

DOI: 10.4274/tpa.493



Alt solunum yolu enfeksiyonu olan çocuklarda solunum yolu viral etkenlerinin sıklığı

Frequency of respiratory viruses in children with lower respiratory tract infection

Sinem Akçalı, Nisel Yılmaz*, Özlem Güler**, Tamer Şanlıdağ, Murat Anıl**

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, Manisa, Türkiye

*Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, İzmir, Türkiye

**Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, İzmir, Türkiye

Özet

Amaç: Alt solunum yolu enfeksiyonları çocuklarda sık görülür ve özellikle erken çocukluk çağında ölüm oranı yüksektir. Bu çalışmada bölgemizde alt solunum yolu enfeksiyonları belirtileri bulunan çocuklarda solunum yolu viral etkenlerinin sıklığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışma grubu Ekim 2009-Mart 2010 tarihleri arasında, alt solunum yolu enfeksiyonları belirtileri ile hastaneye başvuran 160 çocuktan (ort. 14,6 ay) oluşturulmuştur. Bu çocuklardan alınan boğaz sürüntü örneklerinde respiratuar sinsityal virüs (A+B), influenza virüs (A+B), parainfluenza virüs (1, 2, 3, 4), insan metapnömovirüs, rinovirüs ve koronavirüs (OC43+229E) varlığı real-time PCR yöntemiyle [The RealAccurate™ Respiratory RT PCR Kit (PathoFinder BV, Hollanda)] araştırılmıştır.

Bulgular: Örneklerin 67'sinde (%41,8) alt solunum yolu enfeksiyonları belirtilerine neden olabilecek bir viral etken saptanmıştır. Respiratuar sinsityal virüs %61,2'lik oranla (41/67) en sık saptanan virüs olmuştur. Bunu %35,8 (24/67) ile rinovirüsler izlemektedir. Dört örnekte (%5) koronavirüs, iki örnekte (%2,9) "insan metapnömovirüs", bir örnekte de (%1,4) parainfluenza virüs diğer viral etkenler olarak belirlenmiştir. Birlikte enfeksiyon sıklıkları değerlendirildiğinde, dört örnekte respiratuar sinsityal virüs-rinovirüs birlikteliği, bir örnekte respiratuar sinsityal virüs-koronavirüs birlikteliği, bir örnekte rinovirüs-koronavirüs birlikteliği, bir örnekte de respiratuar sinsityal virüs-rinovirüs-koronavirüs birlikteliği saptanmıştır.

Çıkarımlar: Çalışma grubunun %41,8'inde klinik belirtilerden sorumlu olabilecek bir viral etken saptanmıştır. Bu nedenle viral solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan virüslerin hızlı ve duyarlı tanısı gereksiz antibiyotik kullanımının engellenebilmesi ve bu virüslerin neden olabilecekleri hastane enfeksiyonlarının önlenmesi açısından klinisyene yol gösterici olacaktır. (*Türk Ped Arş 2013; 48: 215-20*)

Anahtar sözcükler: Çocuk, solunum yolu enfeksiyonları, real-time PCR, virüsler

Summary

Aim: Lower respiratory tract infections (LRTI) have high morbidity rates in children. In this study, it was aimed to investigate the prevalence of respiratory viruses in children with LRTI symptoms.

Material and Method: A total of 160 children who were diagnosed with LRTI between October 2009 and March 2010 were included into the study. The presence of respiratory syncytial virus (RSV) (A+B), influenza virus (A+B), parainfluenza virus (PIV) (1, 2, 3, 4), human metapneumovirus, rhinovirus and coronavirus (OC43+229E) in throat swab samples were investigated by real-time PCR The RealAccurate™ Respiratory RT PCR Kit (PathoFinder B.V., Netherlands).

Results: In 67 samples (41.8%), at least one virus which could cause acute respiratory tract infection was found. Overall, RSV was the most frequently identified virus (52.2%), followed by rhinovirus (26.8%), coronavirus (5%), metapneumovirus (2.9%) and PIV 1 (1.4%). As the other viral agents, coronavirus was detected in 4 samples (5%), hMPV was detected in 2 samples (2.9%) and PIV was detected in 1 sample (1.4%). When the frequency of coinfections was evaluated, RSV- rhinovirus association was found in 4 samples, RSV-coronavirus association was found in 1 sample, rhinovirus-coronavirus association was found in 1 sample and RSV-rhinovirus-Coronavirus association was found in 1 sample.

