



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK
LİSANS
TEZİ**

**ALT VE ÜST SOLUNUM YOLU ENFEKSİYONU VİRAL
ETKENLERİNDEN RHİNOVİRUSUN KLİNİK VE
EPİDEMİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

CANAN DOĞU TOK

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

OCAK 2019



**ALT VE ÜST SOLUNUM YOLU ENFEKSİYONU VİRAL
ETKENLERİNDEN RHİNOVİRUSUN KLİNİK VE EPİDEMİYOLOJİK
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Canan DOĞU TOK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2019

Canan DOĞU TOK tarafından hazırlanan "ALT VE ÜST SOLUNUM YOLU ENFEKSİYONU VİRAL ETKENLERİNDEN RHİNOVİRUSUN KLİNİK VE EPİDEMİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / ~~OY ÇOKLUĞU~~ ile Gazi Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Güldam BOZDAYI

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

Başkan : Prof. Dr. Işıl FİDAN

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

Üye : Prof. Dr. Koray ERGÜNAY

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

Tez Savunma Tarihi: 07/01/2019

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....
Prof. Dr. Mustafa ASLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Canan DOĞU TOK

07/01/2019

ALT VE ÜST SOLUNUM YOLU ENFEKSİYONU VİRAL ETKENLERİNDEN
RHİNOVİRUSUN KLİNİK VE EPİDEMİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN

ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Canan DOĞU TOK

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2019

ÖZET

Bu çalışmada rhinovirusun yaş, mevsim ve altta yatan hastalıklar göz önüne alınarak klinik ile ilişkisinin araştırılması hedeflenmektedir. Çalışmamızda Şubat 2016- Ocak 2017 tarihleri arasında, Gazi Üniversitesi Araştırma Hastanesi Pediatrik Enfeksiyon, Pediatrik Yoğun Bakım ve Yenidoğan Yoğun Bakım ünitelerinden gelen solunum yolu enfeksiyonu bulguları taşıyan 84 olgunun verileri geriye dönük olarak incelendi. Hastaların nazofarengeal sürüntü örnekleri multipleks real-time PCR yöntemiyle Qiagen Fast Track Rotor Gene (21 parametre) ticari kiti kullanılarak çalışılmıştır. Çalışmaya alınan 84 örnekten 49 unda (%58,3) viral etkenler saptanmıştır. Rhinovirus tek bir etken olarak 13 hastada (%15,5), diğer viral etkenlerle beraber 10 hastada (%11,9) saptanmıştır. Çalışmamızda rhinovirus pozitifliği en sık 1-3 yaş arası çocuklarda (%35) saptanmıştır. Mevsimsel farklılıklar gösteren solunum yolu viral etkenlerinin sayısal sonuçları ilkbahar sonunda ve sonbahar mevsimlerinde rhinovirus pozitifliği açısından anlamlı bulunmuştur. Ortaya çıkan sonuçlar rhinovirus pozitif hastalarda anlamlı sayıda pnömoni ve diğer solunum yolu enfeksiyonu tanısı bulunduğunu göstermiştir. Solunum yolu enfeksiyonlarında viral etkenlerinden biri olan rhinovirusun tespit edilmesi, pandemi ve epidemilerin saptanabilmesi ve özellikle çocuk hastalarda ve immün yetmezliği olan kişilerde tedavinin yönetilebilmesi açısından önem taşımaktadır.

Bilim Kodu : 1039

Anahtar Kelimeler : Rhinovirus, Üst ve alt solunum yolu enfeksiyonu, Polimeraz zincir reaksiyonu

Sayfa Adedi : 71

Danışman : Prof. Dr. Güldam BOZDAYI

THE INVESTIGATION OF THE CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL PROPERTIES
OF RHINOVIRUS, A VIRAL CAUSE OF LOWER AND UPPER RESPIRATORY

INFECTIONS

(M. Sc. Thesis)

Canan DOĞU TOK

GAZİ UNIVERSITY

INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

January 2019

ABSTRACT

In this study, we aimed to investigate the relationship between rhinovirus and its clinical presentation regard to age, season and underlying diseases. The data of 84 cases from Gazi University Hospital with respiratory tract infections from inpatients hospitalized between February 2016 and January 2017 in a pediatric infection, pediatric intensive care unit and neonatal intensive care unit were retrospectively analyzed. Nasopharyngeal swab specimens were studied by multiplex real-time PCR method using Qiagen Fast Track Rotor Gene (21 parameters) commercial kit. Viral factors were found in 49 (58.3%) of 84 samples. Rhinovirus was detected as a single agent in 13 patients (15.5%) and in 10 patients (11.9%) with other viral agents. In our study, rhinovirus positivity was most frequently detected in children aged 1-3 (%35) years. The number of airway viral agents with seasonal differences was found to be significant in late spring and autumn for rhinovirus positivity. The results showed that there was a significant number of pneumonia and other respiratory tract infections in rhinovirus-positive patients. The detection of rhinovirus which may cause significant respiratory diseases and the determination of pandemics and epidemics is important for planning the follow-up and managing the treatment in children and immunocompromised patients.

Science Code : 1039

Key Words : Rhinovirus, Upper and Lower Respiratory Tract Infections,
Polymerase
Chain Reaction

Page Number : 71

Advisor : Prof. Dr. Gülendarm BOZDAYI

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince bilimsel katkıları, görüş ve önerileri, deneyimleri ile yol gösterici olan, eğitim süresince desteklerini esirgemeyen bilimsel olarak her çeşit imkanı sağlayan değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Gülendârn BOZDAYI'ya sonsuz şükranlarımı sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana yol gösteren Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilimdalı'nın değerli öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Mikrobiyoloji Laboratuvarın'da birlikte çalıştığım görev arkadaşlarıma yardım ve destekleri için teşekkür ederim.

Eğitimim süresince manevi desteklerini esirgemeyen oğluma, eşime, abime ve aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. Rhinovirusların Sınıflandırılması	4
2.3. Rhinovirusların Yapısı	6
2.4. Rhinovirusların Replikasyonu	9
2.5. Rhinovirusların Bulaşma Yolları	12
2.6. Rhinovirusların Patogenezi	13
2.7. Klinik Bulgular	17
2.8. Rhinovirus İmmunolojisi	20
2.9. Rhinovirusların Epidemiyolojisi	22
2.10. Rhinovirusların Tanısı	25
2.10.1. Elektron mikroskopisi	25
2.10.2. Hücre kültürü	26
2.10.3. Antijen saptama	27
2.10.4. Serolojik yöntemler	27

	Sayfa
2.10.5. Moleküler yöntemler	27
2.11. Tedavi ve Korunma	29
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	33
3.1. Örneklerin Toplanması	33
3.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler	34
3.3. Örneklerden Nükleik Asit Saflaştırılması	34
3.4. Amplifikasyon ve Görüntüleme	35
3.5. Sonuçların Yorumlanması	36
4. BULGULAR	41
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇ	61
KAYNAKLAR	63
ÖZGEÇMİŞ	71

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3. 1. Hasta sayılarının yaş gruplarına göre dağılımı	33
Çizelge 3. 2. Amplifikasyon protokolü	36
Çizelge 3. 3. Solunum yolu örnekleri için PCR döngüsü	36
Çizelge 3. 4. Sonuç yorumlanmasında kullanılan kanallar ve dalga boyları	37
Çizelge 4. 1. Rhinovirus pozitif ve diğer pozitif hastaların dağılımı	41
Çizelge 4. 2. Rhinovirusun geldiği klinikler ile pozitiflik oranı	42
Çizelge 4. 3. Rhinovirus pozitif hastaların diğer viral etkenlerle koenfeksiyonu	43
Çizelge 4. 4. Rhinovirus pozitif hastaların yaşlara ve cinsiyetlere göre dağılımı	45
Çizelge 4. 5. Rhinovirus pozitif çıkan hastaların aylara göre dağılımı	46
Çizelge 4. 6. Rhinovirus pozitif hastaların mevsimlere göre dağılımı	47
Çizelge 4. 7. Rhinovirusun hastalıklara göre dağılımı	49

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2. 1. Filogenetik ağaç	5
Şekil 2. 2. Rhinovirusun genom yapısı	6
Şekil 2. 3. Rhinovirusun virion yapısı	8
Şekil 2. 4. Rhinovirusun reseptörler aracılığı ile hücre içine alınması	9
Şekil 2. 5. Rhinovirus replikasyonu	11
Şekil 2. 6. Rhinovirusun patogenezi ve klinik bulgular	15
Şekil 2. 7. Rhinovirus patogenezi ve İmmunolojisi	21
Şekil 4. 1. Pozitif hastalarda saptanan virüslerin dağılımı.....	42
Şekil 4. 2. Rhinovirus pozitif hastaların diğer viral etkenlerle koenfeksiyonu.....	44
Şekil 4. 3. Rhinovirus pozitif çıkan hastaların yaşlara göre dağılımı	45
Şekil 4. 4. Rhinovirus pozitif çıkan hastaların aylara göre dağılımı.....	47
Şekil 4. 5. Rhinovirus pozitif hastaların mevsimlere göre dağılımı	48
Şekil 4. 6. Rhinovirusun hastalıklara göre dağılımı.....	50

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3. 1. İnternal kontrol eğrisi	38
Resim 3. 2. Pozitif kontrol Negatif kontrol eğrisi.....	39
Resim 4. 1. Negatif kontrol- pozitif kontrol ve hasta eğrisi	50
Resim 4. 2. Rhinovirus, Coronavirus 43 ve Coronavirus 63 pozitif eğrisi.....	51
Resim 4. 3. Rhinovirus ve Adenovirus pozitif eğrisi.....	51

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
bp	Baz çifti
kb	Kilobaz 1000 nükleotitten oluşan baz dizilimi
ml	Mililitre
nm	Nanometre
Kısaltmalar	Açıklamalar
ASYE	Alt Solunum Yolu Enfeksiyonu
BAL	Bronkoalveolar Lavaj
CDHR3	Cadherin-Related Family Member 3
EIA	Enzyme Immuno Assay
ELISA	Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay
EV	Enterovirus
hAdV	human Adenovirus
hBoV	human Bocavirus
hCoV	human Coronavirus
HeLa	Henrietta Lack
hMpeV	human Metapneumovirus
hPeV	human Parechovirusü
hPIV	human Parainfluenzavirus
ICAM-1	Intraselüler adezyon molekülü 1
IFN	İnterferon
IL	İnterlökin
İnfV	İnfluenza virus
KF	Kistik Fibrozis
KOAH	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
LDLR	Low Density Lipoprotein Receptor

Kısaltmalar**Açıklamalar**

NCR	Non Coding Region
NF-kβ	Nuclear Factor Kappa Beta
ORF	Open Reading Frame
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RNA	Ribonükleik asit
RSV	Respiratuar sinsityal virus
RV	Rhinovirus
RT-PCR	Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
TLR	Toll benzeri reseptör
TNF	Tümör nekroz faktör
UTR	Untranslated Region
ÜSYE	Üst Solunum Yolu Enfeksiyonu
VP	Viral Protein
VPg	Viral Priming Protein g

1. GİRİŞ

Solunum yolu enfeksiyonları, hastaneye başvurunun en sık sebeplerinden biri olmakla beraber özellikle çocukluk çağında morbidite ve mortaliteye sebep olmaktadır[6]. Alt ve üst solunum yollarında *Streptococcus sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Mycoplasma sp.* gibi bakteriler, İnfluenza, Respiratuar sinsityal virüs, Coronavirus, Adenovirus, Rhinovirus gibi virusler, *Aspergillus sp.*, *Pneumocystis sp.*, *Cryptococcus sp.* gibi mantarlar, *Paragonimus sp.* gibi parazitler ve bunların türleri çeşitli enfeksiyonlara neden olurlar[7].

Üst solunum yolu enfeksiyonları ve soğuk algınlığının %50-70'inden rhinovirusları (RV) sorumludur. İlk kez 1950'li yıllarda nazofarengeal çalkantı suyu örneklerinden izole edilmiştir[1].

Rhinoviruslar, enfekte kişilerin sadece yarısında klinik hastalık oluştururlar. Aseptomatik kişiler, daha az virüs üretirler ancak virüsün yayılımında onlar da etkili olabilirler[2]. Primer olarak nezle etkeni olmalarına rağmen son zamanlarda tüm yaş gruplarında ve immun yetmezliği olan hastalarda alt solunum yolu enfeksiyonu ile de ilişkilendirilmekte; kronik akciğer hastalıkları, astım, otitis media ve sinüzitte etken oldukları bildirilmektedir[1]. Yıllık olarak rhinovirus enfeksiyonu milyarlarca insanı etkilemekte ve soğuk algınlığı gibi üst solunum yolları enfeksiyonlarının yarısından fazlasından sorumlu tutulmaktadır[4].

Dünya çapında rhinovirus enfeksiyonu her yaş grubunda ve her mevsimde ortaya çıkabilmektedir[3]. Enfeksiyon en sık bebek ve küçük çocuklarda görülmektedir. İki yaş altı çocuklar virüsü bulaştırmada çok etkilidirler[2].

Picornaviridae ailesinden olan rhinoviruslar son yıllarda enterovirus cinsi ile birleştirilerek enterovirus cinsi altında sınıflandırılmaktadır[1]. Rhinoviruslar genetik olarak çeşitlilik gösteren bir RNA virüsüdür ve yaklaşık olarak 160 tipi bulunur. Filogenetik olarak RV A , RV B ve RV C olmak üzere 3 türü mevcuttur[4]. Çok sayıda serotipinin bulunması aşı geliştirme çalışmalarını zorlaştırmaktadır. Günümüzde tedavi sadece semptomları hafifletmeye yöneliktir[5].

Bu çalışmanın amacı; Solunum yolu viral etkeni olan rhinovirusun yaşı, mevsim ve altında yatan hastalıklar göz önüne alınarak klinik ve epidemiyolojik özelliklerinin araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Son 15 yıldan bu yana solunum yolu hastalıklarında tanı yöntemlerinin geliştirilmesi ile solunum yolu virüs spektrumunu genişlemiştir. Coronavirus ve influenza tip A gibi RNA virüslerinin türler arasında geçiş yaparak değişikliğe uğraması ya da yeni tanımlama tekniklerinin kullanılması ile metapneumo virüs, bocavirus gibi viruslerin saptanabilmesi bu virüslerin kaynaklarının zoonotik olabileceğini düşündürmektedir[8].

Rhinoviruslar ilk kez 1950'li yılların ortalarında nezle olan hastaların nazofarengeal çalkantı suyu örneklerinden izole edilmiştir[1]. Rhinovirus adının kökeni, özellikle adapte olup çoğaldığı burun boşluğundan gelmektedir. İlk olarak 1984 yılında RV-14'ün genom dizilimi saptanmış, moleküler sistemlerin geliştirilmesi ile 1985 yılında 5 serotipin viral kapsitlerinin X-ray kristolografik şekilleri çözülmüştür[12].

Rhinoviruslar, Picornaviridae ailesine mensup tek zincirli RNA virüsleridir[9]. İsmi küçük (pico) kelimesinden alan picornavirus ailesi içinde 29 cins yer almaktadır. Picornavirus ailesi Enterovirus, Hepatovirus, Cardiovirus, Aphtovirus gibi toplamda 230'dan fazla virüsü bulunduran birçok cinsi barındırmaktadır[2]. Picornaviridae ailesinden olan rhinoviruslar 2005 yılına kadar rhinovirus cinsi altında, bu yıldan sonra enterovirus cinsi altında sınıflandırılmıştır[2].

RV-A ve RV-B türlerinin izolatları 1987 yılında, antijenik çapraz reaktivasyonuna dayalı serum nötralizasyon testlerinde 100 serotipe ayrılmıştır. RV-C 2006 yılında grip benzeri bir salgın hastalığa yakalanan vakalarda izole edilmiştir[1,11].

Günümüzde multipleks PCR gibi gerçek zamanlı nükleik asit amplifikasyonuna dayalı yeni geliştirilmiş ticari testler, geniş bir panelin hassas ve spesifik bir şekilde algılanmasına olanak sağlar. Multipleks PCR testleri hücre kültüründe virus izolasyonu ve antijen tespiti gibi diğer tanı testlerine göre daha hassastır ve son yıllarda dünya çapında kullanılmaktadır[6].

2.2. Rhinovirusların Sınıflandırılması

Picornaviridae ailesinden olan rhinoviruslar; enteroviruslar, parechoviruslar ve hepatoviruslar ile aynı aileye mensuptur ve insanlarda hastalık oluşturan viruslerdir. Rhinoviruslar zarfsız, pozitif polariteli, tek iplikli RNA ya sahip Picornaviridae ailesinin enterovirus cinsinin üyesidir. Posterior nazofarinks bağlayan epitelyal hücreleri enfekte eden bir virüstür[14].

Moleküler yöntemlerin geliştirilmesinden önceki dönemlerde rhinovirus, asit stabilite testi ve spesifik antiserumla serotiplendirme yöntemleri kullanılarak fenotipik olarak enterovirusdan ayrıştırılmıştır. Rhinovirus mide asiditesi ile inaktive edilirken, enterovirus asit stabildir. Farklı rhinoviruslar, hücrel reseptör spesifitesine bağlı olarak, majör ve minör gruba ve kapsid-bağlayıcı bileşik farkı ile rhinovirus A ve rhinovirus B'ye ayrılırlar. Moleküler yöntemlerin varlığı, rhinovirus ve enterovirus arasındaki ve farklı rhinovirus türleri arasındaki genetik ilişkiyi daha da açıklığa kavuşturmuştur. Örneğin, rhinovirus 87 ve enterovirus D68 genetik olarak yakından ilişkilidir ve her ikisi de aside duyarlıdır. Rhinovirus 87 şimdi enterovirus D68 olarak yeniden sınıflandırılmaktadır[17].

