

## PANDEMİK INFLUENZA A (H1N1) 2009 ENFEKSİYONLARININ LABORATUVAR TANISI

### *LABORATORY DIAGNOSIS OF PANDEMIC INFLUENZA A(H1N1) 2009 INFECTION*

Meral AKÇAY CİBLAK, Emel BOZKAYA\*

**Özet:** Yüzyılın ilk pandemisini yaşadığımız 2009-2010 influenza mevsiminde tedavinin planlanması ve pandemi yayılımının mümkün olduğunca yavaşlatılabilmesi ancak hızlı ve doğru tanı ile mümkündür. Bu amaçla günümüzde en hızlı ve doğru tanı yöntemi olan “real- time reverse transcription- polymerase chain reaction” (rRT-PCR)” referans yöntem olarak tüm dünyada yaygın olarak kullanıma girmiştir. Öte yandan mevsimsel influenza tanısında kullanılan direkt immunofluoresan (DFA), indirekt-immunofluoresan (IFA) ve hızlı testler gibi duyarlılıkları düşük testler zorunlu olmadıkça pandemik influenza enfeksiyonların tanısı için önerilmemektedir. Özellikle hızlı testler uygulamadaki kolaylıkları ve yarım saat gibi kısa bir sürede sonuç vermeleri dolayısıyla pandemi tanısında gündeme gelmiş, ancak yapılan bilimsel çalışmalar bu testlerin pandemi tanısında kullanılmasının sakıncalarını dile getirmişlerdir.

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Ulusal İnfluenza Referans Laboratuvarında pandemik influenza tanısı CDC tarafından geliştirilen ve DSÖ’ nün onayladığı rRT-PCR referans yöntemiyle yapılmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Pandemik influenza, laboratuvar tanı, rRT-PCR, hızlı testler

**Summary:** Fast and accurate diagnosis of influenza virus infections has become one of the most important components in clinical management and containment of current pandemic. Therefore, “real- time reverse transcription- polymerase chain reaction” (rRT-PCR)” has become the reference method for diagnosis of pandemic A (H1N1)2009 due to its ability of generating fast, and accurate results, in less than 2.5 hours. Virus isolation, direct immunofluorescence (DFA), in-direct immunofluorescence (IFA) and rapid tests are not recommended for diagnosis of pandemic A(H1N1) 2009 unless necessary. Rapid tests have been considered for use by some diagnostic laboratories due to their ease of use and generation of fast results. However, scientific reports indicate the low sensitivity as one of the drawbacks of this method and do not recommend rapid tests for use in diagnosis of pandemic A (H1N1) 2009.

rRT-PCR method developed by Centers for Disease Control and Prevention and authorized by World Health Organization (WHO) has been used at Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, National Influenza Reference Laboratory since the beginning of the pandemic.

**Key Words:** Pandemic influenza, laboratory diagnosis, rRT-PCR, rapid tests

---

\* İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Viroloji ve Temel İmmünoloji Bilim Dalı, Ulusal İnfluenza Referans Laboratuvarı, Çapa, İstanbul

## PANDEMİK A (H1N1) ENFEKSİYONLARINDA TANI

13 Nisan 2009 tarihinde ABD'nin Kalifornia eyaletinin San Diego şehrinde 10 yaşında bir çocuk ateş, öksürük ve kusma belirtileri ile polikliniğe başvurmuş ve alınan nazofaringeal sürüntü örneğinde influenza A saptanmıştır. Ancak A/H1N1, A/H3N2 ve A/H5N1 alt tiplene çalışmaları negatif sonuç vermiş; örnek ileri tetkikler yapılması amacıyla CDC'deki referans laboratuvarına ulaştırılmış ve CDC'de yapılan incelemeler sonucunda virüsün mevsimsel A/H1N1 den farklı genler taşıyan "swine influenza A(H1N1)" olduğu saptanmıştır (6). Aynı haftalarda Meksika'nın bazı bölgelerinde influenza benzeri hastalık salgınları meydana gelmiş; dizi analizleri bu salgınların etkeninin California'da saptanan virüsle aynı olduğunu göstermiştir (7). Takip eden günlerde salgın farklı coğrafyalarda hızla yayılmaya başlamış ve sonunda DSÖ, 11 Haziran 2009'da yüzyılın ilk pandemisini ilan edilmiştir (23). Pandemi ile beraber laboratuvarlar hızlı, duyarlı ve kapasitesi artırılabilir yöntem arayışına girmiştir. Bu yazıda doğru örnek alımından başlanarak pandemik influenza A (H1N1) enfeksiyonlarının laboratuvar tanısında dünya genelinde ve ülkemizde kullanılan tanı yöntemleri gözden geçirilmiştir.