Conclusions: In 41.8% of the study group, a viral factor responsible for the clinical signs was detected. For that reason, rapid and sensitive diagnosis of viruses which lead to respiratory infections will guide the clinician for avoidance of redundant antibiotic therapy and preventing viral hospital infections. (*Türk Arch Ped 2013; 48: 215-20*)

Key words: Children, respiratory tract infections, real-time PCR, viruses

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Sinem Akçalı, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, Manisa, Türkiye

E-posta: sinemakcali@yahoo.com **Geliş Tarihi/Received:** 04.02.2013 **Kabul Tarihi/Accepted:** 22.07.2013

Türk Pediatri Arşivi Dergisi, Galenos Yayınevi tarafından basılmıştır. / Turkish Archives of Pediatrics, published by Galenos Publishing

Giriş

Alt solunum yolu enfeksiyonları (ASYE) çocukluk çağında önemli bir hastalık ve ölüm nedenidir. Alt solunum yolu enfeksiyonlarının %80-90'ında başlıca rinovirüsler, respiratuar sinsityal virüs (RSV), influenza A ve B, parainfluenza virüsleri (PIV tip 1, 2, 3) ve adenovirüsler olmak üzere virüsler etkindir (1). Son yıllarda bu listeye önce enterovirüs, PIV tip 4, mimivirüs, daha sonra sırasıyla 2001 yılında "insan metapnömovirüs" (hMPV), 2003 yılında koronavirüsler (SARS'dan sorumlu CoV, HCoV NL63 ve HKU1), 2005' de "human Bocavirus" (HBoV), parvovirüs tip 4 ve 5, nihayet 2007'de de human polyomavirüs KI (KIV) ve WU (WUV) gibi yeni etkenlerin eklendiği görülmektedir (2).

Solunum sistemi enfeksiyonuna yol açan virüslerin çeşitliliği ve virüsün saptanmasının güç olması, bu tür enfeksiyonlarda viral etiyolojik tanının düzenli olarak uygulanmasını uzunca süre gereksiz kılmıştır ve bu incelemeler önceleri daha çok epidemiyolojik amaçlarla yapılmıştır. Ancak giderek artan sayıda antiviral ilacın solunum sistemi enfeksiyonlarında yaygın olarak kullanıma girmesi, bu virüslerin önemli hastane enfeksiyonu etkenleri arasında olduğunun anlaşılması, viral tanının erken konmasının gereksiz antibiyotik kullanımını önleyeceğinin bilinci, diğer virüs hastalıklarında olduğu gibi solunum yolu enfeksiyonu etkeni virüslerin zamanında tanısının konması gereksinimini doğurmuştur (3).

"Reverse transkriptase-polymerase chain reaction" (RT-PCR) solunum yolu virüslerini saptamada hızlı, duyarlı ve özgül bir yöntem olarak moleküler yöntemler arasında ilk sırayı almıştır (4). Son yıllarda PCR reaksiyonlarında sıcaklık döngüleri sağlamak için kullanılan cihazların (thermocycler) hassas ölçüm aletleriyle birleştirilmesiyle real-time PCR olarak adlandırılan yeni bir yöntem geliştirilmiş ve yaygın kullanım alanı bulmuştur.

Ülkemizde çocukluk yaş grubu ASYE'lerinde solunum sistemi virüslerinin görülme sıklığı ile ilgili çok sayıda virüsün araştırıldığı epidemiyolojik çalışmalar yok denecek kadar azdır. Bu nedenle bu çalışmada bölgemizde ASYE belirtileri bulunan çocuklarda solunum yolu viral etkenlerinin sıklığının hızlı ve duyarlı bir yöntem olan real-time RCR yöntemiyle belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Hasta topluluğu ve klinik örnekler