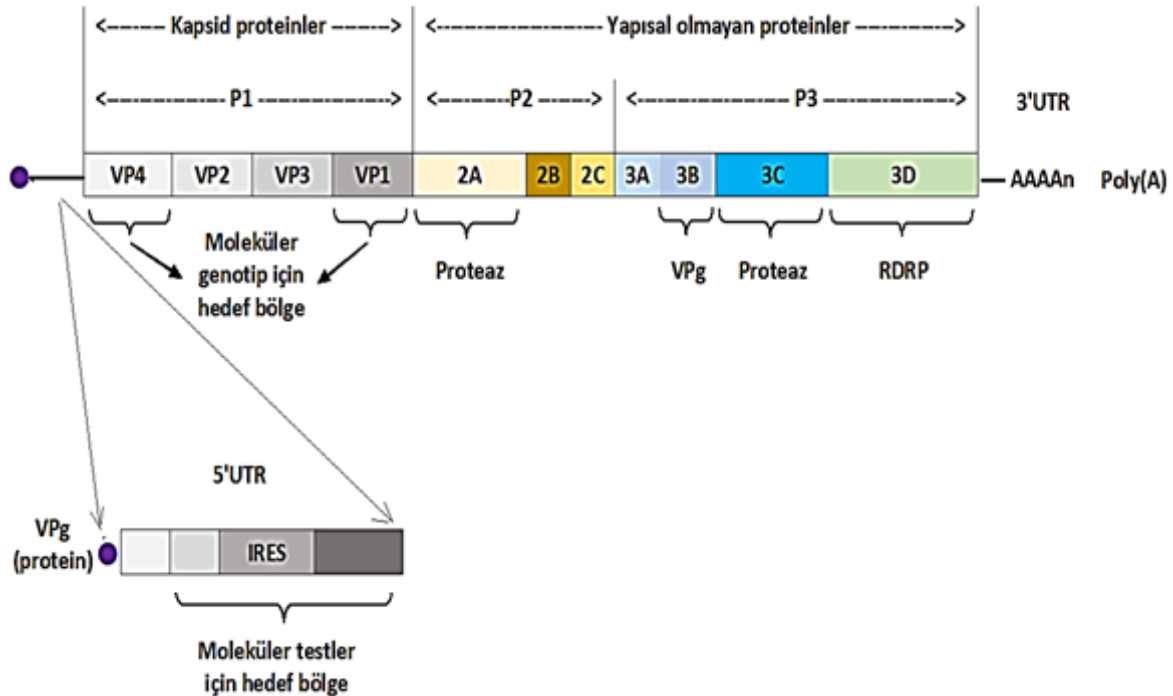
1960 ve 1970'lerde çalışılan klinik örneklerde, yaklaşık 100 farklı RV suşu serotiplendirilerek tanımlandı. Viral kapsid-kodlayıcı bölgelerin, kodlayıcı olmayan bölgelerin ve sınırlı sayıdaki tam genomların kısmi sekanslanması, orijinal 99 suşun RV-A (74 serotip içeren) ve RV-B (25 serotip içeren) olarak iki türe ayrılmasına neden olmuştur[24].

Klinik örneklerde RV'ün tanımlanması için son derece hassas moleküler tekniklerin geliştirilmesi ile 2009 yılında Uluslararası Virüs Taksonomisi Komitesi tarafından yeni bir tür olan RV-C'nin tanımlanmasına yol açmıştır. RV-C suşları, standart hücre kültüründe çoğalıp, gelişmemesi; genetik tabanlı bir sınıflandırma sistemi geliştirilmesine yol açmıştır.(Şekil 2.1.) RV-C suşları, RV-A ve RV-B'ye benzer bir genomik organizasyona sahiptir; bununla birlikte, sınıflandırmalarını yeni bir tür olarak destekleyen birkaç farklı özellik vardır. Bugüne kadar, VP1'de % 13 nükleotid farkı, VP1 sekansı mevcut değil ise VP4 / VP2 bölgesinde en az % 10 nükleotit farkı olan bir eşik kullanılarak en az 50 farklı RV-C tipi tanımlanmıştır. 2011 yılında sinüs mukozal dokusu kullanarak in vitro olarak RV-C geliştirilmiş ve bu türlerin ayrı bir hücre bağlantı mekanizması kullandığını

Rhinoviruslar 2005 yılından bu yana enterovirus cinsi içerisinde yer almaktadır. Rhinoviruslar, bulaşma şekli, optimum çoğalma ısısı, aside direnç ve oluşturdukları hastalıklar açısından enteroviruslerden ayrılmaktadır[2].

2.3. Rhinovirusların Yapısı

Rhinoviruslar zarfsız, yaklaşık 30 nm çapında küresel bir virüstür. İkosahedral yapıdaki kapsitleri 7.2-kb, pozitif polariteli ve tek iplikli RNA genomunu çevreler [17]. Rhinovirus genomu yaklaşık 7200 nükleotidden oluşan, tek bir ORF (open reading frame, açık okuma bölgesi) bulunan, 5' NCR (non-coding region, kodlanmayan bölgede) kısa bir peptid olan VPg (viral priming protein g, viral başlatıcı protein g), 3' ucunda poliA bulunan, tek zincirli pozitif polariteli bir RNA molekülüdür[10]. (Şekil 2.2.) İç ribozomal giriş bölgesi (IRES), rhinovirus gibi pozitif iplikli RNA virüsleri ve de bazı ökaryotik hücrelerde olduğu gibi yaygın olarak kullanılmaktadır. Rhinovirus genomu, aynı zamanda etkin replikasyon için gerekenden nisbeten kısa bir 3' UTR (untranslated region translasyonu yapılmayan bölge) içerir[12].



Şekil 2. 2. Rhinovirusun genom yapısı[24].

Viral genom ilk önce tek bir poliprotein haline dönüştürülür. Oluşan tek ORF; P1, P2 ve P3 olarak 3 bölüme ayrılmıştır. Genomun ilk bölgesi P1 daha sonra VP0,VP3 ve VP1'e

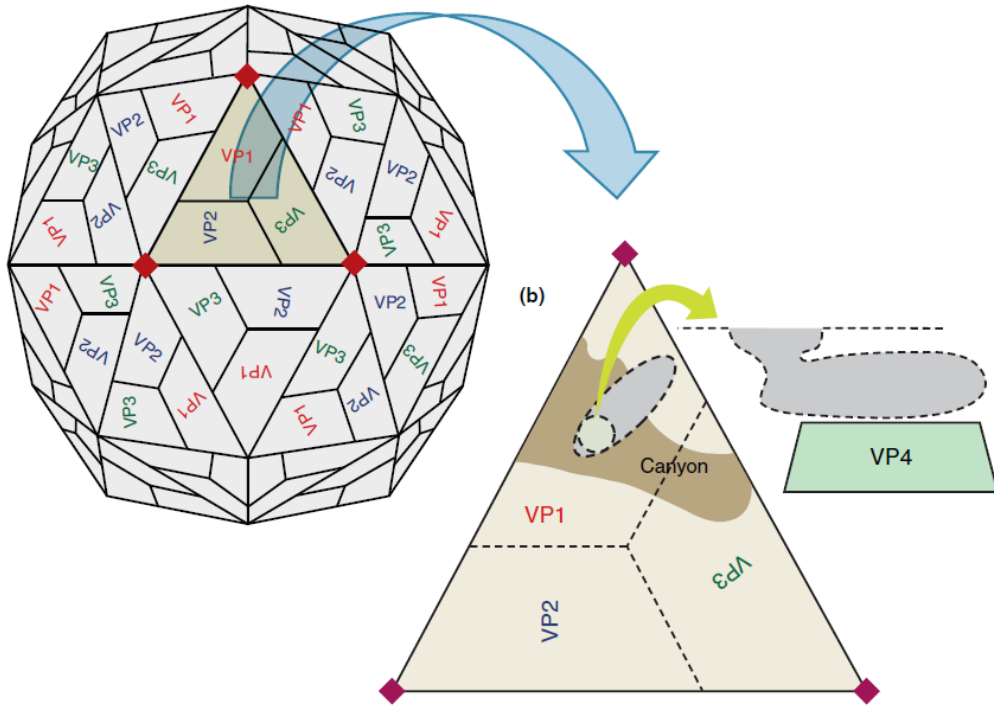
bölünür, öncü molekül olan VP0'ın kesilmesi ile de VP2 ve VP4 oluşur. P2 daha sonra 2A ve 2BC'ye bölünür. 2BC nin bölünmesiyle 2B ve 2C oluşur. P3 de daha sonra 3AB ve 3CD 'ye bölünür. 3AB ve 3CD de bölünerek bütün yapısal olmayan proteinler oluşur[2,12,13,17].

Küçük viral bir protein olan VPg, genomun 5' ucuna kovalent olarak bağlanır ancak replikasyon döngüsün başında genomik RNA'dan ayrılır gibi gözükmemektedir. Bu protein, replikasyon için viral genomda bulunur, ancak son çalışmalar varlığının translasyon ve replikasyonu etkilemediğini göstermiştir. Dolayısıyla neden bu peptidin sitoplazmada bırakılmasından kısa bir süre sonra genomik RNA'dan ayrıldığı belli değildir. Genomik RNA'ların doğru bir şekilde kapsüllenmesi için VPg bağlantısının kaldırılması gerekli olabileceği düşünülmektedir ve sadece VPg içeren viral RNA'nın virionlarda olduğu keşfedilmiştir[13].

Yapısal olmayan proteinler; 2A, 2B, 2C, 3A, 3B, 3C, 3D dir. 2A ve 3C viral polipeptidi parçayan proteazlardır. 3C aynı zamanda antiviral immüniteyi antogonize edilmesinde önemlidir. 3D; RNA ya bağımlı bir RNA polimerazdır, 2B, 2C ve 3A replikasyon kompleksinin konak hücre membranına tutunması için önemlidir, aynı zamanda 2B hücre zarı geçirgenliği ve virüs parçacıklarının hücreden salınımını için önemlidir[17].

5' ucunda bulunan VPg molekülü viral RNA sentezinin başlamasında ve kapsid içinde genomun paketlenmesinde rol oynarken, 3' ucunda bulunan poliA dizisi RNA nın enfektivitesini artırır[2].

Rhinoviruslar 12 köşesinde herbiri 5 protomer ile birleşik pentamerler bulunan, zarfsız VP1, VP2, VP3 ve VP4 proteini bulunan bir kapsite sahiptir[13]. (Şekil 2.3.)



Şekil 2. 3. Rhinovirusun virion yapısı[26].

60 protometrik ünitelerden oluşan kapsitlerde VP1, VP2 ve VP3 protein kılıfı oluşturur, bu protein kılıfın içerisinde de VP4 bulunur[2,3]. VP1, VP2 ve VP3 kapsidin protein kılıfını oluştururken bu protein kılıfın içerisinde de VP4 bulunur ve genom ile etkileşimi sağlar. VP1 Virionların köşelerinde yer alan VP1 polipeptidinde bir kanyon yapısı bulunur, bu yapı reseptörlere bağlanmayı sağlamaktadır[2]. Bu kanyon yapısının hücre reseptör bağlanma bölgeleri olabileceği ve bağlanmadan sonra oluşan konformasyonel değişikliklerde önemli rol oynayabileceği düşünülmüştür. Aynı zamanda VP1 immün yanıtın ana hedefidir. VP1 de antiviraller için hidrofobik bir cep bulunur[2,3,10].

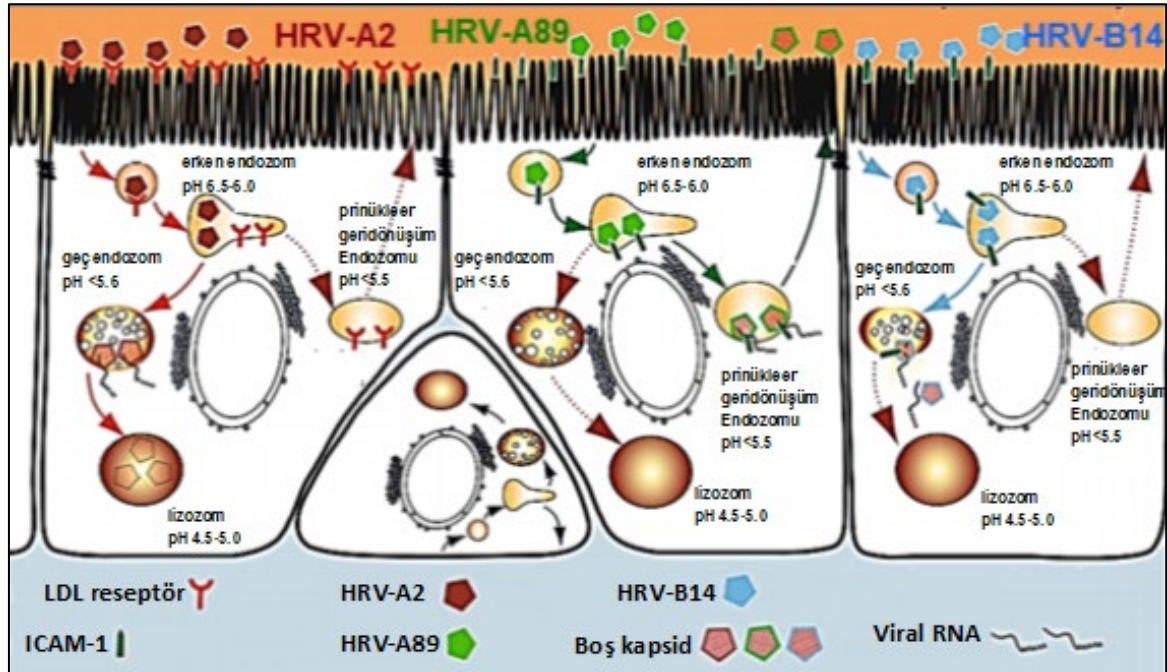
Rhinoviruslarda, virüs ile hücre reseptörleri arasındaki özgüllük hedeflenen dokuya yöneliminin ve hastalığın esas belirleyicisidir. Rhinovirusların reseptörlere olan özgüllüğü, gruplandırmada da öne çıkmıştır. Rhinoviruslar konak hücreye girebilmek için 3 temel hücre zarı glikoproteini kullanmaktadır; RV-A ve RV-B ailelerinin çoğunluğu (majör grup), hücre giriş reseptörü olarak hücreler arası adezyon molekülü 1'i (ICAM-1) kullanırken, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), 12 RV A serotipi tarafından (minör grup) kullanılır. RV C ailesi de katedrin ilişkili aile üyesi (CHDR-3) kullanmaktadır[2,11,26].

2.4. Rhinovirusların Replikasyonu

Rhinovirus önce yapısal bir protein olan VP1 ile konak hücre yüzeyi reseptörü arasındaki bağlanma yoluyla hücre yüzeyine bağlanır. Türlerine göre konakçı reseptörleri; intrasellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1), düşük dansiteli lipoprotein (LDL), heparan sülfat yada kathedrin ilişkili aile üyesi 3 (CHDR3) olabilir[17].

Şimdiye kadar araştırılan RV A ve RV B türlerinin hücrelere girişi reseptör aracılı endositoz ile gerçekleşmektedir. RV C'nin giriş ve soyulma mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir[5].

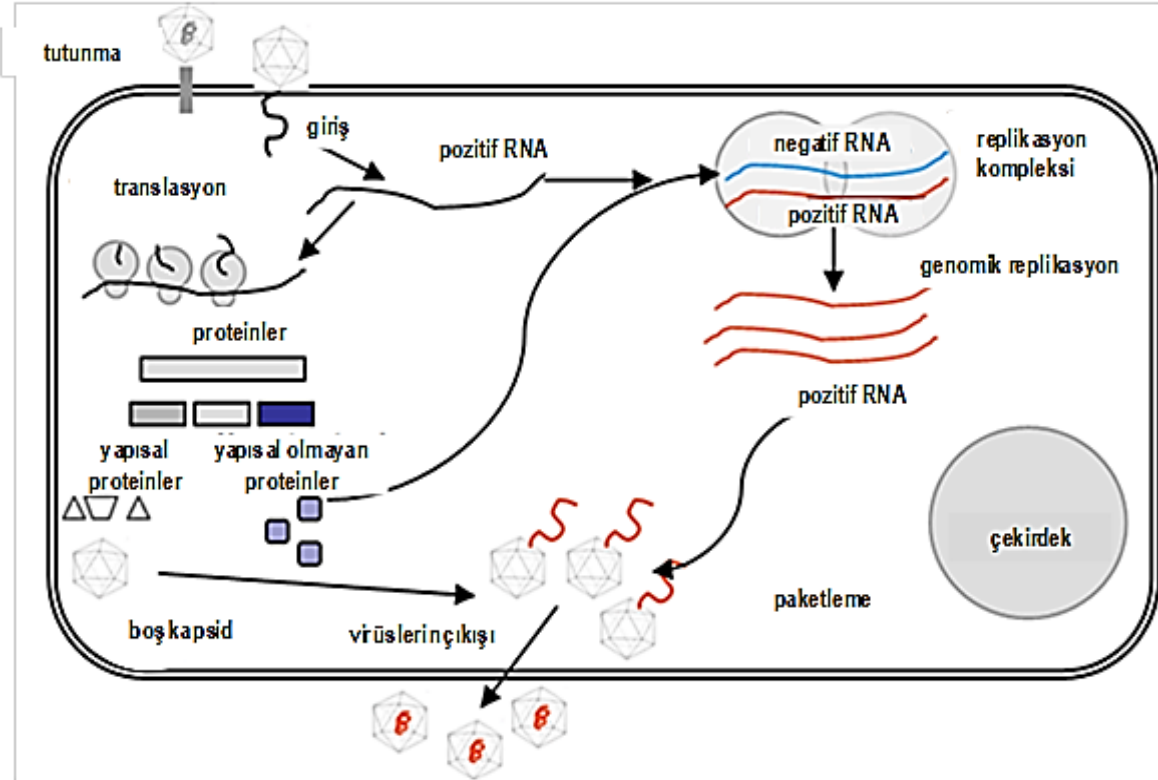
Viral enfeksiyon sürecindeki temel adım, virus genomunun konakçı hücre zarının hidrofobik bariyerinden geçmesidir. Zarflı virüsler bunu viral ve hedef hücre zarlarının füzyonu yoluyla gerçekleştirir. Ancak, zarfsız virüsler genomlarını hücreye iletmek için gözenek oluşumu veya membran bozulması gibi alternatif mekanizmalar kullanmalıdır. Rhinovirus gibi zarfsız virüslerin çeşitli aileleriyle yapılan hücre giriş çalışmaları, bu süreçleri anlamamızı sağlamış ve membran penetrasyonu için kullanılan mekanizmalarda ortak temaları ortaya çıkarmıştır [21].



Şekil 2. 4. Rhinovirusun reseptörler aracılığı ile hücre içine alınması[5].

Major ve minör grupların reseptörleri bazal hücrelerin tüm plazma membranları ve nasal epitel hücrelerinin silyalı apikal kısmında eksprese edilir. Reseptöre bağlandıktan sonra virüs hücrenin içinde erken endozom içersine alınır. Erken endozom içersinde RV-A2, LDLR için hafif asidik pH içersinde virüs reseptörden ayrılır. LDL perinükleer geri dönüşüm endozomları aracılığıyla apikal plazma membranına geri döndürülürken, virus geç endozomal döneme girer. Geç endozomlardaki düşük pH ($\leq 5,6$) virüsleri subviral A partiküllerine dönüştürür, ardından viral RNA salınır ve boş kapsitler (subviral B partikülleri) lizozomlarda toplanır ve degrade edilir. RV-A89; ICAM 1 için yine perinükleer geri dönüşüm endozomlarında asidik ortamda subviral A daha sonra subviral B partiküllerine dönüşür. RV-A2 den farklı olarak reseptörlerle subviral B partikülü (boş kapsit) apikal plazma membranına döndürülür. RV-B14; ICAM 1 endozom içinde iken konformasyonel değişiklikler olur. Virüs RNA' nın soyulmasına ve bunun sitoplazmaya nüfuz etmesine yol açan plazma zarını bozar. Hem viral RNA hemde viral kapsit lizozomal degradasyondan kaçır. Ancak daha sonra ICAM 1'e ne olduğu bilinmemektedir[5].(Şekil 2.4.)