## ÖRNEKLERİN ALIMI VE LABORATUARA ULAŞTIRILMASI

Tüm hastalıklarda olduğu gibi pandemik influenza'nın laboratuvar tanısında da örneğin kalitesi oldukça önem taşımaktadır. Uygun dönemde ve bölgeden alınarak, uygun koşullarda laboratuvara ulaştırılmayan örneklerde "yanlış" sonuç alma riski artmaktadır. Pandemi influenza tanısı için örneklerin viral atılımın en yoğun olduğu hastalık semptomlarının başlangıcından sonraki ilk üç gün içinde alınması gereklidir. Ancak, zorunlu durumlarda viral atılımın belirtilerin başlangıcından sonra azalarak da olsa ortalama olarak 7 gün kadar sürdüğü göz önüne alınarak, ilk üç gün içinde örnek alınmadıysa belirtilerin başlangıcından sonraki yedi gün içinde de örnek alınabileceği bildirilmektedir (8). Viral atılımın 7 günden fazla sürdüğü durumlarda, örneğin oseltamivir tedavisi gören hastalarda, olası direnç gelişimini de araştırmak amacıyla örnek alınıp laboratuvara ulaştırılmalıdır (17).

Mevsimsel influenza'nın tanısında olduğu gibi pandemik influenza'nın tanısı için de üst solunum yollarından alınan örneklerin uygun olduğu bildirilmiştir. Buna göre sırasıyla, nazofaringeal sürüntü, burun sürüntüsü, nazofaringeal aspirat ve bronş aspiratı uygun olan yöntemlerdir (24). Doğru yöntemle nazofaringeal örnek alımı için <http://content.nejm.org/cgi/content/full/NEJMe0903992> internet sitesindeki video izlenebilir (1). Pandemi influenza (H1N1) 2009 tanısı için İstanbul Tıp Fakültesi, Ulusal Influenza Referans Laboratuvarında nazofaringeal sürüntü ve burun sürüntüsü örnekleri incelenmiştir. Ancak, bazı ağır olgulardan alınan burun sürüntüsü ve nazofaringeal sürüntü örnekleri negatif sonuç verirken, aynı hastaların akciğer otopsi örneklerinden pandemik A (H1N1) saptanmıştır. Singh ve ark. (21) farklı yaşlardaki üç hastada nazofaringeal sürüntü örneklerini negatif olarak saptarken bronkoalveolar lavaj (BAL) örneklerini pozitif olarak saptadıklarını bildirmiştir. Bu nedenle özel durumlarda gerektiğinde endotrakeal aspirat, BAL ve balgam örnekleri de laboratuvara ulaştırılmalıdır (8). İnfluenza virüsleri solunum yolları epitel hücrelerine yerleşerek bu hücrelerde çoğalmakta, viremiye neden olmamaktadır. Bu nedenle solunum yolu örneği dışındaki örnekler tanı amacıyla kullanılmamaktadır. Örneğin kan, tanı amaçlı değil araştırma amacıyla serumda akut ve konvalesan dönemlerdeki antikör titresinin karşılaştırılmasında kullanılmaktadır.

Sürüntü örnekleri için kullanılacak eküvyonlar PCR inhibitörü içermemelidir. Buna göre, eküvyonlar sentetik uçlu (polyester ya da dakron) olmalı ve sapı plastik ya da alüminyum olmalıdır. Pamuk uçlu,

aşşap saplı eküviyonlar önerilmemektedir. Kalsiyum alginattan yapılmış eküviyonlar ise kesinlikle kullanılmamalıdır (2, 8). Sürüntü örnekleri mutlaka 1-3 ml viral transport besi yeri içinde laboratuara ulaştırılmalıdır. Ulaşımın sorun olduğu durumlarda örnekler viral transport besi yeri içinde, +4 °C’de en fazla 4 gün saklanabilmektedir. Viral transport besi yeri dışındaki besi yerleriyle laboratuara gönderilen örnekler değerlendirilmeye alınmazlar.