Çalışmaya Ekim 2009-Mart 2010 tarihleri arasında, alt solunum yolu enfeksiyonu belirtileri ile Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Acil Servisi ve Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Polikliniği'ne ayaktan başvuran 0-10 yaş arasındaki (ortalama: 14,6 ay) 160 çocuk (60 kız, 100 erkek) alındı. Alt solunum yolu enfeksiyonları tanısı ince raller, ronküsler, solunum sıkıntısı ve ateş

gibi klinik bulgular ve radyolojik olarak akciğer grafisinde infiltrasyon bulguları ile konuldu. Bu hastalardan dakron eküvyonla alınan boğaz sürüntü örnekleri viral taşıma besiyerleri (Universal transport mediyum (UTM) kit, Copan Diagnostics, Brescia, İtalya) içinde soğuk zincir kurallarına uyularak birkaç saat içinde laboratuvara ulaştırıldı ve laboratuvar testleri uygulanıncaya kadar -80°C'de saklandı. Çalışmada viral etkenlerin sıklığının araştırılması amaçlandığı için bakteriyolojik incelemeler için kültür yapılmadı. Örnekler RT-PCR testi Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Moleküler Mikrobiyoloji laboratuvarında uygulandı. İleriye dönük çalışmamız Celal Bayar Üniversitesi Tıbbi Etik Kurulu tarafından incelenerek onaylandı (No: 2009-0031) ve hastaların yasal temsilcilerinin bilgilendirilmiş onayları alındı. Çalışmaya katılan hastaların demografik verileri, klinik bulguları, muayene bulguları, radyolojik bulgular ve laboratuvar verileri hazırlanan formlara kaydedildi.

Real-time reverse transkriptase polimerase chain reaction testi (rRT-PCR)

Klinik örneklerden RNA ekstraksiyonu yapıldıktan sonra, solunum virüslerinin RNA'larını saptamak amacıyla ticari bir rRT-PCR yöntemi [The RealAccurate™ Respiratory RT PCR Kit (PathoFinder B.V., Hollanda)] kullanıldı ve amplikonların saptanmasında ABI 7500 sistemi (Applied Biosystems, Foster City, USA) ile floresan ışımlar ölçüldü. Pozitif kontrol olarak kit içeriğinde bulunan virüslere özgü hedef RNA'lar, negatif kontrol olarak "RNase free" su kullanıldı.

The RealAccurate RT PCR Kit (PathoFinder, B.V., Hollanda), solunum yolları hastalıklarının yaklaşık %90'ından sorumlu olan 12 RNA virüsünü [RSV (A+B), influenza virüs (A+B), parainfluenza virüs (PIV) (1, 2, 3, 4), hMPV, rinovirüs ve koronavirüs (OC43+229E)] real time RCR yöntemi ile saptamaktadır. Kit bu virüslerden her birini saptayabilen birinciller ve TaqMan problemleri içeren kullanıma hazır bir settir. Viral nükleik asit RNA olduğundan, real time RCR cDNA oluşturmak için bir reverz transkripsiyon aşaması içerir. Sonrasında cDNA, virüse özgül birincil/prob uyumu kullanılarak real-time RCR ile çoğaltılır. Polimeraz zincir reaksiyonu sırasında floresan ışımının ölçülmesi ile amplikonlar saptanır.

Bulgular

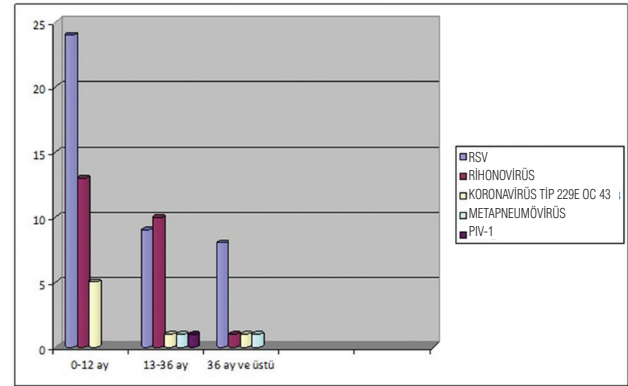
Klinik örneklerde saptanan solunum virüsleri pozitiflik oranları

Örneklerin 67'sinde (%41,8) ASYE belirtilerine neden olabilecek en az bir viral etken saptandı. Respiratuar sinsityal virüs %61,2'lik oranla en sık saptanan virüs oldu. Bunu %35,8 ile rinovirüsler izlemekteydi. Dört örnekte koronavirüs, iki örnekte hMPV, bir örnekte de PIV bir diğer viral etkenler olarak belirlendi. Yaşlara göre saptanan virüslerin dağılımı Şekil 1'de gösterilmektedir.