Genom, virionun bir köşesindeki VP1 proteininin oluşturduğu kanal boyunca membranı geçerek hücre içine verilmesini içeren viral soyulmayı tetikler. Reseptörlere bağlanma sonucu ilave reseptörlerinde devreye girmesiyle VP4 yapıdan ayrılır ve RNA genomu içeren subviral A parçacıkları haline dönüşür [2,5,12]. Rhinovirusların soyulmasında endositozun rolü hala çok iyi tanımlanamamıştır. Soyulma ister plazma membranında ister endositik vezikülde olsun, virus reseptör kompleksinin karalılığı ve pH'sı ile belirlenir. Reseptör kompleksi nötr pH'ta kararsız olan bazı serotipler için, virüsün hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanması, soyulmayı tetiklemek için yeterlidir. Kompleksleri nötr pH'de stabil olan serotipler için, düşük pH gibi bazı ek uyarıcılar gereklidir. Bu yüzden soyulma, reseptörler aracılığıyla endozomlara taşınmasına kadar ertelenir [12].



Şekil 2. 5. Rhinovirus replikasyonu[64].

1. Virusün tutunması 2. Kapsidin soyularak hücre içine alınması 3. Poliprotein translasyonu 4. Viral proteazlarla poliprotein'in yapısal olan ve yapısal olmayan proteinlere bölünmesi 5. Genomik RNA'dan eksi iplikçikli RNA kopyalanması 6. Genomik replikasyon 7.Yapısal proteinlerden viral kapsit sentezi 8. Viral genomun paketlenmesi 9. Olgun virionun hücreden salınımı.

Viral genomda 5'-kep yapısı bulunmamasına rağmen genomdaki internal RNA ilmeğinin (IRES) sayesinde tanır ve ribozomlara doğrudan bağlanır[2].

RNA sitoplazmaya geldiğinde tek bir poliprotein sentezlenir. Bu poliprotein viral proteazlar tarafından kesilerek yapısal olan (kapsit) ve yapısal olmayan proteinlere bölünür[5]. Yapısal olmayan proteinlerden RNA'ya bağımlı RNA polimerazlar komplementer olan negatif polariteli RNA zincirini sentezler ve bu RNA zinciri yeni genom için kalıp görevi görür[12].

Yaklaşık 2000 aminoasitten oluşan viral poliprotein öncüsü, viral proteazlar tarafından farklı viral proteinlere bölünür. Genom daha sonra sitoplazmadaki ilgili komplekslerde çoğaltılır[13]. Sentezlenen bu proteazlar poliproteinleri keser ve VP0, VP1 ve VP3 gibi yapısal proteinler oluşur. Protokapsit genom içine yerleştirilir.VP0 kesilerek VP4 ve VP2 oluşarak kapsit tamamlanır[2]. Rhinovirus replikasyonu, lipidler, proteinler ve viral RNA

içeren bir replikasyon kompleksinin kurulmasını gerektirir. Yeni viral proteinler ve RNA paketlenir ve viral yayılım hücre lizisi yoluyla gerçekleşir[17]. (Şekil 2.5.)

2.5. Rhinovirusların Bulaşma Yolları

Rhinovirus çalışmalarında gönüllüler üzerinde yapılan araştırmalarda, virüsün burun ve konjuktivaya inokulasyonunun enfeksiyon başlaması için en etkili yol olduğu gözlenmiştir[10]. İnsanlar arasındaki viral partiküllerin iletilmesi, doğrudan temas sırasında aerosol yolu ile öksürük ve aksırıkla veya tipik olarak parmak ucundan göz veya burun içine inokülasyon ile ve kontamine objeler aracılığıyla gerçekleşebilir. Rhinoviruslar birkaç saat boyunca ellerde hayatta kalabilmektedir; bu da, özellikle viral yüklerin yüksek olduğu durumlarda, yeterli el hijyeni olmadığında, bu yolla insandan insana kolay bir geçişi mümkün kılmaktadır. Çalışmalar direkt temasta küçük ve büyük parçacık aerosolleri ile aktarımın mümkün olduğunu fakat büyük parçacık aerosolleri tarafından aktarımın daha az etkili olduğunu göstermiştir[1,13,23].

Bunun aksine, rhinovirusun ağızdan, enfekte gönüllülerle uzun süreli öpüşmelerle deneysel inokülasyonunun, enfeksiyonu başlatmak için yetersiz bir yöntem olduğu görülmektedir[12]. Rhinovirus, doğal olarak enfekte gönüllülerin% 40'ında ve evdeki nesnelerin % 6'sında saptanmıştır. Yirmi dört evli çiftle yapılan bir çalışmada enfekte bir eşten , 63 ila 149 saat arasında değişen temas süreleri sonrasında 9 çiftin diğer eşinde de rhinovirus enfeksiyonu saptanmıştır. Rhinovirus deneysel koşullarda oda şartlarında günlerce hayatta kalırken zarar görmemiş cilt üzerinde iki saat yaşayabilir[24].

Zarfsız bir virüs olan rhinovirus, alkol içeren el temizlik malzemesi ve dezenfektanlara karşı nispeten dirençlidir. Rhinovirus uzun süre çevre yüzeylerinde tespit edilebilir[17]. Virüs bulaşmasında kontamine objelerin rolü çok açık değildir. Rhinovirus enfekte ellerle ortamdaki nesnelere kolaylıkla aktarılır. Parmak uçları deneysel olarak, virus içeren burun mukozası ile kontamine edildiğinde, başlangıçtaki virüs titresinin % 13'ü, cansız nesnelere aktarılır; Gözeneksiz çevre yüzeylerindeki virus 3 ila 4 güne kadar hayatta kalabilir ve temas halinde cilde iletilebilir. Cansız nesnelerle bulaşındaki bu aşamalar gösterilmiş olmasına rağmen, her adımda önemli miktarda enfeksiyöz virüs kaybı vardır[12].

Enfeksiyonun başlaması için 1 enfeksiyöz viral partikül yeterlidir. Nazal salgılarda, hastalığın pik yaptığı dönemde 500-1000/ml enfeksiyöz virion bulunmaktadır[2]. Nazal sekresyonda virüs atılımı 2-3 gün süre ile en yüksek düzeydedir. Dört-beş günde virüs atılımında azalma olur, iki hafta kadar da düşük titrede seyredir. Enfekte olan nazal epitel hücreleri, nazal mukus salgılanmasına neden olur[1]. RV soğuk algınlığı için bulaşıcılık süresi, burun salgılarında maksimum virus dökülme periyoduna paraleldir[12].

2.6. Rhinovirusların Patogenezi

Rhinovirus ile deneysel olarak enfekte edilmiş gönüllülerde, inokulasyondan 8 ila 18 saat (ortalama 10 saat) sonra burun sıvılarında tespit edilebilir[12].

Rhinovirus üst solunum sisteminde, burun mukozasında ve arka nazofarinkste saptanabilir ve temel olarak silyalı hücreleri ve daha az oranda silyasız hücreleri etkiler, esas olarak kolumnar epitelyal hücrelerde ve daha az oranda bazal hücre tabakasında tespit edilir. Rhinovirus RNA sı, akut sinüzitli hastaların maksiller sinüs epitelinde de gösterilmiştir. Ayrıca insan fetal akciğerinde tip II pnömositlerde replike olduğu da kanıtlanmıştır. İn situ hibridizasyon çalışmaları, RV enfeksiyonlarının deneysel enfeksiyonu takiben trakeobronşiyal ağaçta da meydana gelebileceğini ortaya koymuştur[17,19].

Nazofarinkste, virüs hücre içi adezyon molekülü-1 (RV majör serotipler için ICAM-1) veya düşük yoğunluklu lipoprotein (RV minör serotipler için LDL) reseptörleri aracılığıyla epitel hücrelerine bağlanır ve enfeksiyonu başlatır[23]. Rhinovirus A ve B serotiplerinin (ana reseptör grubu) çoğunluğu, immünoglobulin süper ailesinin bir üyesi olan ICAM-1 yoluyla hava yolu epitelyal hücrelerine girmektedir. Sağlıklı çocukların ve erişkinlerin adenoid ve nazofarengeal dokularında, ICAM-1, az sayıda tek silyasız lenfoepitelyal hücrelerde ve ayrıca siliyer epitelyumun bazal tabakasında tespit edilir; ICAM-1, skuamöz epitelyal hücrelerde ve siliyer epitelyumun luminal yüzeyinde ifade edilmez. Bununla birlikte, normal primer insan bronşiyal epitelyal hücrelerinde rhinovirus, çözünebilir ICAM-1'in salınımını düzenlerken, NF-k β (Nükleer faktör kappa beta) bağımlı bir mekanizma yoluyla membrana bağlı ICAM-1 ekspresyonunu düzenler[24]. Rhinoviruslar gibi RNA virusleri başlangıçta (çift iplikli) ds RNA'nın endozomal Toll-benzeri reseptör (TLR) -3 veya (tek iplikli) ss RNA'nın endosomal TLR 7 / 8 ile tanınması gibi, patern tanıma reseptörleri (PRR'ler) vasıtasıyla tanınır[31]. Çift zincirli RNA (dsRNA)

üretildikten sonra, tip I interferon (IFN) cevabına melanom farklılaşmasıyla ilişkili gen 5 (MDA-5) ve retinoik asit indüklenebilir gen 1 (RIG-1) aracılık eder. Bu reseptörlerin birleşmesi, RANTES, IP-10, IL-6, IL-8 ve epitelyal hücre kaynaklı nötrofil aktive edici peptid 78 (ENA-78) dahil olmak üzere RV-uyarımlı IFN- β , IFN- γ ve proinflamatuvar sitokin gen ekspresyonunu arttırır[24].

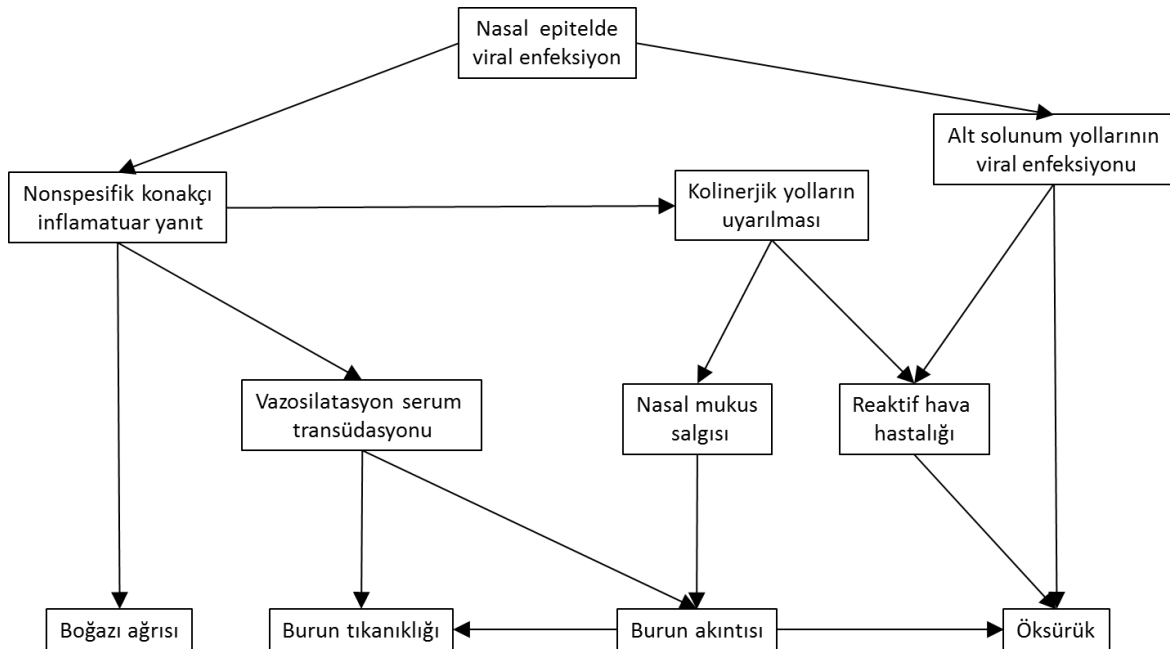
Astım öyküsü olmayan bireylerde RV enfeksiyonunun semptomları genellikle üst solunum yolu ile sınırlıdır. En belirgin semptomlar olan rinore ve burun tıkanıklığı, artmış vasküler geçirgenliğe ve mukus hipersekresyonunun uyarılmasına neden olan nötrofilik bir inflamatuvar yanıt ile ilişkilidir. Öksürük rhinovirusun üst solunum yolu enfeksiyonunda daha az görülen fakat rahatsız edici bir belirtisidir. Öksürük patogenezi, posterior faringeal bölgenin tahrişini veya büyük hava yollarının direkt enfeksiyonu içerebilir (Şekil 2.6.). Tipik soğuk algınlığı semptomları olan birçok bireyde sinüs tutulumu gösterilmiştir. Sinüzit tedaviye gerek kalmadan kendiliğinden geçebilmesine rağmen, sinüs açıklıklarının tıkanması ve ikincil östaki borusu disfonksiyonu ile ilişkili iltihap, sırasıyla akut bakteriyel sinüzit ve orta kulak iltihabına yatkınlığa neden olabilir[26].

Rhinovirusların geleneksel olarak 33° C en iyi üreme ısısı olması sebebiyle üst solunum yolu enfeksiyon etkeni olduğu düşünülmüştür. Bununla birlikte çalışmalar bazı rhinovirus suşlarında 37°C’de de 33° C’dekine eşit replikasyon yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir[17]. Hava yolunun epitelyal hücreleri, akciğerin korunmasında aktif olarak yer alır ve patojenlere karşı fiziksel ve immünolojik engeller oluşturur. Epitelyal hücre, rhinovirus replikasyonunun ana hücrel hedefidir[22]. Başlangıçta RV enfeksiyonunun üst solunum yolları ile sınırlı olduğuna inanılmasına rağmen, virusün alt solunum yolunun siliyer epitel hücrelerinde de replikasyon yaptığı tespit edilmiştir[5].

Rhinoviruslar direkt alt solunum yollarını enfekte ederek veya dolaylı olarak üst solunum yollarının enfeksiyonu sonucu oluşan enflamatuvar, immünolojik veya nörojenik mekanizmaların alt solunum yollarına olumsuz etkisi ile alt solunum yolu disfonksiyonu oluşturabilir ve astım alevlenmelerini tetikleyebilirler[3]. Yapılan çalışmalar RV alt solunum yolu enfeksiyonu histolojisinde; RV’un interstisiyel alveoler etkileri olduğunu ortaya koymuştur. Fibrinopürülan alveoler döküntülü akut ve kronik inflamasyon ve alveolar hücrelerin hiperplazisi ve deskuamasyonu gibi patolojik bulgular ile pnömoni, interstisiyel pnömoni ve bronşiolitis obliterans gözlemlenmiş, bu çalışmalar ve klinik

gözlemler, RV'nin alt solunum yollarını enfekte ettiğini ve proinflatuar bir yanıt indüklediği sonucunu ortaya çıkarmıştır[24].

Diğer solunum yolu viruslerinin aksine, rhinovirus insan nazal epitelyal hücre hattında sitopatolojiye neden olmaz. Bununla birlikte, rhinovirus insan bronş epitel hücrelerinde sitopatik değişikliklere neden olabilir. Rhinoviruslar, viral replikasyon sırasında reaktif oksijen türleri oluşumunu uyararak sıkı bağlantı kompleksinden zona occuledens 1'in epitelyal bariyer fonksiyonunu bozabilir ve bu da vasküler sızıntıya ve mukus sekresyonuna neden olabilir. Epitelyal bariyerin bozulmasının da, bakterilerin bağlanması, yer değiştirmesini ve kalıcılığını kolaylaştırdığı gösterilmiştir[13,17]. Solunum yolu epitelinde sitopatik değişiklikler gözlenmemesinde, konağın immün yanıtından kaynaklandığı hipotezi üzerinde durulmaktadır[5]. Doğal soğuk algınlığı olan kişilerin nazal biyopsi örnekleri ışık ve taramalı elektron mikroskopi ile incelendiğinde hücrelerin sivrildiği, ancak epitel hücre astarı ve sınırlarının yapısal olarak sağlam kaldığı gözlenmiştir[24]. Nörojenik mekanizmaların, rhinovirus enfeksiyonları sırasında hastalığın ekspresyonunda da rol oynadığı görülmektedir. Parasempatik sinir sistemi nazal seromukoz bezlerinin salgı aktivitesini kontrol eder[12].



Şekil 2. 6. Rhinovirusun patogenezi ve klinik bulgular[12].

Nonspesifik konakçı inflammatuar yanıtlarının, semptom oluşumunda rol oynayabileceği düşünülmektedir. Rhinovirus soğuk algınlığı sırasında burun sekresyonlarında, bradikinin,

interlökin 1b (IL-1b), IL-6, IL-8, interferon-indüklenebilir protein 10 (IP-10) ve tümör nekroz faktörü alfa dahil olmak üzere bir dizi enflamatuar aracı madde artar[12]. Kininlerin semptomatik RV enfeksiyonunda rolleri vardır, enfekte hücreler lizil bradikini ve bradikinin salgırlar. Bu da burun akıntısına neden olur[2]. Kininlerdeki bu artış nötrofil göçü ve vasküler permabilitede artışa yol açar. Ancak semptomatik RV enfeksiyonunda histamin seviyesinde artış görülmemiş bu da patogeneizde bazofil ve mast hücrelerinin katılmadığı sonucunu doğurmuştur[24].

Balgam süpernatantlarında nötrofil elastaz ve IL-8 düzeyleri ve bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısındaki IL-6 seviyelerinin RV enfeksiyonunda arttığı gözlenmiştir. BAL sıvısından alınan pulmoner alveolar makrofajlarda; kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA) olan hastalarda kontrollere oranla IFN- β yanıtlarının daha az olduğu gösterilmiştir. Ayrıca KOA hastalarında, alevlenmeler sırasında serum IP-10 seviyeleri ve balgam RV viral yükleri anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur[24].

İnterferonlar enfeksiyona yanıt olarak üretilip enfeksiyonu sınırlayabilseler de aynı zamanda semptomların oluşmasına da katkı sağrlar. İnflamasyon sırasında salınan sitokinler, ICAM 1 ekspresyonunu arttırmakta ve virüsün yayılımını kolaylaştırmaktadır[2].