## TANI TEKNİKLERİ

**1. Moleküler Yöntemler:** ABD’nin California eyaletindeki indeks vakadan izole edilen influenza A virüsünün dolaşımdaki A/H1N1 virüslerinden farklı olduğu dizileme yoluyla anlaşılmış ve bu ilk virüsün gen dizileri 27 Nisan 2009 tarihinden itibaren A/California/04/2009 olarak NCBI, GeneBank’ta yayınlanmıştır (20). Bunu takiben CDC, DSÖ, merkezi Londra olan Sağlık Koruma Merkezi (HPA) ve Kanada Halk Sağlığı Merkezi gibi kuruluşlar mevcut moleküler yöntemleri geliştirerek, pandemik influenza virüsünün tanısı için optimize etmiş ve referans laboratuvarlarıyla paylaşımına sunmuşlardır. CDC mevsimsel influenza tanı ve sürveyans çalışmaları için geliştirmiş olduğu “real- time reverse transcription- polymerase chain reaction” (rRT-PCR)” tanı yöntemini modifiye ederek tanı paneline pandemik A(H1N1) 2009 virüsünü de ekleyerek tanı protokolünü ülkemiz dahil bir çok ulusal grip referans merkeziyle paylaşmıştır. (9).

rRT-PCR yönteminin mevsimsel influenza alt tiplerinin yanı sıra H5, H7, H9 gibi alt tipleri saptamada da duyarlılığının ve özgüllüğünün yüksek olduğu Monne ve ark. (19) tarafından bildirilmiştir. Ancak kimi laboratuvarlar bu yeni salgınla beraber alt yapılarına uygun olarak moleküler tanı yöntemi geliştirme çabalarına girişmişlerdir. Doğal olarak geliştirilmeye çalışılan tüm moleküler tanı yöntemlerinde pandemik A(H1N1)2009 virüsünün seçilen genlerinin “korunmuş” bölgeleri hedef alınarak primer ve prob seçimi yapılmıştır. Hedef olarak çoğunlukla Matriks (M), Hemagglütinin (HA) ve Nöraminidaz (NA) genleri kullanılmıştır. Bu bağlamda ilk olarak Ellis ve ark. (13) Londra’daki “Health Protection Agency (HPA)” kurumu bünyesinde bulunan virüs referans laboratuvarının geliştirdiği iki rRT-PCR yöntemini, (HPA (H1)v ve HPA (N1)v) CDC (H1-Swine ) ve Dublin Ulusal Virüs Referans Laboratuvarının Geliştirdiği (S-OIV) rRT-PCR yöntemleriyle karşılaştırmıştır. Bu çalışmada karşılaştırılan tüm yöntemlerde iki ucu işaretli hidroliz problemleri kullanılmaktadır. Sekanslanarak pandemik A (H1N1) 2009 olduğu saptanan 43 pozitif 42 negatif örnekle yaptıkları çalışma sonucunda S-OIV metodu tüm pozitif örnekleri pozitif olarak saptarken, CDC yöntemi 4, HPA (H1) 2, HPA(N1) 2 pozitif örneği negatif olarak saptamıştır. 42 negatif örneğin tümü dört yöntemle de negatif sonuç vermiştir. Bu çalışmada karşılaştırılan yöntemlerin duyarlık ve özgüllük açısından pandemik A(H1N1) tanısı için uygun olduğu belirtilmiştir. Ancak bu testlerin ne kadar sürede sonuç verdikleri bu çalışmada belirtilmemiştir. Bu çalışmayı takiben Mahony et al. (18) yayınladıkları makalede laboratuvarlarda mevcut olan yöntemlerin modifiye ederek pandemik A (H1N1) 2009 tanısında kullanılabilir hale getirilebileceğine vurgu yapmışlardır. Bu bağlamda Luminex xTAG Respiratory Viral Panel (RVP) değerlendirilmiştir. xTAG RVP, mevsimsel influenza A, influenza B, H1 ve H3 dahil olmak üzere toplam 20 solunum yolu virüsünün aynı anda tanısı için tasarlanmış PCR bazlı bir yöntemdir. Pandemik A (H1N1) 2009 olduğu sekanslama ile konfirme edilmiş 20 örnek xTAG ile test edilmiş, hepsi influenza A bakımından pozitif, H1, H3 dahil olmak üzere diğer tüm parametreler açısından negatif sonuç vermiştir. Bu nedenle xTAG alt yapısı bulunan laboratuvarlarda influenza A olarak saptanan ancak H1, H3 olarak alt tiplenebilir yapılamayan örneklerin klinik ve epidemiyolojik bulgularla birlikte pandemik A(H1N1)2009 açısından değerlendirilebileceği vurgulanmıştır. Pandemi yayılmaya devam ettikçe yeni pandemik A (H1N1) gen dizilimleri gen bankasına

bildirilmiş ve bir çok farklı araştırmacı gen bankasındaki bu dizilimleri kullanarak primer ve prob dizayn ederek duyarlığı ve özgülüğü yüksek rRT-PCR metodu geliştirmişlerdir (3, 22).