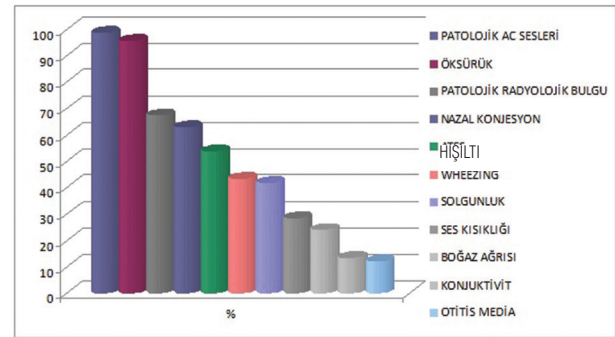
Dört örnekte RSV-rinovirüs birlikteliği, bir örnekte RSV-

Tablo 1. Ülkemizde bulgu veren çocuklarda alt solunum yolu viral etkenlerinin araştırıldığı çalışmalar ve saptanan etkenlerin dağılımı										
	Rinovirüs (%)	RSV (%)	hMPV (%)	influenza A (%)	Adenovirüs (%)	Bokavirüs (%)	Koronavirüs (%)	PIV (%)	Enterovirüs (%)	
Sancaklı ve ark.	26,4	10,3	6,9	3,4	2,3	2,3	2,3	3,4	1,1	
Yüksel ve ark.		31,5		23,6	31,5			26,3		
Tanır ve ark.		44,7								
Yılmaz ve ark.		35								
Yılmaz ve ark.		39								
Kanra ve ark.		29,5								

RSV : respiratuar sinsiyal virüs, Hmpv: human metapneumovirüs, PIV: parainfluenza virüs



Grafik 1. Pozitif bulunan örneklerde yaşlara göre virüslerin dağılımı



Grafik 2. En az bir viral etken saptanan hastaların klinik ve fizik muayene bulguları

koronavirüs birlikteliği, bir örnekte rinovirüs-koronavirüs birlikteliği, bir örnekte de RSV-rinovirüs-koronavirüs birlikteliği saptandı.

Alt solunum yolu enfeksiyonu olan ve en az bir viral etken saptanan hastaların aylara göre dağılımı

Ekim 2009-Mart 2010 sürecinde çalışma kapsamına alınan hastaların yedisi Aralık, 37'si Ocak, 54'ü Şubat, 62'si de Mart ayında polikliniğe başvurmuştu.

Etkenlere göre pozitiflik saptanan aylar incelendiğinde RSV en sık Mart, ardından Ocak ayında, rinovirüs en sık Ocak ve Mart aylarında saptandı. Yine koronavirüs Şubat, hMPV ise Şubat ve Mart aylarında başvuran hastalarda saptandı.

Toplamda örneklerde pozitiflik saptanma oranlarının da yine Mart ayında en yüksek düzeylerde (%34,6) olduğu görüldü.

En az bir viral etken saptanan hastaların klinik ve fizik muayene bulguları

En az bir viral etkenin pozitif olarak saptandığı hastaların fizik muayene bulgularında öksürük 64 hastada %95,5 oranla en sık rastlanan bulgu olarak belirlenmiş

olup, hastaların ortalama 5,8 gündür devam eden öksürük yakınması bulunmaktaydı. Bunu 42 (%62,7) hastada burun konjesyonu, 36 hastada ateş (%53,7) izlemekteydi. Hastaların ortalama 4,1 gündür devam eden ateşi vardı. Yirmi dokuz hastada (%43,3) hışıltı saptandı (Şekil 2).

Atmış yedi pozitif hastanın 66'sında (%98,5) patolojik akciğer dinleme bulguları saptandı. Hastaların 58'inin akciğer grafisi değerlendirildi ve 39 (%67,2) hastada akciğer hastalığına ait radyolojik bulgular saptandı. Hastaların ortalama solunum sayısı 43,8/dak, PO2 değeri ölçülen 52 hastanın ortalama PO2'si 99,3 olarak belirlendi.

Tartışma

Alt solunum yolu enfeksiyonu gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde özellikle beş yaşın altındaki çocuklarda her yıl en az 4 milyon çocuğun ölümünden sorumlu tutulmaktadır. Bu rakam çocukluk çağı ölüm oranının yaklaşık %30'unu oluşturmaktadır (5,6). Alt solunum yolu enfeksiyonu ilişkili ölüm oranında viral etkenlere oranla, bakteriler ya da karma enfeksiyonlar daha yüksek oranlarda rol oynamaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde viral pnömonilere bağlı olgu-ölüm oranı %1-7,3 iken, bakteriyel pnömonilerde bu oran %10-14, karma enfeksiyonlarda ise %16-18 olarak bildirilmektedir (7).