Kısıtlı tropizmi ve gastrointestinal sistemin asit ortamına olan duyarlılığını göz önüne alındığında, yakın zamana kadar viremi ile yayılamayacak ve solunum yollarından başka organları enfekte edemeyeceği kabul edilmiştir. Ancak son yıllarda kan ve dışkırlar dahil olmak üzere birçok farklı örnekte rhinovirus RNA'sının varlığı tespit edilmiştir[13]. Rhinovirus-C RNA'sı, alt solunum yolu enfeksiyonu olan ölümcül bir vakanın beyin omurilik sıvısında (BOS) ve gastroenterit olan hastaların fekal örneklerinde tespit edilmiştir. Diğer solunum virüslerine benzer şekilde, rhinovirusun sistemik yayılımı gerçekleşebilir. Ancak, rhinovirus viremi daha şiddetli hastalıkla ilişkilendirilir[17].

İntranazal rhinovirus inokulasyonunda, mevsime, allerjik duruma, sigara içme öyküsüne, fiziki koşullara veya hastanın stres düzeyine bakılmaksızın, nonimmün gönüllülerde % 90'lık enfeksiyon oranları görölmektedir. Enfeksiyondan sonra semptomatik bireyler, asemptomatik bireylere nazaran nazal sekresyonlarda daha çok viral yayılıma neden olurlar[12].

İleriye dönük olarak, rhinovirusun patogenezi, hastalık sırasında virus replikasyonunun kinetiği, solunum yolu hastalığında rhinovirusun etiyolojisi ve rhinovirus ile indüklenen hastalıkların insidans hızları ile ilgili konuları anlamak için real-time PCR yönteminin kullanılması önemli yararlar sağlayacaktır[23].

2.7. Klinik Bulgular

İlk semptomlar 10-12 saat sonra görünse de, çoğu semptom enfeksiyondan 1-2 gün sonra gelişir, 2–3 günde zirve yapar ve bir hafta içinde hızlıca düzelir. Semptomlar rinore (burun akıntısı), burun tıkanıklığı, boğaz ağrısı, baş ağrısı, öksürük, halsizlik ve düşük dereceli ateşi içerir. Bireylerin belirli bir yüzdesinde nazal örneklerde virus, enfeksiyondan 2 ila 3 hafta sonrasına kadar tespit edilebilir[23].

Rhinovirusların oluşturduğu üst solunum yolu enfeksiyonları arasında akut rinosinüzit, otitis media, ve krup vardır. Alt solunum yolları disfonksiyonu ile astım, KOAH ve kistik fibrozis (KF) gibi pulmoner hastalığı olan olan bireylerde hastalığı alevlendirdiği bunların yanı sıra bronşiyolit, pnömoni gibi klinik bulgular gösterdiği bilinmektedir. Rhinovirus ayrıca ikincil bakteriyel pnömoniye de yatkınlık sağlayabilir[1,4,17].

Gönüllülerdeki deneysel enfeksiyonlar rhinovirusun bronş dokusunu enfekte edebildiğini, alt solunum yolu hücrelerinde replike olabildiğini ve 37° C de çoğalabildiğini göstermiştir. Rhinovirus enfeksiyonunun alt solunum yolu semptomlarını indükleyebildiğini ve pik ekspiratuar akım hızı ile zorlu ekspiratuar hacmini azaltabildiğini göstermiştir, bunun yanı sıra semptomatik hastalarda asemptomatik olanlara göre viral yükün daha fazla olduğu tespit edilmiştir[17].

Rhinovirusun akut sinüzitli hastaların sinüs boşluklarında saptanabileceği gösterilmesine rağmen, RV viral replikasyonun sinüs mukozasında meydana gelip gelmediğini belirleme çalışmaları devam etmektedir. Rhinovirus gibi orta kulak enfeksiyonunda tespit edilen viruslar, mukosiliyer hasara ve disfonksiyona, orta kulak ventilasyonunda bozulmaya ve östaki borusunda artmış mukus ve döküntülere neden olan bir inflamatuvar yanıtı tetikler. Bu olaylar, orta kulağın virus ve bakteriler tarafından istilasına yol açar. Patojenler orta kulağa ulaştıktan sonra, orta kulak sıvısı birikmesine (efüzyon), akut otitis media semptomlarına ve bakteriyel invazyon için daha fazla zarara neden olan başka bir

inflamatuvar kaskadı başlatılır. Efüzyonlu akut otitis media haftalarca devam edebilir. Çalışmalar rhinovirusun hava yolu obstrüksiyonu ürettiğini, hava yolu inflamasyonunu teşvik ettiğini ve astımın klinik özellikleri olan hava yolu aşırı duyarlılığını artırdığını göstermektedir. Bu değişiklikler astım semptomları ile ilişkilidir[3]. Hafif atopik astımlı ve alerjik bireylerde deneysel RV-16 enfeksiyonları, 1 saniyede zorlu ekspiratuar volüm ve bronkoprovokasyon sonrası potansiyel solunum yolu inflamasyonunda anlamlı bir azalmaya yol açmıştır. Rhinovirus enfeksiyonunu takiben alt solunum yolu disfonksiyonu için potansiyel mekanizmalar arasında alt hava yolunun direkt enfeksiyonu, enflamatuvar, immünolojik veya nörojenik mekanizmaların stimülasyonu yer alır[24].

Ayrıca rhinovirus gibi birçok solunum yolu virusünün, KF'li hastalarda pulmoner fonksiyonları olumsuz etkileyebileceği düşünülmektedir[3]. Yapılan çalışmalar RV enfeksiyonu sonrasında KF'li hastaların primer nazal ve bronşiyal epitelyal hücrelerinin kontrol grubuna göre daha az IFN- β ve IFN- γ ürettiklerini ortaya koymuştur. Viral enfeksiyona karşı abartılı bir inflamatuvar yanıtın da virüsle tetiklenen KF alevlenmelerinin bir mekanizması olduğu ileri sürülmüştür[24].

Kronik obstruktif Akciğer Hastalıklı ve sağlıklı bireylerin dahil edildiği deneysel bir RV enfeksiyonu çalışmasında, KOAH'lı hastalarda postbronkodilatör pik ekspiratuar akım hızı ve karbon monoksit difüzyon kapasitesinde belirgin azalma olduğu, kontrol grubu hastalarda ise bir değişiklik olmadığı saptanmıştır[24].

Rhinovirus ile ilişkili pulmoner hastalıklar dışında, gastroenterit ve perikardit gibi nadir vakalarda bildirilmiştir[13]. Rhinovirus enfeksiyonu olan kritik hastalarda pulmoner ödem, diyabetik ketoasidoz ve hiperosmolar koma gibi ekstrapulmoner komplikasyonlar sıklıkla görülür[17]. Hastanede yatan yenidoğanlarda rhinovirus enfeksiyonun hastalık seyri Respiratuar sinsityal virus (RSV) ile ortaya çıkan enfeksiyonlara benzerdir. Fakat rhinovirus enfeksiyonlarından etkilenen bebeklerin ortalama yaşı daha yüksektir[10]. Rhinovirus enfeksiyonlarının yaklaşık dörtte biri asemptomatiktir. Doğal olarak edinilmiş enfeksiyon çalışmalarında, virüs izolasyonu ile saptanan enfeksiyonların %12-37'si ve RT-PCR ile saptanan enfeksiyonların %12-22'sinin asemptomatik olduğu görülmüştür. Benzer şekilde RV'ün intranasal inokülasyonu ile deneysel olarak enfekte olmuş kişilerde enfeksiyonların % 20-30'u asemptomatiktir[12].

RV viral yükünün miktarı, hastalık şiddeti konusunda fikir verebilmektedir. Yapılan çalışmalarda akut solunum yolu hastalığı nedeniyle hastaneye yatırılan çocukların nazofarengeal aspirat örneklerinde viral yükün 10^7 RNA kopya/ml'den yüksek ve hastanın 5 yaşından az olması, alt solunum yolu enfeksiyonu ile ilişkili bulunmuştur[24]. Kanada'da semptomatik ve asemptomatik RV enfeksiyonu olan üniversite öğrencileri üzerinde yapılan bir çalışmada; asemptomatik öğrencilerdeki viral yükün, semptomatik öğrencilerdekinden ortalama $1.2 \log_{10}$ kopya / mL daha düşük olduğu saptanmıştır[49].

Yaşlılarda ise RV'den gelişen, alt solunum yolu hastalığı süresi diğer hastalıklara göre daha uzun sürmüş ve sigara içenlerde alt solunum yolu enfeksiyonuna yakalanma riskinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Çalışmalar RV'ün kanser riski taşıyan ve immün sistemi baskılanmış hastalarda ciddi pulmoner morbidite ve mortaliteye neden olduğunu göstermektedir[3]. Klinik semptomların ve etkene karşı olan duyarlılığın psikolojik stres ile arttığı ancak soğuğa maruz kalmanın böyle bir etkisinin olmadığı görülmüştür[10].

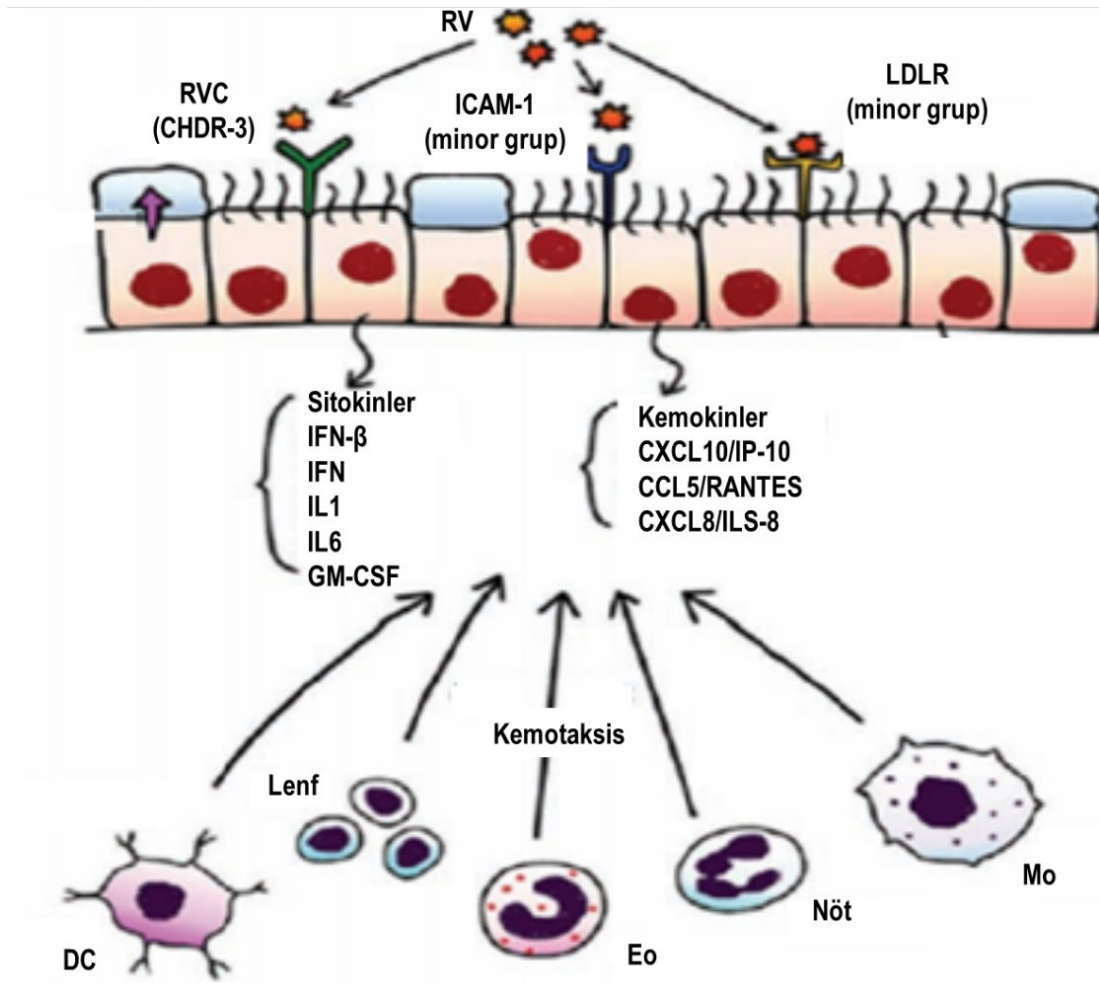
Başlangıçta, yeni RV-C türlerinin RV-A ve RV-B'den daha şiddetli hastalıklara neden olduğu bildirilmişse de, tüm türlerde benzer klinik sendromlar oluştuğu düşünülmektedir[18]. Finlandiya'da 209 bebek üzerinde yapılan bir çalışmada RV-B enfeksiyonunun orta şiddetli akut solunum yolu enfeksiyonu riskiyle ilişkili olduğu bulunmuştur[32]. Tayvanda yapılan bir çalışmada da RV-C ve RV-A enfeksiyonlarının klinik özelliklerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır. RV-C grubunda wheezing daha yaygın görülmesine rağmen, RV-A enfeksiyonu olan hastalara göre anlamlı bir fark gözlenmemiştir. RV-A ile enfekte hastaların daha çok oranda pnömoni, RV-C ile enfekte hastaların da daha çok oranda bronşiyolit tanısını ile takip edildiği tespit edilmiştir[35]. Ülkemizde Adnan Menderes Üniversitesi Hastanesinde akut solunum yolu enfeksiyonu tanısı ile başvuran 127 hasta ile yapılan RV -A,-B,-C türlerinin saptanması amacıyla yapılan bir çalışmada RV-B; RV-A ve RV-C den daha az oranda saptanmış bunun yanında çocuklarda RV-C, yetişkinlerde ise RV-A daha sıklıkla tespit edilmiştir. RV-C'nin yetişkinlerde wheezing ya da bronşiyolit tanılı çocuklarda, RV-A'nın da pnömoni tanısına sahip yetişkin hastalarda saptandığı gözlenmiştir[42].

2.8. Rhinovirus İmmunolojisi

Rhinoviruslara karşı erken doğal immün yanıt, epitelyum enfeksiyonundan sonra çok hızlı bir şekilde gerçekleşir ve enfekte hücrelerde antiviral bir etki oluşturacak tip 1 interferonun (IFN) üretimini ve sekresyonunu tetikler[13].

Rhinovirus enfeksiyonlarına karşı immünite geçicidir ve de çok fazla sayıda serotip bulunması nedeniyle daha sonraki enfeksiyonları önlemesi zordur. Rhinovirusun primer enfeksiyonunda humoral immün yanıtta nazal Ig A ve serum Ig G atikorları oluşur ve enfeksiyonun ilk haftasında tespit edilebilir. Ig A enfeksiyondan sonra yaklaşık 18 ay içinde kaybolur[2,25]. Antikorlar, hücresel tutunma bağlarını bloke ederek, virüsü fagositik hücrelere sunulmak için opsonize ederek veya NK hücresine bağlı antikor bağımlı hücresel sitotoksiteyi başlatarak viral klirens katkıda bulunabilir. Doğrudan virus nötralizasyonuna ek olarak, önceden var olan antikorlar ayrıca antijen alımına aracılık etmeye ve daha hızlı ve etkili hücresel bağışıklık tepkilerini uyarmayada hizmet edebilirler[26].

Akut hastalık sırasında antikoru nütürleştirmenin rolü ve süreci, konağın antikor durumuna bağlı olarak değişir. Önceden serum nötralize edici antikoru olan kişilerde, bu antikoru transüstasyonu, hastalığın şiddetini değiştirebilir. Nötralize edici aktivite, Ig A ve Ig G antikor sınıflarında ve ayrıca erken enfeksiyonda Ig M'de mevcuttur. Nötralize edici titreler, üçüncü ve dördüncü haftalarda hızla artar, bu sırada nazal sekresyonlarda viral dökülme artık tespit edilemez. RV soğuk algınlığının akut fazı sırasında, serum proteinlerinin nazal sekresyonlara kayda değer bir transüstasyonu vardır[12].



Şekil 2. 7. Rhinovirus patogenezi ve İmmunolojisi[16].

Rhinoviruslara karşı hücresel bağışıklıkta T hücreleri, viral antijenleri tanıyarak hem sitotoksik hem de antikor aracılı immün tepkileri tetikler ve böylece antiviral immüniteye katkıda bulunur[24]. Rhinovirus enfeksiyonunda hem CD4'e özgü hem de CD8'e özgü T hücresi yanıtları gelişir. CD4, Th1-benzeridir ve IFN- γ 'nın üretimi ile anti-viral immün yanıtta katkıda bulunur, bu CD4 hücreleri ayrıca humoral immün yanıtın gelişimini kolaylaştırır. CD8 T hücreleri, varlığı ve rolü kapsamlı olarak değerlendirilmemesine rağmen, RV eradikasyonunu yönlendiren adaptif immün yanıtın merkezi olabilir[26]. Zayıf Th-1 hücre yanıtları daha ciddi solunum semptomları ve daha uzun viral dökülme ile ilişkili olduğu için RV'e karşı bağışıklık yanıtı düzenleyen önemli bir faktör olabileceği düşünülmektedir[3]. Nazal mukozaya açık histopatolojik hasar olmamasına rağmen, nazal epitelyumda inflamatuvar yanıtlar ortaya çıkar ve sekresyonda nazal epitel hücre sayısında artış gözlenir. PMNL (polimorfonüklear lökosit) enfeksiyondan hemen sonra nazal epitelyuma sızar ve PMNL konsantrasyonları nazal sekresyonlarda ve periferik kanda

artar. Bu inflamatuvar yanıt sadece semptomatik bireylerde görülür. Rhinovirus enfeksiyonu ve semptomatik hastalığa lenfatik yanıt arasındaki ilişki açık bir şekilde tanımlanmamıştır. Rhinovirus enfeksiyonunun periferik lenfosit sayısı üzerindeki etkisi ile ilgili çelişkili veriler vardır, ancak RV enfeksiyonu sırasında hem nazal mukozada hem de nazal sekresyonlarda, T lenfosit sayısında ılımlı bir şekilde artış gözlenmiştir, nazal mukozada birkaç B lenfosit varlığı bildirilmiştir[12]. RV'ün, siliyer epitelyal hücrelere girişi ve replikasyonu üzerine, çeşitli sitokinler (IL-1B, TNF, IL-8, IL-6, IL-11), kemokinler (Rantes, MCP-1, MP-10), vazoaktif peptitler (bradykinin) ve büyüme faktörlerinin (VFGF) salınmasına yol açan sinyal yolları aktive edilir. Sonuç olarak, inflamatuvar hücreler (lökositler, granülositler, monositler) aktive olur ve submukozayı istila eder [5].(Şekil 2.7.) RV enfeksiyonları genellikle kısa ömürlü olduğundan, bu nötralize edici antikorlar enfeksiyonun bitiminden sonra ortaya çıkar, fakat aynı tip virüslerin, yeni bir enfeksiyonundan korunmada önemli bir role sahiptirler. Bu humoral tepkinin, sadece küçük antikor çapraz reaksiyonu ile serotipe özgü olduğu ve aşı geliştirme çalışmaları için dezavantaj sağladığı görülmektedir[13]. Yapılan çalışmalarda doğal yolla enfekte olan insanlarda murin lenfoid dendritik hücrelerinde ve T-hücresi immünojenik antikor yanıtlarında, minör grup RV'ların bir bağışıklık yanıtını uyarmada majör grubundaki RV'lardan daha etkili olduğunu göstermişlerdir. Ancak bulaşma şekilleri ve soğuk algınlığı semptomlarını majör gruptakilere oldukça benzer bulmuşlardır[14,17].