**2. Virüs İzolasyonu:** Virüs izolasyonu güvenilir bir teknik olmasına rağmen sonuç almak için bir kaç gün gerektirmesi nedeni ile pandemik influenza enfeksiyonlarında tanı amacıyla kullanılmaktadır. Mevsimsel influenza için kullanılan Madin-Darby Canine Kidney (MDCK) hücre kültürü ya da embriyonlu yumurta pandemik A (H1N1) için de önerilen izolasyon yöntemleridir. Ancak mevsimsel influenza için laminar kabinde çalışmak yeterli olmasına karşın, pandemik A (H1N1) izolasyon çalışmalarının biyo-güvenlik düzeyi 2 (BSL2) ortamda yapılması önkoşulu getirilmiştir (24).

**3. Hızlı Testler ve İmmunfluoresan (DFA) Testler:** Mevsimsel influenza A ve B virüslerinin tanısı için tasarlanmış duyarlılıkları seçilen çalışma grubuna, örnekteki virüs miktarına ve testi uygulayan kişiye göre değişebilen hızlı testlerin, kullanım kolaylığı ve 15-30 dakika gibi kısa sürede sonuç vermeleri nedeniyle pandemik influenza A(H1N1) 2009 virüsünün tanısında kullanımı gündeme gelmiş ve bu konuda bir çok araştırma yapılmıştır. Ancak, yapılan çalışmalarda farklı testler, farklı yaş grupları ele alınarak değerlendirildiği için bu çalışmaları birbiriyle kıyaslayarak bir sonuca varmak olası değildir. Örneğin CDC tarafından yayınlanan ilk raporda hızlı testlerin pandemik H1N1 tanısındaki duyarlılıklarının %40-69 oranında olduğu okul salgınlarının irdelendiği ikinci raporda aynı test grubu için bu oranın %47 bulunduğu bildirilmiştir (4, 5). Bu konuda yapılan ilk çalışmalarda Chan ve ark. (10) QuickVue Influenza A+B, Directigen EZ Flu A+B, Espline Influenza A+B ve Wondfo ticari kitlerin pandemik A/H1N1 antijeni saptamadaki analitik duyarlılıklarının, mevsimsel grip etkenlerini saptamadaki oran ile eşdeğer olduğunu belirtmişlerdir. Ginocchio ve ark. (14) BinaxNOW Influenza A+B ve 3M Rapid Detection Flu A+B hızlı testlerini DFA ve kültür yöntemleri ile karşılaştıkları çalışmalarında, hızlı testlerin duyarlılıklarını %17,8, özgülüklerini %93,6 olarak bildirmişlerdir. Kanturvardar ve ark. (16) rRT-PCR referans yöntemi ile pandemic A (H1N1) 2009 virüsü açısından pozitif olarak saptadıkları 104 örneği farklı markalardaki hızlı test yöntemleriyle de test etmişler sonuçta 104 pozitif örnekten A&B Respi-Strip ile 33 (31.7%), SD-Bioline Influenza Antigen ile 35 (33.7%), Directigen EZ Flu A+B ile 52 (50%) ve QuickVue Influenza A+B ile de 50 (48%) örneği pozitif olarak saptadıklarını bildirmişlerdir. DFA yönteminin hızlı testlerden daha duyarlı olduğu bildirilmiştir (2). Ancak bu testler mikroskop alt yapısı ve deneyimli personel gerektirmekte ve aynı zamanda bu testlerle influenza virüslerinin alt tipleri saptanamamaktadır. Bu nedenle pandemik influenza A (H1N1) 2009 tanısı için ilgi görmemiştir. Boggild ve ark. (2) yayınlamış oldukları derlemede pandemik influenza A (H1N1) 2009 tanısı için kullanılan bazı yöntemlerin sonuçları Tablo 1’de özetlenmiştir.