Alt solunum yolu enfeksiyonunun %80-90'ında virüsler etkindir (1). Solunum sisteminde enfeksiyonlara neden olan virüslerin çeşitliliği ve bu virüslere karşı yapılabilecek medikal tedavinin genel kabulden uzak olması nedeniyle paramiksovirüsler, ortomiksovirüsler, adenovirüsler, koronavirüsler veya pikornavirüsler gibi çeşitli virüs ailelerinin neden olduğu solunum sistemi enfeksiyonlarında, nükleik asit çoğaltılmasına yönelik tanı yöntemlerinin kullanımını diğer viral enfeksiyonlara göre geri kalmıştır (8).

Günümüzde bu solunum yolu patojenlerini saptamaya yönelik en sık kullanılan "konvansiyonel" testler, virüsün hücre kültüründe elde edilmesine (viral kültür) ve/veya immün floresan (IF) yöntemiyle viral antijen saptanmasını içermektedir. Viral kültür bu patojenleri saptamada altın kural olarak kabul edilmektedir, ancak bu yöntem genellikle zaman alıcı olup, sonuçları 14 günden önce alınamamaktadır. İmmün floresan ile viral antijen saptanması hızlı sonuç verir, ancak sıklıkla bazı virüsleri saptamadaki duyarlılığı kısıtlıdır ve viral kültür gibi ileri incelemelerle sonuçların doğrulanmasını gerektirir. Her iki tekniğin birleştirilerek kullanılması pozitif sonuç yüzdesinde bir artışa neden olmakla birlikte, klinik ve epidemiyolojik olarak viral enfeksiyon şüphesi olmasına rağmen belirgin sayıda örnek her iki yöntemle çalışıldığında bile negatif olarak saptanabilmektedir.

Tüm bu kısıtlılıklar, iliyi yeni nükleik asit temelli yöntemlerin geliştirilmesi üzerine yoğunlaştırmıştır. "Real-time reverse transkriptase polimerase chain reaction" testi solunum yolu virüslerini saptamada hızlı, duyarlı ve özgül bir

yöntem olup yaygın kullanım alanı bulmuştur (4). Bu yöntem IF ve kültüre oranla %30-40 daha fazla viral enfeksiyonu saptamakla birlikte, klasik solunum virüslerinin yanı sıra IF ve kültürle saptanamayan hBoV, koronavirüs gibi daha yeni patojenlerin de tanısına olanak sağlamıştır (9). Yapılan çalışmalarda RT-PCR' in duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla RSV için %94,4-%100, rinovirüs için %100-%91,3, influenza virüs için %98-%98, PIV için %100-%95 hMPV için %96-%98,8 olarak bildirilmektedir (10).

Son yıllarda PCR reaksiyonlarında sıcaklık döngüleri sağlamak için kullanılan cihazların (thermocyclers) hassas ölçüm aletleriyle birleştirilmesiyle, real-time RCR olarak adlandırılan yeni bir yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntem PCR sonrası işlemleri ortadan kaldırmaktadır. Bu da daha duyarlı sonuçların elde edilmesine olanak sağlarken, aynı zamanda bulaş riskini azaltır ve potansiyel hata kaynağı olan PCR sonrası işlemleri dışlar. Diğer yandan real-time PCR "konvansiyonel" PCR ile karşılaştırıldığında, 108-101 gibi çok daha geniş bir dinamik aralığı saptamaktadır.