Şiddetli ve tekrarlayan enfeksiyonlar, kötü interferon yanıtları, alerjiler veya astım öyküleri, sigara gibi hava kirleticilerine maruz kalma, kötü beslenme ve stres gibi çeşitli çevresel ve genetik faktörlerle ilişkilendirilmiştir. Spesifik RV tipleriyle reenfeksiyon oranları, bazı RV enfeksiyonu vakalarında, immünitenin gelişmediğini ya da önceden var olan immünitenin korunamadığını göstermektedir[25].

2.9. Rhinovirusların Epidemiyolojisi

Dünya Sağlık Örgütü'nün raporuna göre 2012 yılında gelişmekte olan ülkelerde, 5 yaşın altındaki çocuklarda 6,6 milyon mortalitenin % 15'ini (en yüksek ölüm oranı ile) akut solunum yolu enfeksiyonları oluşturmaktadır[6]. Akut solunum yolu enfeksiyonlarının % 50'den fazlasından sorumlu olan viruslar içinde en sık RV, RSV, influenza ve parainfluenza viruslar yer alır. Rhinovirusların soğuk algınlığı olgularının yaklaşık yarısında etken oldukları bilinmektedir[42]. Solunum yolu enfeksiyonlarının hafif hastalık seyrine rağmen,

iş kaybı da dikkate alındığında ekonomik maliyeti oldukça yüksektir. Yapılan bir araştırmada, solunum yolu enfeksiyonlarının ekonomik etkisi, doğrudan ve dolaylı olarak yıllık maliyeti 40 milyar dolar olarak hesaplanmıştır[24].

Rhinoviruslar en yaygın solunum yolu virüsleridir ve her yıl milyarlarca insanı enfekte eder. Akut üst solunum yolu hastalıklarının (soğuk algınlığı) en az yarısından sorumludurlar. Soğuk algınlığına ek olarak, RV enfeksiyonları, asemptomatik enfeksiyondan bronşiyolit, pnömoni ve astım alevlenmeleri gibi ciddi alt solunum yolu hastalıklarına varan çeşitli klinik sonuçlara neden olur[4]. Rhinovirus enfeksiyonlarının çoğu toplum kaynaklıdır. Bununla birlikte, hem hastaları, hem yakınlarını hem de personeli etkileyen birkaç hastane ve kurumsal salgın bildirilmiştir[17].

Dünya çapında rhinovirus enfeksiyonu bütün mevsimlerde ve her yaş grubunda görülebilir[3]. Çocuklar RV için kaynak kabul edilir, yılda 8 ila 12 kez üst solunum yolu enfeksiyonu yaşayabilirler, yetişkinler ise yılda 2 ila 3 kez enfeksiyon geçirirler[13]. Serolojik bir çalışmada, farklı serotipler için nötralize edici antikorların sayısının 35 yaşına kadar arttığı ve artan yaş ile beraber yeni serotiplere yoğun maruziyeti yansıtan sonuçların olduğu gözlenmiştir[27].

Rhinoviruslar tüm dünyada yaygın olarak görülmekle birlikte, ılıman iklimlerde genellikle sonbaharın erken ve ilkbaharın geç aylarında daha sık görülmektedir. Mevsimsel değişiklikler yaşam bölgelerindeki nem miktarının artması, okul ve kreş dönemleri gibi sosyal olaylar rhinovirusların yayılmasını kolaylaştırabilmektedir[2]. Rhinovirus gibi zarfsız virüslerin yüksek nem koşullarında hayatta kalmaları daha kolaydır. Ancak, grip virüsü gibi zarflı virüslerde düşük nem ortamında hayatta kalabilirler. Rhinoviruslardan kaynaklanan soğuk algınlığının kuzey yarım kürede pik yaptığı ay eylül'dür, daha sonraki aylarda bu oran azalır. Geç sonbahar, kış, erken ilkbahar döneminde düşük seyrederek, nisan ve mayıs aylarında yani geç ilkbahar döneminde 2. bir RV enfeksiyonu artışı gözlenir. Yaz aylarında soğuk algınlığı insidansının düşük olmasına rağmen, RV bu mevsimde ortaya çıkan soğuk algınlığına bağlı hastalıkların % 50'si kadarını oluşturmaktadır[12]. Wisconsin ABD'de yapılan bir çalışmada, rhinovirusun kış aylarında ciddi hastalıklara neden olması olasılığı daha yüksek olduğu bulunmuştur. Subtropik bölgede bulunan Hong Kong'da da ılıman iklime sahip bölgelerdeki mevsimsel dağılımın benzerliği görülsede yapılan bir çalışmada, kritik hastalardaki rhinovirus enfeksiyonunun en sık olarak yaz ve kış aylarında

meydana geldiği sonbaharda ve ilkbaharda nispeten daha az vaka bulunduğu rapor edilmiştir. Kış mevsiminde şiddetli rhinovirus enfeksiyonun, düşük sıcaklıkta, daha az tip I ve tip III interferonların uyarılması nedeniyle olabileceği düşünülmektedir[17].

Diğer RNA virüsleri gibi, RV suşlarının, viral RNA sentezini katalize eden RNA-bağımlı RNA polimeraz hataları nedeniyle genetik varyasyon göstermesi muhtemeldir. Ayrıca, negatif ipliklerin sentezi sırasında, rekombinasyona yol açan iplik geçişi, genetik varyasyonların olasılığını arttırarak RNA virüslerinde ortaya çıkabilmektedir. Belirli bir bölgede bir epidemik mevsim boyunca birkaç farklı serotipin eş zamanlı dolaşımı farklı suşlar arasındaki genetik çeşitliliğin olduğunu çarpıcı bir şekilde göstermiştir[27].

Soğuk algınlığı mevsiminde, belirli bir popülasyonda aynı anda birçok farklı serotip görülebildiği gibi epidemik suşlar birbirini takip eden mevsimlerde kalıcı olabilir, yeniden ortaya çıkabilir ancak genellikle yeni tanımlanmış serotipler baskın olarak görülebilmektedir[2,12,27].

Hastanede yatan çocuk ve yetişkin hastalarda RV -A, -B ve -C türlerinin tanımlanması; gelişen enfeksiyonların şiddeti arasındaki farklılıklar ve iyileşme oranlarının araştırıldığı bir çalışmada, birçok merkezden alınan verilerin sonucuna göre 1947 akut solunum yolu hastalığı nedeniyle hastanede yatan çocuk, 784 sağlam çocuk ile karşılaştırıldığında, 24-59 aylar arasındaki çocuklarda RV-A saptanma oranının yaklaşık 4 kat, 6 ila 59 aylık çocuklarda ise RV-C'nin saptanma oranını 2 kat daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Çalışma ayrıca her üç türün de klinik sonuçlarındaki benzerlikleri ortaya koymuştur. RV enfeksiyonlarının astım ve wheezing ile ilişkisi olduğu bulunmuştur[28].

Amerikada 5-30 ay arası çocuklar üzerinde yapılan bir çalışmada, RV-B; RV-A ve RV-C ye oranla, daha az oranda tespit edilmiştir. Asemptomatik çocuklar arasında RV-B saptanma oranının semptomatik çocuklardan daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu da RV-B'nin RV-A veya -C enfeksiyonlarından klinik olarak anlamlı solunum yolu hastalığına neden olma ihtimalinin düşük olabileceğini göstermiştir[29].

Vietnam'daki bebeklerde meydana gelen bir salgında, yoğun bakım ünitesine alınan 12 akut solunum sıkıntısı olan bebeğin 7' si ölmüştür. Bu durum astım ve immun sistemi baskılanmış kritik hastalarda ölüm oranının yüksek olabileceğini göstermiştir[17].

Rhinovirus enfeksiyonunda, hastalığın şiddeti üzerinde; konağın duyarlılığı, viral ve çevresel faktörler, RV'un türü gibi etkenlerin etkisi bulunmaktadır ve bu etkenler bebeklikte daha şiddetli RV enfeksiyonu geçirme riskini belirlemektedir[4]. Epidemiyolojik çalışmalarda multipleks tanılama tekniklerinin geniş kullanımı, RV ile hastalık arasındaki ilişkide, kopatojenleri tanımlamada daha fazla bilgi sağlamıştır. Avrupada yapılan bir çalışmada; radyolojik olarak toplum kökenli pnemonisi olan 14 yaş altındaki çocuklarda yapılan bir araştırmada, % 29'unda RV ve %40'ında 2 veya daha fazla virus görülmüştür. Eşzamanlı viral enfeksiyon, bir yaştan altındaki bebeklerde daha sık görülmesine rağmen, bu olgularda klinik şiddeti arttırmamıştır[28].

2.10. Rhinovirusların Tanısı

Rhinovirus enfeksiyonları tanısı genellikle klinik olarak kolay konulduğu için laboratuvar tanısına ihtiyaç duyulmamaktadır[1].

Rhinoviruslar, doğal yolla kazanılmış enfeksiyonlarda semptomlar başlamada 1 gün öncesi ile 6 gün sonrasına kadar izole edilebilirler, fakat viral atılma en fazla hastalığın 1. ve 2. gününde gerçekleşir. Rhinovirusun, üst solunum yolları enfeksiyonları tanısı için; viral dökülme en yüksek titrede burundan olduğu için boğaz örneklerinden ziyade nazal örneklerin alınması daha uygun olmaktadır. Alt solunum yolu enfeksiyonları tanısı içinde bronşial yıkama sıvısı, bronkoalveolar lavaj ve endotrakeal aspirat örnekleri kullanılabilir[10,24]. Sürüntü almak için dacron yada rayon uçlu steril silgiç kullanılır ve alınan solunum yolları örnekleri çalışma süresine (en fazla 2 güne kadar) kadar +4° C'de tutulmalı, transferi sırasında 2 günden fazla gecikmeler bekleniyorsa, -70° C'de dondurulmalı ve kuru buz üzerinde gönderilmelidir[30].

2.10.1. Elektron mikroskopisi

Elektron mikroskopisinde klinik örnekler kontrast oluşturmak amacıyla metal iyonlarıyla kaplanarak veya boyanarak yada süspansiyonlar hazırlanılarak incelenebilirler[2]. Son yıllarda elektron algılama ve görüntü işleme yaklaşımlarındaki gelişmelerle, tek parçacıklı kriyoelektron mikroskobu, moleküllerin atomik çözünürlük yapılarını belirlemek için iyi bir yöntemdir. Kriyoelektron mikroskobu, yoğunlaştıra yapılmadan az miktarda örnekle,

X-ışını kristalografisinde, üretimi zor olan numunelerin yapısal çalışmalarında avantajlar sunar[33].

2.10.2. Hücre kültürü

Rhinoviruslar ilk olarak maymun böbrek hücrelerinden izole edilmiş olsa da, bu hücreler sadece bazı suşların büyümesini desteklemektedir. İnsan fetal embriyonik akciğer fibroblast hücre dizileri, bazı HeLa (Henrietta Lacks) hücre klonları ve insan embriyonik böbrek hücre dizileri klinik laboratuvarlarda RV kültürü için yaygın olarak kullanılır. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, RV ile enfekte olan duyarlı HeLa hücrelerinin, viral RNA sentezi, transkripsiyon, protein işleme, hücre içi protein lokalizasyonu ve konakçı hücre fonksiyonlarının bozulması aşamalarının saptanabilmesi için insan bronşial epitel hücrelerine kıyasla daha iyi bir model olduğu gösterilmiştir[24]. Geleneksel olarak rhinovirusların tespiti için hücre kültüründe virüs izolasyonu ve bunu takiben enteroviruslardan ayırmak için asit duyarlılık testi uygulanmıştır. Rhinoviruslar en iyi gelişimlerini insan dokularında gösterirler. Rhinovirusların hücre kültürleri için 33°C-34°C gibi düşük bir inkübasyon sıcaklığı, nispeten düşük bir pH ve kültür tüplerinin yavaş rotasyonu gereklidir[27]. Son yıllardaki çalışmalar rhinovirusların ısıya olan duyarlılığının, sadece 33°C de değil 37°C de de gelişim gösterebilmeleri nedeniyle her kökene uygun olmayabileceğini ortaya çıkarmıştır[10]. Konvansiyonel kültürler 14 güne kadar inkübe edilir ve uygun hücre hatlarında sitopatik etki (CPE) temelinde olası bir tanımlama yapılır ancak görünüş enteroviruslar ile aynı veya çok benzerdir[24]. Rhinovirusun klinik örneklerde tahmini tanısında; asit pH'ya olan duyarlılığı, lipid yapılı zarflarının olmamasından ötürü kloroform ve eter gibi lipid çözücülere direnci kullanılabilen özellikleridir[10].

Klinik laboratuvarlarda HELF serileri WI-38 ve MRC-5 hücreler sıklıkla kullanılmaktadır. WI-38 hücreleri MRC-5 hücrelerinden daha duyarlı ancak MRC-5 hücreleri de klinik laboratuvarlar için daha kolay elde edilebilir. Araştırma ünitelerinde rhinovirus replikasyonu için HeLa M, Ohio HeLa hücreleri, HeLa H, HeLa r-19 ve HeLa I gibi HeLa hücre klonları kullanılabilmektedir. Rhinovirusların CPE etkileri 24-48 saat gibi erken zamanda görülebilsede genellikle 4 gün içinde ortaya çıkar. HeLa hücre kültürlerinde CPE görülmeden önce ve identifikasyon testlerinde de tanımlama başarısını artırma açısından hücre kültürünün pasajlanması gerekebilir[10,12].

Hücre kültüründe RV büyümesinin nispeten zorluğu, solunum sıvılarında düşük RV konsantrasyonu ve enfeksiyonun akut fazı sırasında sonuç verememesi nedeniyle bu yöntemler klinik kullanım için uygun değildir[3,12].

2.10.3. Antijen saptama

Rhinovirusların tümü için kullanılabilecek ortak bir antijenin olmaması ve giderek artan sayıda serotipinin tanımlanması; antijene dayalı tanı testlerinin laboratuvarlarda rutin olarak kullanılmasına engel olmuştur.

Deneyisel çalışmalarda RV antijenlerini tespit etmek için immun floresan-antikor (IFA) ve immünoperoksidaz yöntemleri kullanılmıştır. Bununla birlikte, bu teknikler genellikle serotipe özgüdür. Rhinovirus antijeni için ticari olarak temin edilen kitler mevcut değildir[12]. Enzim immün assay testleri (EIA) düşük duyarlılık ve sınırlı reaktiviteleri sebebiyle artık kullanılmamaktadır[10].

2.10.4. Serolojik yöntemler

Serotiplendirmeye nadiren ihtiyaç duyulsada; bunun için özgül nötralizan serum havuzları kullanılabilmektedir. Tipe özgü antikorlarla nötralizasyon testi tanımlama amaçlı yapılabilir. Çok sayıda RV serotipi göz önüne alındığında serolojik testler pratik değildir[2,3]. Nötralizasyon testi için hiperimmün RV antiserumları çeşitli hayvan türlerinden üretilmiştir. Bir RV serotipinin belirlenmesi için geleneksel yöntem, 20 U antikor içeren bir antiserum konsantrasyonu ile 10 ila 300 TCID virusü içeren bir virus inokülümünün nötrleştirilmesidir. Epidemiyolojik çalışmalar RV serotipinin tanımlanması için, bir mikrotitrasyon sistemine uyarlanmış bir yöntemle toplanan antiserum kullanılarak yapılmıştır[12]. Antikor düzeyleri, nötralizasyon, plak redüksiyonu, kompleman fiksasyonu ve enzim bağlantılı immünosorbent analizleri (ELISA) ile araştırma çalışmalarında hem serum hem de nazal sekresyonlarda saptanabilmektedir[24].

2.10.5. Moleküler yöntemler

Picornavirusleri saptamak için PCR, hassas ve spesifik bir yöntemdir. Bu yöntemde, rhinoviral veya enteroviral genomun korunan bölgelerine yönelik probalar kullanılarak çok fazla serotipleri tanımlayabilmek mümkündür[3]. Ters transkriptaz-PCR (RT-PCR),

1988'de rhinovirus tanısında kullanılmaya başlamıştır. Ardından, yaklaşık 20 farklı rhinoviral RT-PCR uygulaması tarif edilmiştir. Bunlar birçok laboratuvar da yaygın olarak kullanılmıştır ve rhinoviral enfeksiyonların hem tanısı hem de epidemiyolojik çalışmaları için hassas ve uygun yöntemler olduğu kanıtlanmıştır[27]. Rhinovirusun enterovirusden ayırt edilmesinde zorluklar yaşanmıştır. 5' UTR, yüksek duyarlılık nedeniyle rhinovirusun saptanması için en popüler hedeftir. Bununla birlikte, dizileme olmaksızın 5' UTR'yi hedef alan RT-PCR, rhinovirus ve enterovirus arasındaki ayrımı güvenilir bir şekilde yapamamaktadır, çünkü rhinovirus ve enterovirus arasında farklı olan, ancak tüm rhinovirus türleri arasında aynı olan primer hedef bölgelerinin bulunması oldukça zordur[17]. Rhinovirusları enteroviruslardan ayırmak için, ampikon boyutu ve dizilimi, restriksiyon fragman uzunluğu polimorfizmi, rhinovirus-spesifik problemlerle hibridizasyon, rhinovirus-spesifik primerler ile (yarı) nested-PCR, real time RT-PCR ve sekanslama gibi yöntemlere ihtiyaç duyulur[24,27]. PCR'nin keşfinden beri, bir çok araştırmacı rhinovirusu daha iyi tanımlamak amacıyla farklı genleri ve translasyona uğramayan bölgeleri amplifiye etmek için PCR kullanmışlardır. Virusün VP1 veya VP4 geninin amplifikasyonu ve dizi analizi ile RV alt tiplere ayrılmıştır; RV-A, RV-B ve daha yeni keşfedilen RV-C tanımlanmıştır. VP4 dizi verileri genellikle daha kolay bir şekilde elde edilir ve farklı RV gruplarını kolayca ayırt ederken, VP1 dizisi genellikle bir grup içindeki virüslerin RV suş karşılaştırmaları için daha güçlü veriler sağlar[24]. Son zamanlarda, klinik örneklerde tek tek RV serotiplerinin ve suşlarının hızlı bir şekilde tanımlanması için moleküler tipleme analizi yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemde, dizi belirleme için rhinoviral genomun 5'-UTR'sinde 260-bp'lik değişken bir bölgesini çoğaltmak amacıyla duyarlı pan-RV primerleri ve seminated PCR kullanılmıştır. Daha sonra serotip veya suş, bilinen serotiplerin homolog referans dizilerine filogenetik karşılaştırmaları ile belirlenir. Rhinovirus patogenezi çalışmalarında enfekte kişilerin solunum yollarındaki viral replikasyonun gerçekleştiği bölgeleri ve hücre tiplerini tespit etmek amacıyla spesifik problemler kullanılarak in situ hibridizasyondan yararlanılmıştır[12]. Yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar, gerçek zamanlı PCR'in, hücre kültür yöntemleri ve konvansiyonel PCR'den daha duyarlı olduğunu göstermektedir[34].