**4. Seroloji:** Tanı amaçlı kullanılmamakla beraber akut ve konvalesan dönem serumlarında pandemik A (H1N1) 2009 antikor titresini araştırmak amacıyla hemagglütinasyon inhibisyon ve mikronötralizasyon metodlarından faydalanılmaktadır. Antikor titresindeki 4 kat ve üzerindeki artış serokonversiyon olarak kabul edilmektedir (24).

## SONUÇ

Pandemik influenza A (H1N1) 2009 tanısında nükleik asit bazlı testlerin diğer tüm yöntemlerden (hücre kültürü, DFA ve hızlı testler) üstün oldukları yapılan yayınlarda vurgulanmıştır. Nükleik asit testleri hızlı, duyarlı ve özgülükleri yüksek olup kapasiteleri gerektiğinde artırılabilir. Hızlı testlerin pozitif prediktif değerleri (PPV) yüksek olmasına karşın, negatif prediktif değerleri (NPV) düşüktür ve influenza alt tiplerini saptayamamaktadır. Bu nedenle CDC, negatif hızlı test sonuçlarına

**Tablo 1. Pandemik A (H1N1) 2009 influenza virüsünün tanısında kullanılan yöntemlerin performans özellikleri (2)**

Referans	Örnek Sayısı	Değerlendirilen Test	Sensitivite (%)	Spesifisite (%)	PPV (%)	NPV (%)
Vasoo ve ark.	84	<b>Hızlı Test</b> , Directigen EZ Flu A+B; Becton Dickinson, Franklin Lakes,NJ	46.7 (34.6-59.1)	100(86.2-100)	100	89.6
		<b>Hızlı Test</b> , BinaxNOW Influenza A&B; Inverness Medical Innovations, Bedford UK	38.3(27.1-51)	100(86.2-100)	100	88.2
		<b>Hızlı Test</b> , QuickVue InfluenzaA+B; Quidel, San Diego, CA	53.3(40.9-65.4)	100(86.2-100)	100	90.2
Sabetta ve ark.	63	<b>Hızlı Test</b> , Xpect Flu A&B; Remel, Lenexa, KS	47	86	92	32
Faix ve ark.	273	<b>Hızlı Test</b> , QuickVue Influenza A+B	51	99	Yok	Yok
Kok ve ark.	174	<b>Hızlı Test</b> , QuickVue Influenza A+B	53.4	100	100	76.2
Ginocchio ve ark.	288	<b>Hızlı Test</b> , BinaxNOW A&B yada 3M Rapid Detection Flu A+B; 3M, St Paul, MN	17.8	93.6	77.4	47.9
		<b>DFA</b>	46.7	94.5	91.3	58.9
		<b>R-Mix viral culture</b> , Diagnostic Hybrids, Athens, OH	88.9	100	100	87.9
		<b>RT-PCR</b> , Luminex RVP; Luminex, Austin, TX	97.8	100	100	97.3
Pabbaraju ve ark.	35	<b>Klasik RT-PCR ve RVP</b> sonrası dizileme	92.9(80.5-98.5)	yok	yok	yok
	34	<b>CDC- H1 swine RT-PCR</b>	83.3(68.6-93)	yok	yok	yok
	38	<b>In-house HA RT-PCR</b>	95.2(83.8-99.4)	yok	yok	yok
	36	<b>In-house M1 RT-PCR</b>	90.5 (77.4-97.3)	yok	yok	yok
	38	<b>In-house M2 RT-PCR</b>	97.6( 87.4-99.9)	yok	yok	yok
	20	<b>RT-PCR</b> , Luminex RVP	100	100	yok	yok

DFA, direct floresan antijen, HA, hemaglütinin, M1/M2, matriks geni, NPV, negative predictive değer, PPV, pozitif prediktif değer, RVP, solunum yolu viral panel

göre klinik kararlar alınmasından kaçınılması gerektiğini vurgulamıştır (2, 12, 15). Nitekim hızlı test yapıldıktan sonra alt tipleme ve kesin tanı için mutlaka RT-PCR yapılmalıdır. Özellikle risk grubunda ve gebeler için doğru ve zamanında tanı koymanın önemi düşünülecek olursa hızlı testlerin yarardan ziyade vakit ve ekonomik kayba yol açtıklarını söylemek yanlış olmaz.