Araştırmamız çocukluk yaş grubunda önemli bir hastalık ve ölüm oranına sahip olan solunum virüslerinin moleküler yöntemler kullanılarak bulgusu olan çocuklarda araştırıldığı bölgemizdeki ilk çalışmadır. İncelenen 160 örneğin 67'si (%41,8) en az bir etken açısından pozitif bulunmuştur. Respiratuar sinsiyal virüs % 61,2'lik oranla en sık saptanan virüs olup, bunu %35,8 ile rinovirüsler izlemektedir. Dört örnekte koronavirüs, iki örnekte hMPV, bir örnekte de PIV bir diğer viral etkenler olarak belirlenmiştir. Ülkemizde konu ile ilgili yapılan çalışmalara baktığımızda çocukluk yaş grubunda özellikle moleküler yöntemlerin kullanıldığı ve bu kadar geniş bir viral durumun araştırıldığı çalışmaların sadece tez çalışmaları olduğu, basılı literatürde konu ile ilgili çalışma olmadığı dikkat çekmektedir. Sancaklı ve ark. (11) 2012 yılında bronşiyolit, bronkopnömoni ve pnömoni tanılarıyla izlenmiş 87 olgu ile yaptıkları araştırmalarında, olguların 59'unda (%67,8) PCR ile virüs saptanmıştır. Bunların %26,4'ünde rinovirüs, %10,3'ünde RSV A-B, %6,9'unda hMPV, %3,4'ünde influenza A, %2,3'ünde adenovirüs, %2,3'ünde hBoV, %2,3'ünde koronavirüs, %3,4'ünde PIV1-3, %1,1'inde enterovirüs, %4,6'sında rinovirüs+ RSV A-B, %2,3'ünde adenovirüs+RSV A-B, %1,1'inde koronavirüs+hBoV ve %1,1'inde rinovirüs+PIV 1-3 saptanmıştır (Tablo).

Ülkemizde solunum yolu enfeksiyon etkeni olarak virüslerin araştırıldığı çalışmaların çoğunluğunda moleküler yöntemlerden çok IF testler ya da hücre kültürünün kullanıldığı dikkati çekmektedir. Yüksel ve ark. (12) Manisa'da yaptıkları bir araştırmada 2002-2004 yılları arasında ASYE tanısı almış 151 çocuğa ait nazofarengeal sıvı örneklerinde solunum yolu viral patojenleri direkt IF yöntemi ile araştırılmıştır. Örneklerin %25,2'sinde solunum yolu virüsleri açısından pozitif olarak saptanmıştır. Çalışmada RSV ve adenovirüs %31,5'lük oranla en sık

rastlanan virüsler olarak bildirilmekte, bunu %26,3 ile parainfluenza, %23,6 ile influenza virüsleri izlemektedir.

Respiratuar sinsityal virüs özellikle küçük çocuklarda alt solunum yolu hastalıklarının büyük nedenidir ve süt çocukluğu döneminde RSV enfeksiyonu geçiren çocukların daha sonra hışıltı atakları ve astım geçirdikleri gösterilmiştir (13-15). Bizim çalışmamızda bulduğumuz %61,2'lik oran da bu bilgiyi desteklemektedir. Tanır ve ark. (16) alt solunum yolu enfeksiyon belirtileri olan çocuklarda RSV sıklığını %44,7 olarak bildirmişlerdir. Yılmaz ve ark. (17), İstanbul'da yaptığı iki dönemde yürütülen çalışmada ise akut bronşiyolitli bebeklerden alınan nazofarengeal salgılarda RSV %35 ve %39 oranında saptanmıştır. Kanra ve ark. (18), 2000-2002 yılları arası Ankara'da yaptıkları çok merkezli diğer bir çalışmada da, 24 ay altında ve alt solunum yolu enfeksiyonu bulgularıyla yatırılan riskli bebeklerde RSV %29,5 olarak saptanmıştır. Bu çalışmalarla kıyasladığımızda bizim oranımızdaki belirgin yüksekliğin kullanılan yöntemin duyarlılığından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Ülkemizde daha düşük oranların bildirildiği çalışmalar geleneksel yöntemlerle yapılan çalışmalardır. Geleneksel yöntemler olarak isimlendirilen hücre kültürü, antijen ve antikor aramaya yönelik testlerin özellikle yüksek duyarlılık ve hız gibi konularda yetersizlikleri, moleküler yöntemlerin virolojik tanıda ön plana çıkmalarına neden olmuştur.

Moleküler yöntemlerin solunum virüslerinin tanısında kullanımı ile ilgili yurt dışında oldukça fazla çalışma bulunmaktadır. Wang ve ark. (19) Çin'de yaptıkları bir araştırmada ASYE bulunan dokuz yaş altı çocuktan aldıkları 489 nazofarengeal örnekte mütipleks PCR yöntemiyle %59,5 oranında oranında viral pozitiflik saptamışlardır. Respiratuar sinsityal virüs %19,4 ile en fazla saptanan patojen olarak bildirilmektedir. Do ve ark. (20) ise Hollanda'da 309 çocuktan alınan örneğin %72'sini mütipleks PCR yöntemiyle pozitif bulmuşlar, RSV'yi 73 örnekte (%24) en sık etken olarak saptamışlardır. Yine Brezilya'da beş yaş altı 407 çocukta aynı yöntemle yapılan bir diğer çalışmada örneklerin %85,5'inde viral patojen saptanmış olup, RSV hastaların %37'sinde en sık saptanan virüs olmuştur (21).