Kantitatif real time PCR testleri kullanımıyla yüksek viral yük ile semptomatik hastalık arasındaki korelasyon, kantitatif testleri çekici hale getirmiştir. Şu anda piyasada çok sayıda ticari kantitatif testler bulunmaktadır[24]. Yapılan çalışmalarda elde edilen moleküler sonuçlar MDTH (Molecular distance to health score) klinik hastalık şiddeti ile

anlamalı bir şekilde ilişkili bulunmuş. Semptomatik RV enfeksiyonu olan bebeklerde sağlıklı ve asemptomatik bebeklere oranla anlamalı olarak daha yüksek moleküler sonuçlar saptamışlardır. Asemptomatik RV enfeksiyonu olan bebekler sağlıklı kontrollerle benzer bulunmuştur[16]. Rhinoviruslar gibi bir çok solunum yolu virusü film array yöntemiyle kısa zamanda ve güvenilir bir şekilde tespit edilebilmektedir[46].

Son yıllarda geniş çaplı multipleks PCR testlerinin kullanım kolaylığı sayesinde solunum yolu virüs paneli testleri ile yeni bir döneme girmiştir. Daha önce sadece kapsamlı moleküler laboratuvarlarında test edilebilen çok sayıda ajan, çoğu mikrobiyoloji laboratuvarına hızla tespit edilebilmektedir. Rhinovirusun daha ciddi klinik hastalıklarda tespit edilmesi ile ilgili çalışmalar, multipleks PCR panellerine RV'un dahil edilmesinin önemini ortaya çıkarmıştır[24].

2.11. Tedavi ve Korunma

Bugüne kadar rhinovirusların sınırlı hastalık kapasitesi, kısa süreli oluşu ve düşük riski bu hastalıkta alternatif ilaçların kullanımı konusunda çok da ilgi yaratmamıştır[12]. Rhinovirus enfeksiyonunun tedavisinde virüsün tutunma, soyulma, RNA replikasyonu, viral protein sentezi gibi spesifik virüs fonksiyonunu hedef alan küçük molekülü inhibitörler üzerinde detaylı çalışmalar yapılmıştır[23]. Rhinovirus enfeksiyonlarında reseptör bağlanmasını önlemek, kapsiti stabilize etmek ve kanyonun konfügurasyonunu değiştirmek için α -interferonlar, kapsit bağlama maddeleri, pleconaril ve izoksazol türevleri, proteaz inhibitörleri bulunmaktadır. Ancak kullanım zamanı ve etkinliği tam olarak açık değildir. Üç-C (3C) proteazlarda inhibitör işlevi gördüğü düşünülen çinko ve fitokimyasal bileşimlerde kullanılan ekinezya göreceli yararlı etkileri nedeniyle virüs tedavisinde denenmiştir[12].

Kapsit bağlama maddeleri, virionun stabilitesini artıran ve hücrel reseptör ile etkileşime girme kabiliyetini engelleyen bir konformasyonel değişikliği uyarır. Bunlar viral kapsidin hidrofobik cebine bağlanarak etki gösterirler[24].

Pleconaril, rhinoviruslara karşı klinik deneylere tabi tutulan ilk antiviral olmuştur. Plasebo grubu ile yapılan bir çalışmada, pleconarilin ilk 24 saat içinde alınması halinde,

semptomların süresi plasebo grubuna göre anlamlı olarak daha kısalmıştır. Bununla birlikte çeşitli yan etkilerinden dolayı güvenlik endişeleri yaratmıştır[17].

Vapendavir, RV'un VP1 kapsid proteinine bağlanan ve böylece viral RNA'nın hedef hücreye salınmasını önleyen yeni bir ilaçtır. Rhinovirus-A ve -B serotipleri için uygulanmış ancak -C serotipleri için kullanılmamıştır[24].

Pirodavir 1990'larda rhinovirusun önlenmesi ve tedavisi için 3. aşama klinik çalışmalara ulaşan bir burun içi bağlayıcı ajandır. Bileşik, viral replikasyon ve viral dökülmeyi azaltsa da, semptomların süresi veya şiddetinde önemli bir azalma gösterememiştir[24].

Diğer potansiyel antiviral hedefler proteaz proteinleridir. Rupintrivir, rhinovirus 3C proteazın bir inhibitörüdür. Klinik çalışmalarda, deneysel rhinovirus enfeksiyonunun önlenmesi ve tedavisinde intranazal rupintrivir spreyi etkili olmuştur. Bununla birlikte, daha sonraki doğal enfeksiyon çalışmalarında, viral yükte veya hastalık şiddetinde belirgin bir azalma olmamıştır[17].

Rhinovirus serotiplerinin yaklaşık % 90'ı, duyarlı konakçı hücrelere bağlanmak için ICAM-1 reseptörünü kullanır. Bu gruplarda ICAM-1'in, sICAM-1 çözünür formlarını kullanarak reseptör blokajı ile virüs bağlanmasının önlenmesi amacıyla burun spreyi ve inhalasyon tozu olarak formüle edilen Tremacamra'nın deneysel olarak hastalara virüs saldırısından 7 saat önce veya 12 saat sonra ve daha sonra 7 gün boyunca günde 6 kez kullanılması ile soğuk algınlığının şiddetini azalttığı gösterilmiştir. Bu ajanlar için şu anda gelişme kaydedilememiştir[23].

Rhinovirus soğuk algınlığı için antiviral kemoprofilaksi, pratik olabilir, ancak kanıtlanmış etkinliğe sahip ticari bir ürün mevcut değildir. Rhinovirus profilaksisinde alfa-interferonlar kullanılabilir[12]. İmmünomodülatör etkileri olan İnterferonlar, enfeksiyona karşı konakçı hücre duyarlılığını etkileyen antiviral, antiproliferatif ve immünolojik etkiye sahiptir. Tüm bu etkiler, hücre reseptör sinyal transdüksiyon yollarına aracılık eder. Sınırlı klinik yarar ve nazal mukozal kanama dahil olmak üzere yan etkiler göz önüne alındığında, burun içi interferonlar RV enfeksiyonları tedavisinde kabul görmemiştir[24].

Rhinovirus enfeksiyonunda topikal yada oral kullanılan adrenerjik ajanlar, antihistamin-dekonjestanlar semptomları azaltmaya yönelik tedaviler uygulanmaktadır. Yetişkinlerle yapılan çalışmalarda burun tıkanıklığı, burun akıntısı ve ağrı semptomlarını (boğaz ve baş ağrısı) azaltmada etkinliği gösterilmiş, ancak çocuklarda yararlı etkiler gösterememenin yanı sıra kullanımları ile ilgili potansiyel yan etkilerinin dikkate alınması gerektiğinde ortaya konmuştur[12].

Antifungal ilaç itrakonazolun rhinovirus dahil Picornaviridae ailesindeki çeşitli virüslere karşı antiviral aktiviteleri olduğu bulunmuştur. Rhinovirus üzerindeki antiviral etki, oksistein bağlayıcı proteinin (OSBP) inhibisyonuna dayanmaktadır. Oksistein bağlayıcı proteinin, kolinatrol ve PIP4; ER.(endoplasmik retikulum) ile Golgi arasında, rhinovirus replikasyonu için önemli olan yer değiştirmede rol oynamaktadır. Bir çalışmada, itrakonazolün oral uygulaması enfekte olmuş farelerin akciğerinde rhinovirus replikasyonunu azaltmıştır. Enfeksiyondan önce nazal itrakonazol, uygulamasının da farelerde iyi bir koruma olduğunu gösterilmiştir. Rhinoviruslara karşı antiviral aktivitesi olan bir başka klinik olarak onaylanmış ilaç, bir anti-helminth ilacı olan niclosamidedir. Niclosamide asidik endozomu nötralize ederek viral girişi inhibe eder[17]. Rhinovirus serotiplerinin çok sayıda olması, virus antijenlerinde belirgin değişikliklerin oluşması (antijenik drift), salgısal IgA üretimine gerek duyulması, uzun süren bir immün yanıtın oluşmaması ve genel olarak şimdiye kadar ağır bir hastalığa neden olmadığının düşünülmesi nedeniyle aşı çalışmaları üzerinde çok fazla durulmamıştır[1,2]. Ancak son yıllarda rhinovirusa karşı oluşturulacak aşilar ile ilgili çalışmalar artmış ve farklı rhinovirus serotiplerine karşı koruyucu bağışıklığı indüklemek için iki ana strateji geliştirilmiştir. Elli rhinovirus serotipi içeren bir polivalent inaktif rhinovirus aşısı, rhesus maymunlarda test edilmiştir ve geniş bir alt tip aralığına karşı güçlü nötralize edici antikor cevap uyandırdığı gösterilmiştir. Başka bir yaklaşım, aşı antijeni olarak rhinovirusun korunmuş bir bölgesini, T hücresi yanıtını arttıran bir yardımcı madde ile birlikte kullanmaktır. Bir fare modelinde, rekombinant rhinovirus-16 VP0 proteini ile tamamlanmamış freund ve CpG adjuvanının immünizasyonu; hem homolog hem de heterolog serotiplere karşı nötralize edici antikorlar ve akciğer hafızası T hücrelerinde bir artış sağlamıştır. Bu adjuvanlanmış VP0 aşısı ile immünize edilen fareler, immünize olmayan farelere kıyasla daha hızlı viral klirens göstermiştir[17].

Gelecek 30 yıl boyunca, hücresel ve moleküler biyolojideki bilimsel ilerlemeler ve türe özgü farklılıklar konusunda devam eden araştırmalar, bir RV aşısının geliştirilmesinde yeni bir ilgi ve umut doğurmuştur[25].

Rhinovirusun önlenmesi için profilaksi ve aşılama geliştirme çabaları başarısız olmuştur. Solunum yolu viral bulaşını azaltmak için davranışsal stratejiler arasında sosyal uzaklaşma, solunum maskelerinin kullanımı ve el hijyeni bulunmaktadır. Sosyal uzaklaşma günümüz toplumlarında oldukça zordur. Ancak sosyal uzaklığın etkili bir halk sağlığı koruma önlemi olabileceği ve salgın hastalığın bulaşıcılığına bağlı olarak salgın hastalık oranlarını % 90'a kadar azaltabileceği gösterilmiştir. Ayrıca maske kullanımında enfeksiyonu sınırlamada etkin olduğu görülmüş özellikle sağlık çalışanları arasında maskelerin kullanılması, solunum yolu virus bulaşmasını azaltmaktadır[24]. Enfeksiyonda en önemli etken nazal sekresyon ile kontamine ellerin konjuktivaya inokulasyonudur. Bunun için el yıkama ve dezenfeksiyon virusün yayılımının önlenmesinde en uygun uygulamalardır. Rhinovirus yayılımını sınırlamak için sitrik asit emdirilmiş virusidal yüz mendilleride kullanılabilir[2,24]. Virusidal ajan kullanılarak ellerde virusün yok edilmesi RV enfeksiyonunun önlenmesi için doğru bir yaklaşımdır. Etanol (%62 oranında) içeren el dezenfektanları bu amaç için kullanılabilir[12].

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Örneklerin Toplanması

Çalışmamızda Şubat 2016-Ocak 2017 tarihleri arasında, Gazi Üniversitesi Araştırma Hastanesine başvuran ve pediatrik enfeksiyon, pediatrik yoğun bakım ve yenidoğan yoğun bakım ünitelerinden solunum yolu enfeksiyonu bulguları olan, 0-17 yaş arasındaki 84 olgu incelendi. Yaş gruplarına göre dağılımı 1 yaş altı %34,5 (29), 1-3 yaş arası %31 (26), 4-6 yaş arası %20,2 (17), 7-9 yaş arası %4,8 (4), 10-12 yaş arası %2,4 (2), 12 yaş üstü %7,1 (6) dır. Gelen hastaların 46'sı erkek (%54,8) 38'i kadın (%45,2) dır. (Çizelge 3.1.) . Örneklerin % 18'i (15) kış , %38'i (32) ilkbahar %23'ü (19) yaz ve 21'i (18) sonbaharda gelmiştir. Örnekler; yaş, cinsiyet, mevsim ve altta yatan hastalıklar açısından değerlendirilmiştir. Nazofarengeal sürüntüler FLOQ Swabs (Copan Diagnostics, İtalya) çubuğu ile alınmış besiyeri içerisine (UTM-RT transport, Copan Diagnostics, İtalya) konulmuş ve çalışma süresine kadar -80° C' de saklanmıştır.

Çizelge 3. 1. Hasta sayılarının yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş grupları	Erkek		Kadın		Toplam	
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde
<1 Yaş	19	%41,3	10	%26,3	29	%34,5
1-3 Yaş	15	%32,6	11	%28,95	26	%31
4-6 Yaş	6	%13,1	11	%28,95	17	%20,2
7-9 Yaş	3	%6,5	1	%2,6	4	%4,8
10-12 Yaş	-	%0	2	%5,3	2	%2,4
12< Yaş	3	%6,5	3	%7,9	6	%7,1
TOPLAM	46	%100	38	%100	84	%100

Çalışmaya alınan hastaların 22'si (%26,2) yenidoğan yoğun bakım ünitesinden, 9'u (%10,7) pediatri yoğun bakım ünitesinden, 53'ü (%63,1) pediatrik enfeksiyon bölümlerinden gelmiştir.

3.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

- Santrifüj (Hermle, Siemens, Almanya)
- Vorteks (RX, Velp Scientifica İtalya)
- Pipet seti (10-100-100 µl)
- Pipet ucu (10-100-1000 µl)
- Örnek rackları

3.3. Örneklerden Nükleik Asit Saflaştırılması

EZ1 mini kit (50) (Qiagen, Hilden, Almanya) içeriği

- Reaktif kartuşu
- Pipet ucu tutucusu
- Pipet ucu
- Örnek tüpü 2ml
- Elüsyon tüpü 1,5 ml
- Carrier RNA (Qiagen, Hilden, Almanya)
- Buffer AVE (Qiagen, Hilden, Almanya)

Örnekler -80 °C'den alınarak PCR yapılmak üzere oda ısısında çözündürülüp vorteks yapılmış 2ml'lik vidalı kapaklı tüpe 400 µl'lik bir kısmı ayrılmıştır. Nükleik asit

saflaştırılması işlemi için ticari bir otomatize sistem olan EZ1 virus mini kiti (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanılarak, EZ1 Advanced (Qiagen, Almanya) cihazında yapılmıştır. Cihaza pipet uçları, gerekli solüsyonların bulunduğu kartuş, 400 µl lik hasta örneği, içersinde 2 µl internal kontrol, 3,8 µl carrier RNA ve 54,2 µl buffer AVE içeren karışım ve boş elüsyon tüpleri yerleştirilerek elüsyon hacmi 90 µl olacak şekilde cihaz ayarlanmış ve çalıştırılmıştır.

3.4. Amplifikasyon ve Görüntüleme

Malzemeler (FTD Respiratory Pathogens 21, Siemens Healthieers, Malta)

- Soğutucu blok (Qiagen, Almanya)
- 0,1 ml'lik amplifikasyon tüpleri
- 0,5 ml'lik reaksiyon hazırlama tüpleri
- Pozitif kontrol (plasmid pool), (Fast-track mastermix, Malta)
- Negatif kontrol (Fast-track mastermix, Malta)
- İnternal kontrol (Fast-track mastermix, Malta)
- Primer/prob mix RT-PCR enzim mix (Fast-track mastermix, Malta)
- RT-PCR buffer (Fast-track mastermix, Malta)

İzole edilen örnekler, Rotor Gene Q (Qiagen, Hilden, Almanya) cihazında 21 viral patojeni saptayabilen Multipleks Real Time PCR yöntemi ile (FTD Respiratory Pathogens 21, Siemens Healthieers, Malta) çoğaltılmak üzere 5 ayrı primerli, enzim ve buffer dan oluşan karışım hazırlanmıştır.(Çizelge 3.2.)

Çizelge 3. 2. Amplifikasyon protokolü

Solüsyon	Miktar
RT-PCR Buffer (Fast-track mastermix)	12,5 µl
Primer/probe mix	1,5 µl
RT-PCR Enzim mix (Fast-track mastermix)	1 µl
Toplam	15 µl

Her hasta için bu karışımların her birinden 0,1 lik amplifikasyon tüplerine 15 µl konur ve üzerine hasta izolatlarında da 5 µl ilave edilerek cihaza yerleştirilip, amplifikasyon PCR döngü protokolüne göre çalıştırılmıştır. (Çizelge 3.3.)

Kitin belirlediği 21 etken ve RV için ayrı ayrı internal kontrol negatif ve pozitif kontroller kullanılmıştır. (Resim 3.1.) (Resim 3.2.)