Türkiye’deki iki Ulusal İnfluenza Referans Laboratuvarından biri olan İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Ulusal İnfluenza Referans Laboratuvarı CDC ile irtibata geçerek pandemik A( H1N1) 2009 tanısı için gerekli reaktifleri temin etmiş ve 24 Nisan 2009 itibariyle laboratuvara ulaştırılan örnekler rRT-PCR ile çalışılmaya başlanmıştır. CDC yöntemi kantitatif one-step probe RT-PCR (Invitrogen SuperScript™III Platinum® One-Step Quantitative Kit) kullanılarak , 96 kuyucuklu plak sistemi ile çalışan ve dolayısıyla bir defada 20’den fazla örneğin test edilebilmesine olanak sağlayan

Applied Biosystems™ real-time PCR (7000, 7300, 7500), BioRad real-time PCR Detection Systems (iQ™ ya da iQ5™), ve Stratagene QPCR Instruments (MX4000<sup>R</sup>, MX3000R ya da MX3005<sup>R</sup>) PCR cihazlarına uygun olarak optimize edilmiştir. CDC yöntemi, tanıda dört farklı hedef gen kullanılmaktadır: Üniwersal İnf A Matrix Geni (İnf A), A/California/04/2009 Matrix Geni (SW İnf A), A/California/04/2009 H1 Geni (SW H1) ve son olarak da örneğin insandan ve doğru alındığını teyid etmek için Rnase P (RNP) kontrol geni (20). Örnek sonucunun değerlendirilmeye alınması ancak RNP geninin pozitif sonuç verdiği durumlarda mümkün olmaktadır. RNP sonucu negatif olan örnekler değerlendirilmeye alınmazlar. RNP sonucunun pozitif olduğu durumlarda örnekler yukarıda sayılan üç parametreden en az ikisinin ( İnf A+SW A, İnf A+SW H1 ya da SWA+SWH1) pozitif olduğu durumlarda sonuç pozitif olarak değerlendirilmektedir.

15 Mayıs 2009 tarihinde ise laboratuvarımız Türkiye'nin ilk "swine influenza" vakasının (indeks vaka) tanısını koymuştur (11). Laboratuvarımız pandemik A(H1N1)2009 tanısı için CDC rRT-PCR yöntemini kullanmaya devam etmektedir. İnfuenza virüsleri biyolojik yapıları gereği devamlı mutasyon geçirdiklerinden dolayı virüslerin yapısı devamlı olarak incelenmekte ve rRT-PCR metodu buna göre CDC tarafından güncellenerek referans laboratuvarlarına iletilmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Baden LR, Drazen JM, Kritek PA, Curfman GD, Morrissey S, Champion EW. H1N1 Influenza A Disease- Information for Health Professionals. *N Engl J Med* 2009; 360: 2666-2667
2. Boggild AK, McGeer J. Laboratory Diagnosis of 2009 H1N1 influenza A virus. *Crit Care Med* 2010; 38: S1-S5
3. Carr MJ, Gunson R, Maclean A, Coughlan S, Fitzgerald, Scully M, O'Herlihy B, Ryan J, O'Flanagan D, Connell J, Carman WF, Hall WW. Development of a real time RT-PCR for the detection of Swine-lineage Influenza A(H1N1) virus infections. *J. Clin Virol* 2009; 45: 196-199
4. CDC. Evaluation of rapid influenza diagnostic tests for detection of novel influenza A (H1N1) virus. United States, 2009. *MMWR* 2009; 58: 826-829
5. CDC. Performance of rapid influenza diagnostic tests during two school outbreaks of 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus infection-Connecticut, 2009. *MMWR* 2009; 58: 1029-1032
6. CDC. Swine Influenza A (H1N1) Infection in Two Children-Southern California, March-April 2009. *MMWR* 2009; 58: 400-402
7. CDC. Outbreak of Swine-Origin Influenza A(H1N1) Virus Infection-Mexico, March-April 2009. *MMWR* 2009; 58: 467-470
8. CDC. Interim guidance of specimen collection, Processing and Testing for Patients with Suspected Novel Influenza A (H1N1) Virus Infection. <http://www.cdc.gov/h1n1flu/specimencollection.htm>. (Erişim, 17 Mart 2010) CDC. CDC Protocol of Real-time RT-PCR for Influenza A (H1N1)
9. <http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/realtimeptpcr/en/index.html>. (Erişim, 17 Mart, 2010)
10. Chan KH, Lai ST, Poon LLM, Guan Y, Yuen KY, Peiris JSM. Analytical sensitivity of rapid

