, Leon F, Stobart CC, Hampton CM, et al. The Morphology and Assembly of Respiratory Syncytial Virus Revealed by Cryo-Electron Tomography. *Viruses.* 2018;10(8).
26. van den Hoogen BG, de Jong JC, Groen J, Kuiken T, de Groot R, Fouchier RA, et al. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nat Med.* 2001;7(6):719-24.
27. Panda S, Mohakud NK, Pena L, Kumar S. Human metapneumovirus: review of an important respiratory pathogen. *Int J Infect Dis.* 2014;25:45-52.
28. Ballegeer M, Saelens X. Cell-Mediated Responses to Human Metapneumovirus Infection. *Viruses.* 2020;12(5).
29. Lynch JP, 3rd, Kajon AE. Adenovirus: Epidemiology, Global Spread of Novel Serotypes, and Advances in Treatment and Prevention. *Semin Respir Crit Care Med.* 2016;37(4):586-602.
30. Hograindleur MA, Effantin G, Fenel D, Mas C, Lieber A, Schoehn G, et al. Binding Mechanism Elucidation of the Acute Respiratory Disease Causing Agent Adenovirus of Serotype 7 to Desmoglein-2. *Viruses.* 2020;12(10).
31. Crenshaw BJ, Jones LB, Bell CR, Kumar S, Matthews QL. Perspective on Adenoviruses: Epidemiology, Pathogenicity, and Gene Therapy. *Biomedicines.* 2019;7(3).
32. Coverstone AM, Wang L, Sumino K. Beyond Respiratory Syncytial Virus and Rhinovirus in the Pathogenesis and Exacerbation of Asthma: The Role of Metapneumovirus, Bocavirus and Influenza Virus. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2019;39(3):391-401.
33. Abdelqader R, Hasan H, Alanagreh L. Epidemiology of Human Bocavirus in the Middle East and North Africa: Systematic Review. *Pathogens.* 2021;10(11).
34. Schildgen O, Muller A, Allander T, Mackay IM, Volz S, Kupfer B, et al. Human bocavirus: passenger or pathogen in acute respiratory tract infections? *Clin Microbiol Rev.* 2008;21(2):291-304, table of contents.
35. Marjomaki V, Kalander K, Hellman M, Permi P. Enteroviruses and coronaviruses: similarities and therapeutic targets. *Expert Opin Ther Targets.* 2021;25(6):479-89.
36. Chuang YY, Huang YC. Enteroviral infection in neonates. *J Microbiol Immunol Infect.* 2019;52(6):851-7.
37. Wollants E, Beller L, Beuselinck K, Bloemen M, Lagrou K, Reynders M, et al. A decade of enterovirus genetic diversity in Belgium. *J Clin Virol.* 2019;121:104205.
38. Sun J, Hu XY, Yu XF. Current Understanding of Human Enterovirus D68. *Viruses.* 2019;11(6).
39. Sandoni M, Ciardo L, Tamburini C, Boncompagni A, Rossi C, Guidotti I, et al. Enteroviral Infections in the First Three Months of Life. *Pathogens.* 2022;11(1).

40. Nikonov OS, Chernykh ES, Garber MB, Nikonova EY. Enteroviruses: Classification, Diseases They Cause, and Approaches to Development of Antiviral Drugs. *Biochemistry (Mosc)*. 2017;82(13):1615-31.
41. Esneau C, Duff AC, Bartlett NW. Understanding Rhinovirus Circulation and Impact on Illness. *Viruses-Basel*. 2022;14(1).
42. Ganjian H, Rajput C, Elzoheiry M, Sajjan U. Rhinovirus and Innate Immune Function of Airway Epithelium. *Front Cell Infect Mi*. 2020;10.
43. Basnet S, Palmenberg AC, Gern JE. Rhinoviruses and Their Receptors. *Chest*. 2019;155(5):1018-25.
44. Hirotsu Y, Maejima M, Shibusawa M, Amemiya K, Nagakubo Y, Hosaka K, et al. Analysis of COVID-19 and non-COVID-19 viruses, including influenza viruses, to determine the influence of intensive preventive measures in Japan. *J Clin Virol*. 2020;129:104543.
45. Yum S, Hong K, Sohn S, Kim J, Chun BC. Trends in Viral Respiratory Infections During COVID-19 Pandemic, South Korea. *Emerg Infect Dis*. 2021;27(6):1685-8.
46. Boschiero MN, Duarte A, Palamim CVC, Alvarez AE, Mauch RM, Marson FAL. Frequency of respiratory pathogens other than SARS-CoV-2 detected during COVID-19 testing. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2022;102(2):115576.
47. Leung NHL, Chu DKW, Shiu EYC, Chan KH, McDevitt JJ, Hau BJP, et al. Respiratory virus shedding in exhaled breath and efficacy of face masks. *Nat Med*. 2020;26(5):676-80.
48. Wu A, Mihaylova VT, Landry ML, Foxman EF. Interference between rhinovirus and influenza A virus: a clinical data analysis and experimental infection study. *Lancet Microbe*. 2020;1(6):e254-e62.
49. Takashita E, Kawakami C, Momoki T, Saikusa M, Shimizu K, Ozawa H, et al. Increased risk of rhinovirus infection in children during the coronavirus disease-19 pandemic. *Influenza Other Respir Viruses*. 2021;15(4):488-94.
50. Winther B, McCue K, Ashe K, Rubino JR, Hendley JO. Environmental contamination with rhinovirus and transfer to fingers of healthy individuals by daily life activity. *J Med Virol*. 2007;79(10):1606-10.
51. Dick EC, Jennings LC, Mink KA, Wartgow CD, Inhorn SL. Aerosol transmission of rhinovirus colds. *J Infect Dis*. 1987;156(3):442-8.
52. Savolainen-Kopra C, Korpela T, Simonen-Tikka ML, Amiryousefi A, Ziegler T, Roivainen M, et al. Single treatment with ethanol hand rub is ineffective against human rhinovirus--hand washing with soap and water removes the virus efficiently. *J Med Virol*. 2012;84(3):543-7.
53. Daemi HB, Kulyar MF, He X, Li C, Karimpour M, Sun X, et al. Progression and Trends in Virus from Influenza A to COVID-19: An Overview of Recent Studies. *Viruses*. 2021;13(6).
54. Sonawane AA, Shastri J, Bavdekar SB. Respiratory Pathogens in Infants Diagnosed with Acute Lower Respiratory Tract Infection in a Tertiary Care Hospital of Western India Using Multiplex Real Time PCR. *Indian J Pediatr*. 2019;86(5):433-8.
55. Proenca-Modena JL, Pereira Valera FC, Jacob MG, Buzatto GP, Saturno TH, Lopes L, et al. High rates of detection of respiratory viruses in tonsillar tissues from children with chronic adenotonsillar disease. *PLoS One*. 2012;7(8):e42136.
56. Martin ET, Fairchok MP, Stednick ZJ, Kuypers J, Englund JA. Epidemiology of multiple respiratory viruses in childcare attendees. *J Infect Dis*. 2013;207(6):982-9.

57. Longtin J, Bastien M, Gilca R, Leblanc E, de Serres G, Bergeron MG, et al. Human bocavirus infections in hospitalized children and adults. *Emerg Infect Dis*. 2008;14(2):217-21.