Çizelge 3. 3. Solunum yolu örnekleri için PCR döngüsü

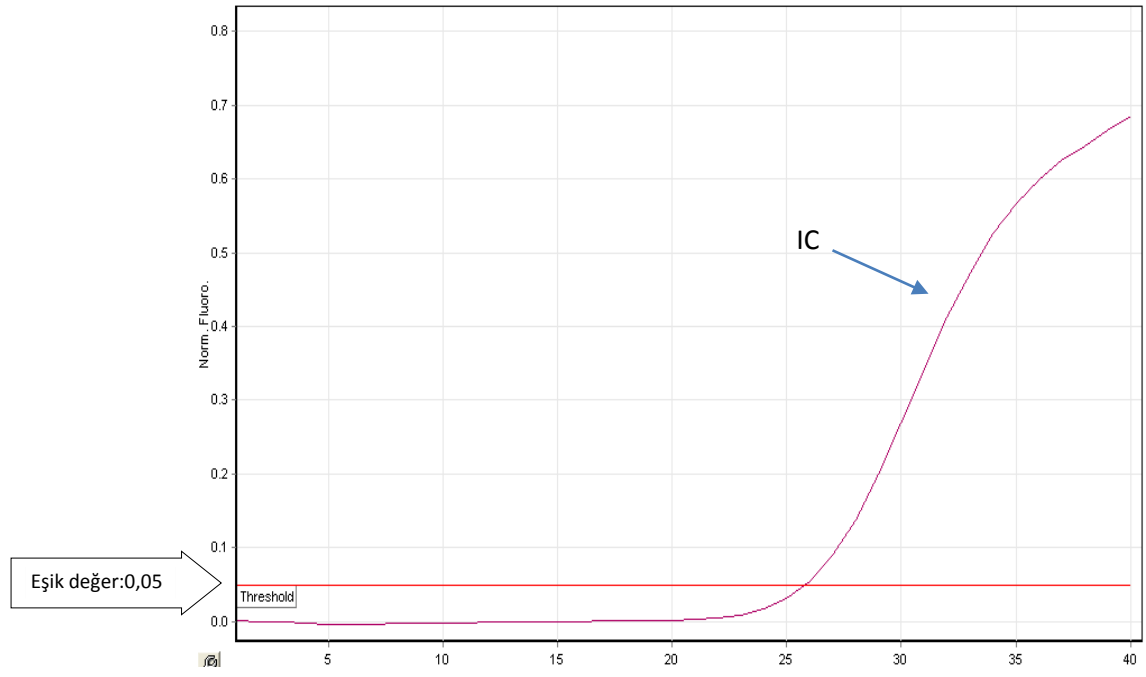
Program	Derece (°C)	Süre	Döngü
c-DNA sentezi	42 °C	15 dakika	1
Enzim Aktivasyonu	94 °C	3 dakika	1
Denatürasyon	94°C	8 saniye	40
Bağlanma, Uzama ve Deteksiyon	60 °C	34 saniye	

3.5. Sonuçların Yorumlanması

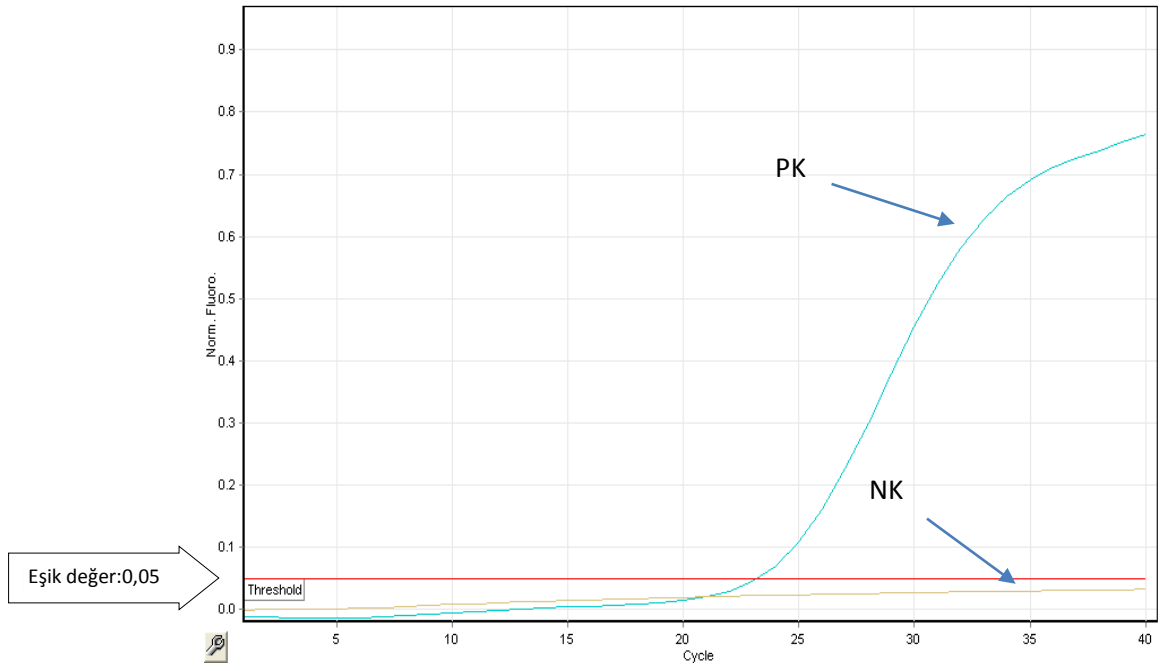
Sonuçlar 4 ayrı kanaldan 5 grup parametrelerin PCR eğrileri negatif ve pozitif kontroller ile birlikte değerlendirilerek sonuçlar yorumlanmıştır.(Çizelge 3.4.)

Çizelge 3. 4. Sonuç yorumlanmasında kullanılan kanallar ve dalga boyları

Primer/ProblarınMix Grubu	Etken	Boya	Dalga boyu
FLU grubu	İnfluenza A	Yeşil	520
	Human rhinovirus	Sarı	550
	İnfluenza B	Turuncu	610
	H1N1	Kırmızı	670
CORONA grubu	Human coronavirus 229 E	Yeşil	520
	Human coronavirus NL63	Sarı	550
	Human coronavirus HKU	Turuncu	610
	Human coronavirus OC43	Kırmızı	670
PARA grubu	Human parainfluenza 3	Yeşil	520
	Human parainfluenza 2	Sarı	550
	Human parainfluenza 4	Turuncu	610
	İnternal Kontrol	Kırmızı	670
BOCA grubu	Human parainfluenza 1	Yeşil	520
	Human metpneumovirus A/B	Sarı	550
	Human bocavirus	Turuncu	610
	Mycoplasma pneumoniae	Kırmızı	670
RSV grubu	Human respiratory syncytial virus A/B	Yeşil	520
	Human parechovirus	Sarı	550
	Enterovirus	Turuncu	610
	Human adenovirus	Kırmızı	670



Resim 3. 1. İnternal kontrol eğrisi



Resim 3. 2. Pozitif kontrol Negatif kontrol eğrisi

4. BULGULAR

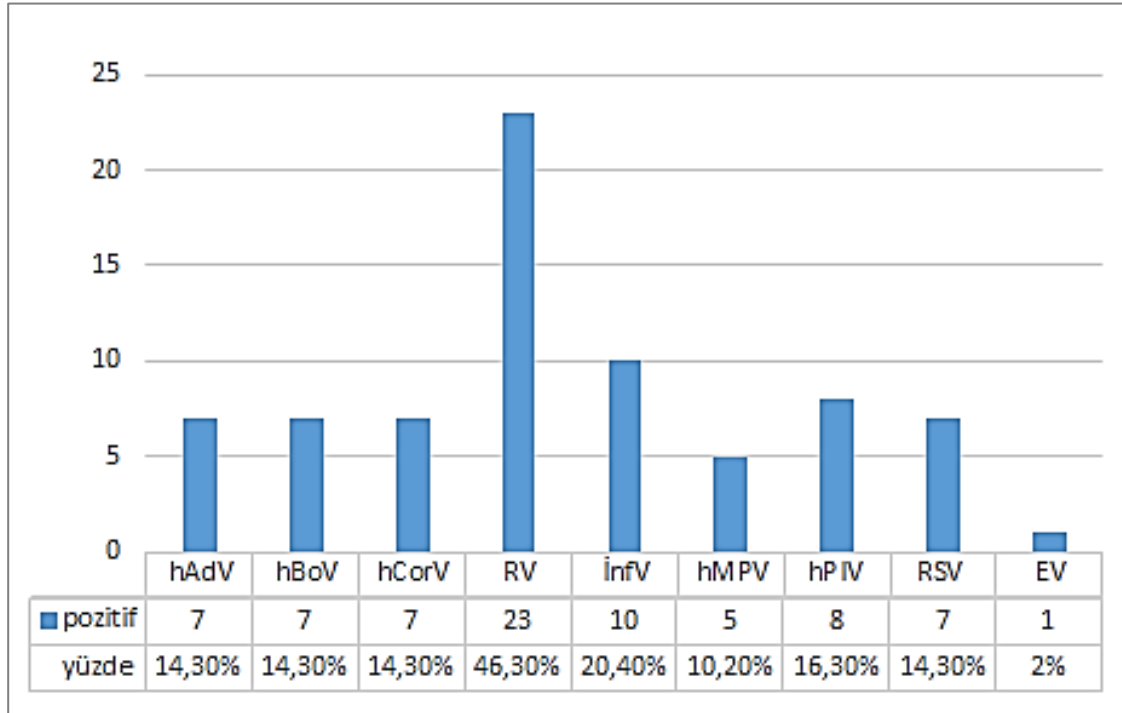
Çalışmamızda Şubat 2016- Ocak 2017 tarihleri arasında pediatrik enfeksiyon, pediatrik yoğun bakım ve yenidoğan yoğun bakım ünitelerinden gelen solunum yolu enfeksiyonu bulguları olan 84 hasta dahil edilmiştir.

Çalışmamıza dahil edilen 84 hastanın 49'unda (%58.3) en az bir solunum yolu virusü tespit edilmiş, 35'i (%41,7) ise negatif bulunmuştur. Gelen 84 hastanın 23'ünde (%27,4) rhinovirus pozitif bulunmuştur. Rhinovirus pozitifliği tespit edilen 23 hastanın, 13'ünde (%15,5) tek başına, 10'unda (%11,9) başka viral etkenlerle beraber pozitif tespit edilmiştir.(Çizelge 4.1.) (Resim 4.1)

Çizelge 4. 1. Rhinovirus pozitif ve diğer pozitif hastaların dağılımı

Sonuç	Sayı (n)	Yüzde (%)
RV tek başına pozitifliği	13	%15,5
RV diğer viral etkenlerle beraber pozitifliği	10	%11,9
Diğer viral etkenlerin tek başına ya da çoklu pozitifliği	26	%30,9
Negatif	35	%41,7
Toplam	84	%100

Pozitif etkenler arasında %20,4 (10/49) ile İnfluenza virüsler (İnfV), %16,3 (8/49) parainfluenza virüsler (hPIV), %14,3 (7/49) RSV, %14,3 (7/49) coronaviruslar (hCoV), %14,3 (7/49) bocavirus (hBoV), %14,3 (7/49) adenovirus (hAdV), %10,2 (5/49) metapneumo virüsler (hMpeV), %2 (1/49) enterovirus (EV) tek başlarına ya da diğer etkenlerle beraber pozitif tespit edilmişlerdir.(Şekil 4.1.)



Şekil 4. 1. Pozitif hastalarda saptanan virüslerin dağılımı

Rhinovirusun gönderilen bölümlere göre pozitiflik oranında; yenidoğan yoğun bakım kliniğinden gelen hastaların %14'ünde, pediatrik yoğun bakım kliniğinden gelenlerin % 56'sında ve pediatrik enfeksiyon kliniğinden gelenlerinde % 28'inde rhinovirus pozitifliği saptanmıştır. (Çizelge 4.2.)

Çizelge 4. 2. Rhinovirusun geldiği klinikler ile pozitiflik oranı

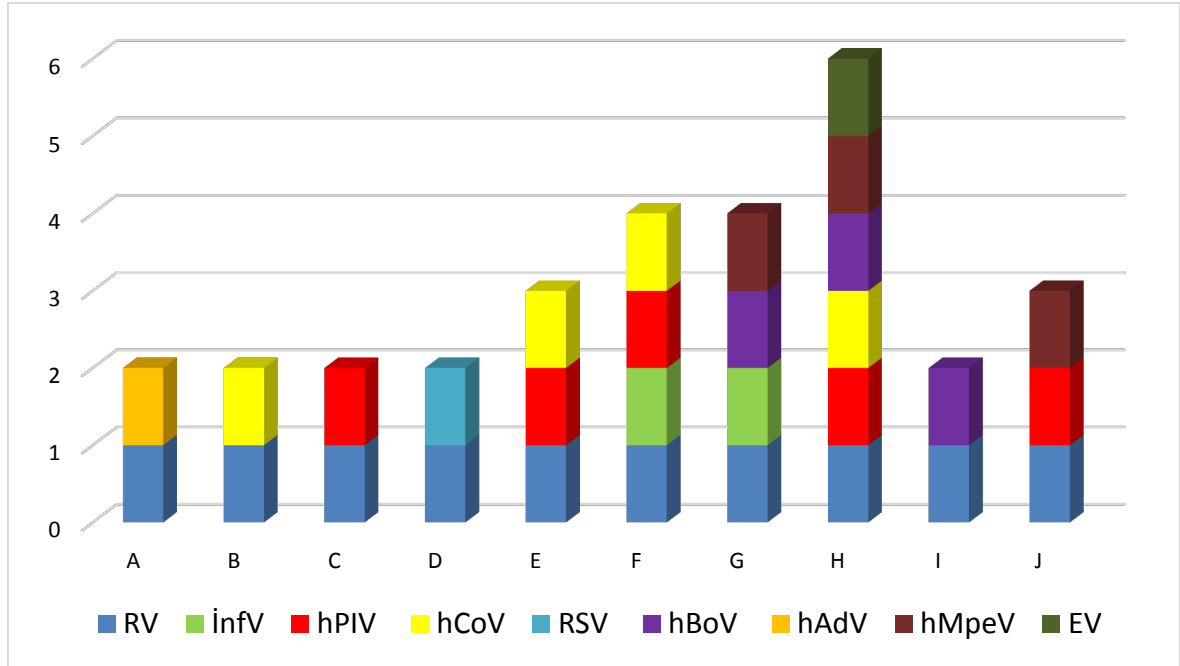
Geldiği Klinik	Pozitif		Negatif		Toplam
	Sayı(n)	Yüzde(%)	Sayı(n)	Yüzde(%)	Sayı(n)
Yenidoğan Yoğun Bakım	3	14%	19	86%	22
Pediatrik Yoğun Bakım	5	56%	4	44%	9
Pediatrik Enfeksiyon	15	28%	38	72%	53
Toplam	23	100%	61	100%	84

Rhinovirus ve diğer viral etkenlerle koenfeksiyonu olan hastalarda dağılıma bakıldığında (RV pozitifliği ile beraber) 5 (%50) hastada 2 viral etken, 2 hastada (% 20) 3 viral etken, 2 hastada (%20) 4 viral etken, 1 hastada da (%10) 6 viral etken bir arada saptanmıştır.(Resim 4.2.) (Resim 4.3.)

Rhinoviruslar ile koenfeksiyon en çok 5 hastada parainfluenza virüsler ile birlikte görülmüştür. Bunu sırasıyla 4 hastada coronaviruslar , 3 hastada bocavirus ve 3 hastada metapneumo virüsler takip etmiştir. (Çizelge 4.3.) (Şekil 4.2.)

Çizelge 4. 3. Rhinovirus pozitif hastaların diğer viral etkenlerle koenfeksiyonu

Rhinovirus Pozitif								
Hastalar	İnfV	hPIV	hCorV	RSV	hBoV	hAdV	hMpeV	EV
A						✓		
B			✓					
C		✓						
D				✓				
E		✓	✓					
F	✓	✓	✓					
G	✓				✓		✓	
H		✓	✓		✓		✓	✓
I					✓			
J		✓					✓	

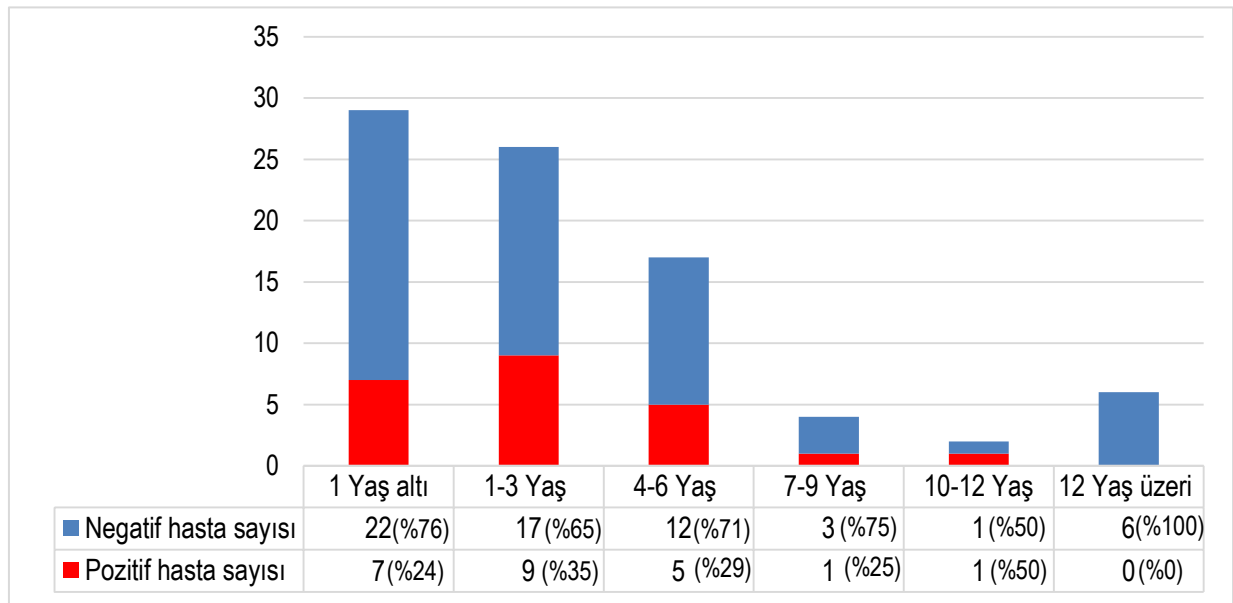


Şekil 4. 2. Rhinovirus pozitif hastaların diğer viral etkenlerle koenfeksiyonu

Gelen hastalardan 1 yaş altındakilerde %24,1 (7/29), 1-3 yaş arasındakilerde %34,6 (9/26), 4-6 yaş arasındakilerde %29,5 (5/17), 7-9 yaş arasındakilerde %25 (1/4), 10-12 yaş arasındakilerde %50 (1/2) oranında rhinovirus pozitifliği tespit edilmiştir. (Çizelge 4. 4.) (Şekil 4. 3.)