- influenza antigen detection tests for swine-origin influenza virus (H1N1). *J Clin Virol* 2009; 45: 205-207
10. Ciblak MA, Albayrak N, Odabaş Y, Altas AB, Kanturvardar M, Hasoksuz M, Sucaklı B, Korukluoglu G, Bal E, Ertek M, Badur S. Cases of influenza A(H1N1)v reported in Turkey, May-July 2009. *Euro Surveill* 2009; 14 (32): pii: 19304. [Erratum in: *Euro Surveill* 2009;14(33). pii: 19313]
  11. Drexler JF, Hemler A, Kirberg H, Reber U, Panning MM, Hofling K, Matz B, Drosken C, Eis-Hubinger AM. Poor clinical sensitivity of rapid antigen test for influenza A pandemic (H1N1) 2009 virus. *Emerg Infect Dis* 2009;15: 1662-1664
  12. Ellis J, Iturriza M, Allen R, Bermingham A, Brown K, Gray J, Brown D. Evaluation of Four Real-Time PCR Assays For Detection of Influenza A(H1N1)v Viruses. *Euro Surveill* 2009; 14 (22). pii: 19230
  13. Ginocchio CC, Zhang F, Manji R, Arora S, Bornfreund M, Falk L, Lotlikar M, Kowerska M, Becker G, Korologos D, de Geronimo M, Crawford JM. Evaluation of multiple test methods for the detection of the novel 2009 influenza A (H1N1) during the New York City outbreak. *J Clin Virol* 2009; 45: 191-195
  14. Hurt AC, Baas C, Deng Y-M, Roberts S, Kelso A, Barr IG. Performance of influenza rapid point-of-care tests in the detection of swine lineage A(H1N1) influenza viruses. *Influenza Other Resp Viruses* 2009; 3: 171- 174
  15. Kanturvardar M, Ciblak MA, Asar S, Bozkaya E, Yenen OŞ, Badur S. Pandemi A/H1N1 Enfeksiyonlarını Tanısında Hızlı test Sorunu. *Klinik Derg* 2010; 22: 79-81
  16. Ling LM, Chow AL, Lye DC, Tan AS, Krishnan P, Cui L, Win NN, Chan M, Lim PL, Lee CC, Leo YS. Effects of early oseltamivir therapy on viral shedding in 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus infection. *Clin Infect Dis* 2010; 50: 963-969.
  17. Mahony J, Hachette T, Orjik D, Drews SJ, Smieja M. Multiplex PCR tests sentinel the appearance of pandemic influenza viruses including H1N1 swine influenza. *J Clin Virol* 2009; 45: 200-202
  18. Monne I, Ormelli S, Salviato A, Battisti CD, Bettini F, Salomoni A, Drago A, Zecchin B, Capua, I, Cattoli G. Development and Validation of a One-Step Real-Time RCR Assay for Simultaneous Detection of Subtype H5, H7 and H9 Avian Influenza Viruses. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 1769-1773
  19. NCBI, GenBank April 2009 [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/FJ966082.1?ordinalpos=13&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Sequence.Sequence\\_ResultsPanel.Sequence\\_RVDocSum](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/FJ966082.1?ordinalpos=13&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Sequence.Sequence_ResultsPanel.Sequence_RVDocSum)
  20. Singh K, Vasoo S, Stevens J, Schreckenberger P, Trenholme G. Pitfalls in the diagnosis of Pandemic (Novel) A/H1N1 2009 Influenza. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 1501-1503
  21. Whiley MD, Bialasiewicz, Bletchly C, Faux CE, Harrower B, Gould A, Stephen L, Nimmo GR, Nissen MD, Sloots TP. *J Clin Virol* 2009; 45: 203-204
  22. WHO. World now at the start of 2009 influenza pandemic. [http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2009/h1n1\\_pandemic\\_phase6\\_20090611/en/index.html](http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2009/h1n1_pandemic_phase6_20090611/en/index.html) (Erişim: 29 Mart 2010)
- WHO. WHO information for laboratory diagnosis of pandemic (H1N1) 2009 virus in humans-revised. [http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/WHO\\_Diagnostic\\_RecommendationsH1N1\\_20090521.pdf](http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/WHO_Diagnostic_RecommendationsH1N1_20090521.pdf) (Erişim: 17 Mart 2010)