Solunum virüslerinin moleküler tanısında başlangıçta en çok kullanılan örnekler nazofarengeal salgı örnekleriydi. Ancak nazofarengeal sıvı, örnek toplama sırasında yarattığı rahatsızlık hissinden dolayı özellikle çocuk hastalarda uygulama zorluğu yaşanan bir yöntem olarak bilinmektedir. Günümüzde değişik örnek alma yöntemlerinin karşılaştırıldığı çalışmalarda özellikle burun ve boğaz sürüntüsü gibi girişimsel olmayan yollarla elde edilen maddelerin de solunum virüslerinin tanısında başarıyla kullanılabileceği belirtilmektedir (22). Bu nedenle biz de çalışmamızda girişimsel olmayan, kolay elde edilebilirliği, örnek alınırken hasta uyumunun iyi olması gibi kolaylıkları göz önüne alarak çocuk hasta grubumuzdan boğaz sürüntü örneklerini toplamayı tercih ettik.

Alt solunum yolu enfeksiyonuna yol açan virüslerin görülme sıklıkları bebeklerde ve erişkinlerde mevsimlere göre de değişiklik göstermektedir. Özellikle RSV mevsimsel özellik taşır. Her yıl belirli dönemde salgın oluşturmakla belirgin tek virüsdür. Ilıman iklimlerde kış mevsiminde, tropikal iklimlerde yağmurlu dönemlerde enfeksiyonlarına sık rastlanmaktadır (23). Bizim çalışmamızda da Mart ayında en sık olmak üzere Ocak-Mart ayları viral enfeksiyonların en sık görüldüğü aylar olarak belirlenmiştir.

Moleküler yöntemlerin özellikle mütipleks PCR'nin solunum virüslerinin tanısında kullanılmaya başlanmasıyla aynı hastada birden fazla etkenin saptandığı çalışmalar literatürde çoğalmaya başlamıştır. Bizim araştırmamızda da yedi örnekte (%10,4) çoklu etken saptanmıştır. Bunlar dört örnekte RSV-rinovirüs, bir örnekte RSV-koronavirüs, bir örnekte rinovirüs-koronavirüs, bir örnekte de RSV-rinovirüs-koronavirüs birlikteliği şeklindedir. Respiratuar sinsityal virüs yine başta rinovirüslerle olmak üzere en fazla birlikte enfeksiyon yapan virüs olarak belirlenmiştir. Frobert ve ark. (24) yoğun bakımda yatan çocuklarda yaptıkları araştırmalarında çoklu enfeksiyon oranları %35 olarak bildirilmekte ve RSV %24,3'lük oranla karma enfeksiyonlarda en sık saptanan virüs olarak belirtilmektedir. Yine Wang ve ark. bizim çalışma grubumuzla benzer ASYE olan çocukların %13,8'inde çoklu enfeksiyon saptamışlar, bu grupta da HBoV, RSV, rinovirüs ve adenovirüsü sırasıyla en fazla belirlemişlerdir (19).

Sonuç olarak solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan virüslerin hızlı ve duyarlı tanısı gereksiz antibiyotik kullanımının engellenebilmesi ve bu virüslerin neden olabilecekleri hastane enfeksiyonlarının önlenmesi açısından günümüzde gerekli hale gelmiştir. Bununla birlikte üzerinde yoğun çalışmalar yapılan aşı geliştirme yöntemlerinde dünyadan ve ülkemizden bildirilen bölgesel veriler de yol gösterici olacaktır.

Teşekkür

Bu çalışma Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2008-133 proje numarası ile desteklenmiştir.

Çıkar çatışması: Bildirilmemiştir.

Kaynaklar

1. Akşit S. Acute respiratory tract infections-1. STED 2002; 11: 132-5.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention and Control of influenza: recommendations of the Immunization Practices Advisory Committee (ACIP). MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1995; 44: 1-22.
3. Yolken HY. Laboratory diagnosis of viral infections. In: Galasso GJ, Whitley RJ, Merigan TC, (eds). Practical diagnosis of viral infections. New York, 1993: 17-25.

4. Liolios L, Jenney A, Spelman D, Kotsimbos T, Catton M, Wesselingh S. Comparison of a multiplex reverse transcription-PCR-enzyme hybridization assay with conventional viral culture and immunofluorescence techniques for the detection of seven viral respiratory pathogens. *J Clin Microbiol* 2001; 39(8): 2779-83.
5. Berman S. Epidemiology of acute respiratory infections in children of developing countries. *Rev Infect Dis* 1991; 13(Suppl 6): 454-62.
6. Suwanjutha S, Chantarojanasiri T, Watthana-kasetr S, et al. A study of nonbacterial agents of acute lower respiratory tract infection in Thai children. *Rev Infect Dis* 1990; 12(Suppl 8): 923-8.
7. Simoes EAF, Cherian T, Chow J, Shahid-Salles SA, Laxminarayan R, John TJ. Acute respiratory infections in children. In: Jamison DT, Breman JG, Measham AR, (eds). *Disease control priorities in developing countries*. 2nd ed. Washington (DC): World Bank, 2006. Chapter 25.
8. Ieven M, Goossens H. Relevance of nucleic acid amplification techniques for diagnosis of respiratory tract infections in the clinical laboratory. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10(2): 242-56.
9. Mahony JB, Blackhouse G, Babwah J, et al. Cost analysis of multiplex PCR testing for diagnosing respiratory virus infections. *J Clin Microbiol* 2009; 47(9): 2812-7.
10. Mahony JB. Detection of respiratory viruses by molecular methods. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21: 716-47.
11. Sancaklı Ö, Yenigün A, Kırdar S. Alt solunum yolu enfeksiyonunda nazofaringeal örneklerde polimeraz zincir reaksiyonu sonuçları. *J Pediatr Inf* 2012; 6: 84-9.
12. Yüksel H, Yılmaz O, Akçalı S, et al. Common viral etiologies of community acquired lower respiratory tract infections in young children and their relationship with long term complications. *Mikrobiyol Bul* 2008; 42(3): 429-35.
13. Brief report: Respiratory syncytial virus activity-United States, 2004-2005. *MMWR* 2005; 54: 1259-60.
14. Sözeri B, Gülen F, Demir E, Tanaç R, Altınöz S, Zeyrek CD. Parainfluenza virus in frequently recurrent wheezing. *Türkiye Klinikleri J Pediatr* 2009; 18: 181-5.
15. Karaman Ö, Tatlı Güneş B, Erbayraktar Z, et al. Recurrence of wheezing episodes in children with respiratory syncytial virus and non-respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2011; 31: 1507-13.
16. Tanır G, Doğru Ü, Uzunali Ö, Akar N. Frequency and clinical features of respiratory syncytial virus (RSV) infections in infants with lower respiratory tract infection. *T Klin Pediatr* 2000; 9: 93-7.
17. Yılmaz G, Uzel N, Isık N, Baysal SU, Aslan S, Badur S. Viral lower respiratory tract infections in children in İstanbul, Turkey. *Ped Infect Dis J* 1999; 18: 173.
18. Kanra G, Tezcan S, Yılmaz G, Turkish National Respiratory Syncytial Virus (RSV) Team. Respiratory syncytial virus epidemiology in Turkey. *Turk J Pediatr* 2005; 47: 303-8.
19. Wang W, Cavailler P, Ren P, et al. Molecular monitoring of causative viruses in child acute respiratory infection in endemo-epidemic situations in Shanghai. *J Clin Virol* 2010; 49: 211-8.
20. Do AH, van Doorn HR, Nghiem MN, et al. Viral etiologies of acute respiratory infections among hospitalized Vietnamese children in Ho Chi Minh City, 2004-2008. *PLoS One* 2011;6(3): 18176.
21. Bezerra PG, Britto MC, Correia JB, et al. Viral and atypical bacterial detection in acute respiratory infection in children under five years. *PLoS One* 2011; 6(4): 18928.
22. Loens K, Van Heirstraeten L, Malhotra-Kumar S, Goossens H, Ieven M. Optimal sampling sites and methods for detection of pathogens possibly causing community-acquired lower respiratory tract infections. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 21-31.
23. Özyörük D. Respiratory syncytial virus infections in childhood. *STED* 2003; 12: 94-6.
24. Frobert E, Escuret V, Javouhey E, et al. Respiratory viruses in children admitted to hospital intensive care units: evaluating the CLART® Pneumovir DNA array. *J Med Virol* 2011; 83: 150-5.