Çizelge 4. 4. Rhinovirus pozitif hastaların yaşlara ve cisiyetlere göre dağılımı

Yaş	Erkek n (%)		Kadın n (%)		Toplam	
	Poz	Neg	Poz	Neg	Poz	Neg
<1 Yaş	4 (%21)	15 (%79)	3 (%30)	7 (%70)	7 (%24)	22 (%76)
1-3 Yaş	3 (%20)	12 (%80)	6 (%55)	5 (%45)	9 (%35)	17 (%65)
4-6 Yaş	2 (%33)	4 (%67)	3 (%27)	8 (%73)	5 (%29)	12 (%71)
7-9 Yaş	1 (%33)	2(%67)	-	1 (%100)	1 (%25)	3 (%75)
10-12 Yaş	-	-	1 (%50)	1 (%50)	1 (%50)	1(%50)
12 < Yaş	-	3(%100)	-	3 (%100)	-	6 (%100)
TOPLAM	10 (%22)	36 (%78)	13(%34)	25(%66)	23 (%27,4)	61 (%72,6)

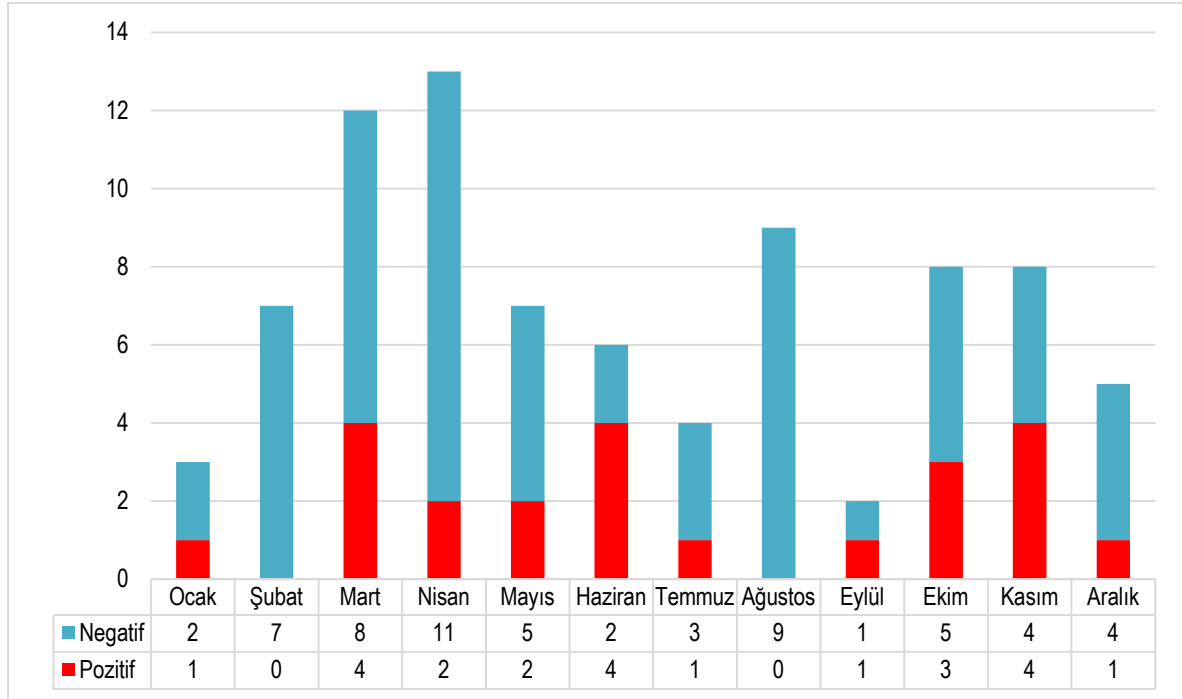


Şekil 4. 3. Rhinovirus pozitif çıkan hastaların yaşlara göre dağılımı

Rhinovirus pozitif bulunan hastaların aylara göre dağılımına bakıldığında Ocak ayında %33,3 (1/3), Mart'ta %33,3 (4/12), Nisan'da %15,4 (2/13), Mayıs'ta %28,6 (2/7), Haziran'da %66,7 (4/6), Temmuz'da %25 (1/4), Eylül'de %50 (1/2), Ekim'de %37,5 (3/8), Kasım'da %50 (4/8) ve Aralık ayında da %20 (1/5) oranında tespit edilmişlerdir. (Çizelge 4.5.) (Şekil 4.4.)

Çizelge 4. 5. Rhinovirus pozitif çıkan hastaların aylara göre dağılımı

Aylar	Pozitif		Negatif		Toplam
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	
Ocak	1	%33,3	2	%66,7	3
Şubat	0	%0	7	%100	7
Mart	4	%33,3	8	%66,7	12
Nisan	2	%15,4	11	%84,6	13
Mayıs	2	%28,6	5	%71,4	7
Haziran	4	%66,7	2	%33,3	6
Temmuz	1	%25	3	%75	4
Ağustos	0	%0	9	%100	9
Eylül	1	%50	1	%50	2
Ekim	3	%37,5	5	%62,5	8
Kasım	4	%50	4	%50	8
Aralık	1	%20	4	%80	5
Toplam	23	%27,4	61	%72,6	84

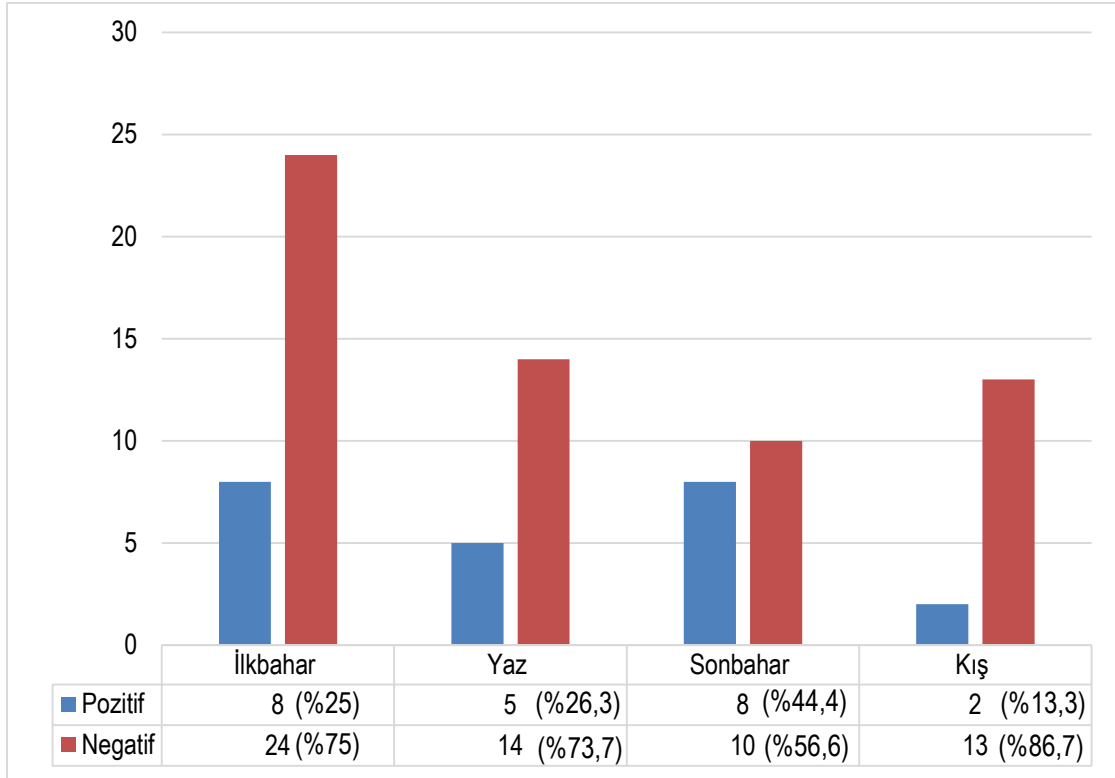


Şekil 4. 4. Rhinovirus pozitif çıkan hastaların aylara göre dağılımı

Rhinovirus pozitif bulunan hastaların mevsimlere göre dağılımına bakıldığında, en yüksek oran Sonbahar'da % 44,4 (8/18) sonra sırası ile Yaz aylarında %26,3 (5/19), İlkbahar % 25 (8/32) ve en az oranda da Kış aylarında %13,3 (2/15) rhinovirus tespit edilmiştir. (Çizelge 4.6.) (Şekil 4.5.)

Çizelge 4. 6. Rhinovirus pozitif hastaların mevsimlere göre dağılımı

Mevsimler	Pozitif		Negatif		Toplam
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	
İlkbahar	8	%25	24	%75	32
Yaz	5	%26,3	14	%73,7	19
Sonbahar	8	%44,4	10	%55,6	18
Kış	2	%13,3	13	%86,7	15

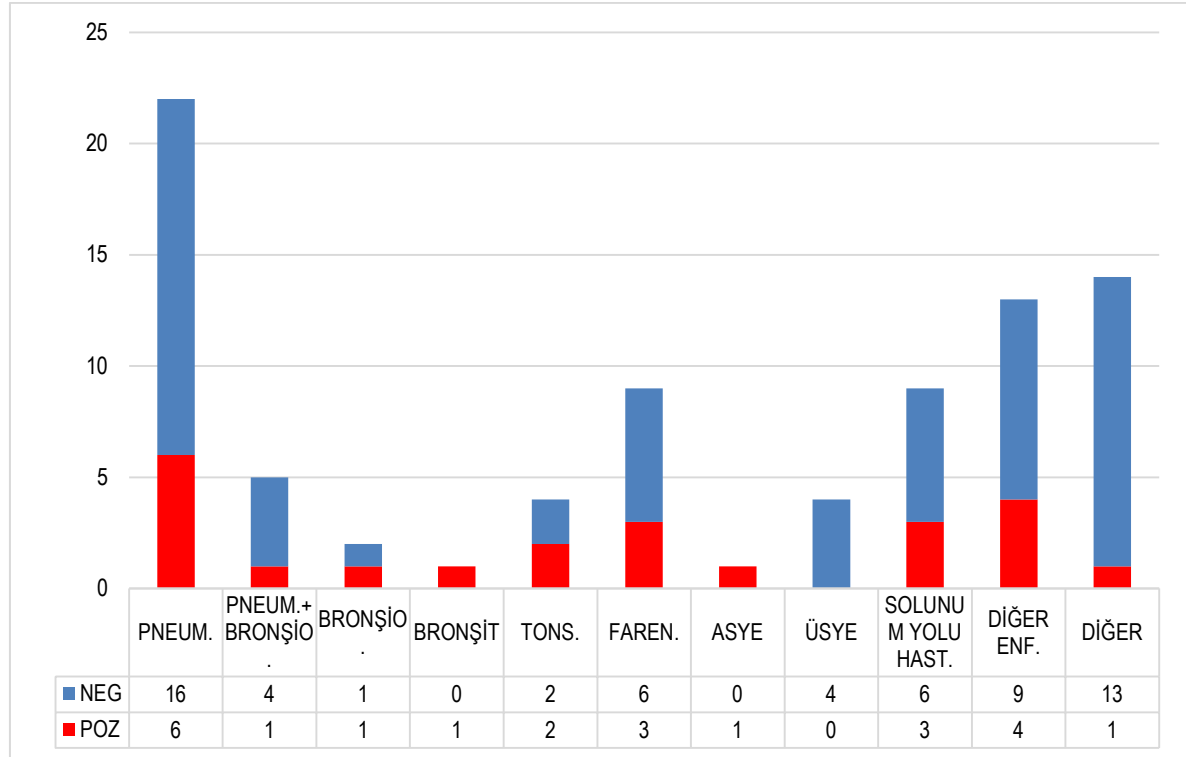


Şekil 4. 5. Rhinovirus pozitif hastaların mevsimlere göre dağılımı

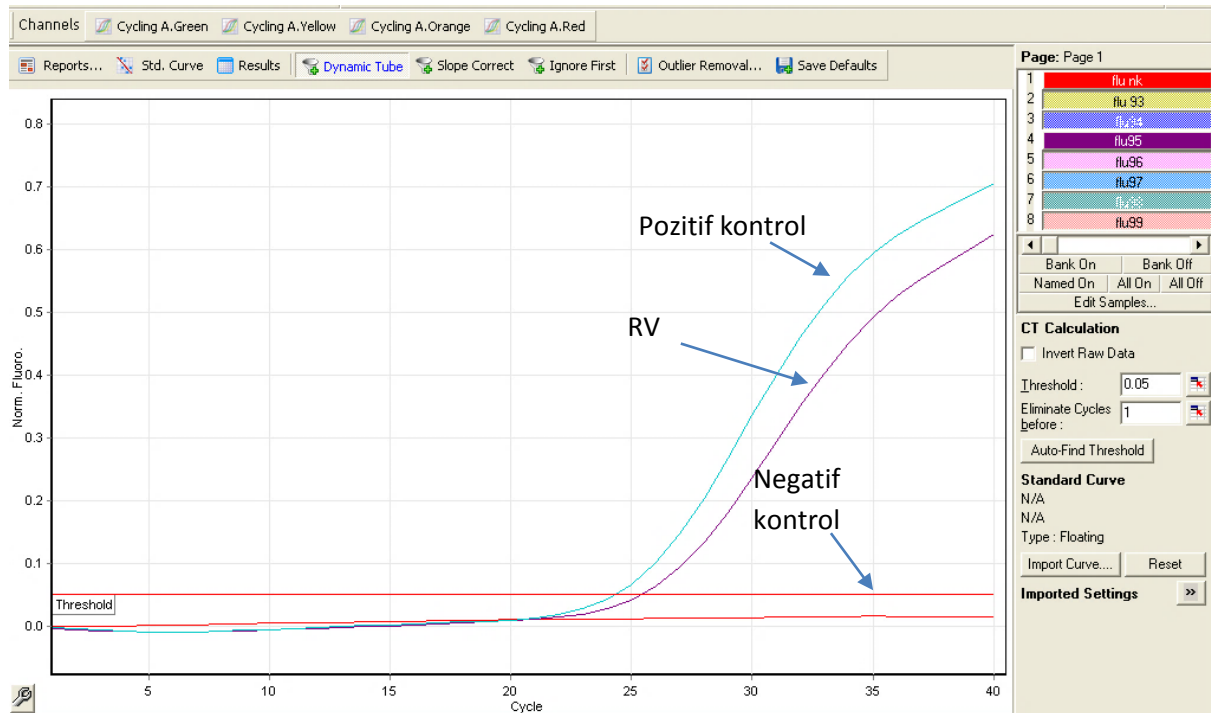
Hastalıklara göre rhinovirus dağılımına bakıldığında; pnömoni tanısıyla gelen hastaların %27,3'ünde (6/22), pnömoni ve bronşiolit tanısı ile gelen hastaların %20'sinde (1/5), bronşiolit tanısı alanların %50'sinde (1/2), bronşit tanısı alanların %100'ünde (1/1), tonsillit tanısı alanların %50'sinde (2/4), faranjit tanısı olanların %33,3'ünde (3/9), ASYE tanısı olanların %100'ünde (1/1), ÜSYE tanısı olanların hiçbirinde, solunum yolu hastalıkları olan hastaların %33,3'ünde (3/9), diğer enfeksiyonu olan hastaların %30,8'inde (4/13), diğer hastalıkları olan hastaların %7'sinde (1/14) rhinovirus tek başına yada diğer etkenlerle beraber pozitif saptanmıştır. (Çizelge 4.7.) (Şekil 4.6.)

Çizelge 4. 7. Rhinovirusun hastalıklara göre dağılımı

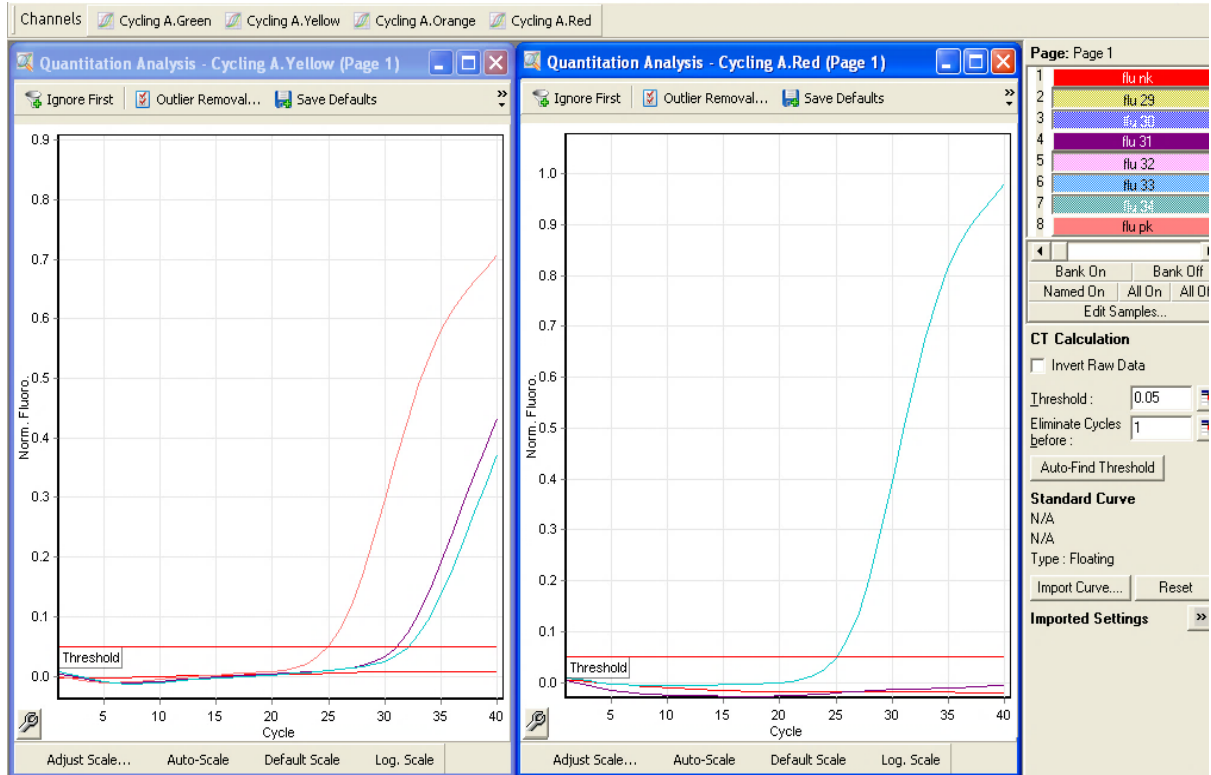
	Tek başına RV	RV+ Diğer virüsler	RV Toplam		RV Negatif		Toplam Hasta
	Sayı (n)	Sayı (n)	Sayı (n)	Yüzde (%)	Sayı (n)	Yüzde (%)	sayı (n)
PNÖMONİ	4	2	6	%27,3	16	%72,7	22
PNÖMONİ+ BRONŞİOLİT	1	0	1	%20	4	%80	5
BRONŞİOLİT	0	1	1	%50	1	%50	2
BRONŞİT	0	1	1	%100	0	%0	1
TONSİLLİT	1	1	2	%50	2	%50	4
FARANJİT	1	2	3	%33,3	6	%66,7	9
ASYE	0	1	1	%100	0	%0	1
ÜSYE	0	0	0	%0	4	%100	4
SOLUNUM YOLU HAST	2	1	3	%33,3	6	%66,7	9
DİĞER ENF.	3	1	4	%30,8	9	%69,2	13
DİĞER	1	0	1	%7	13	%93	14
TOPLAM	13	10	23	%27,4	61	%72,6	84



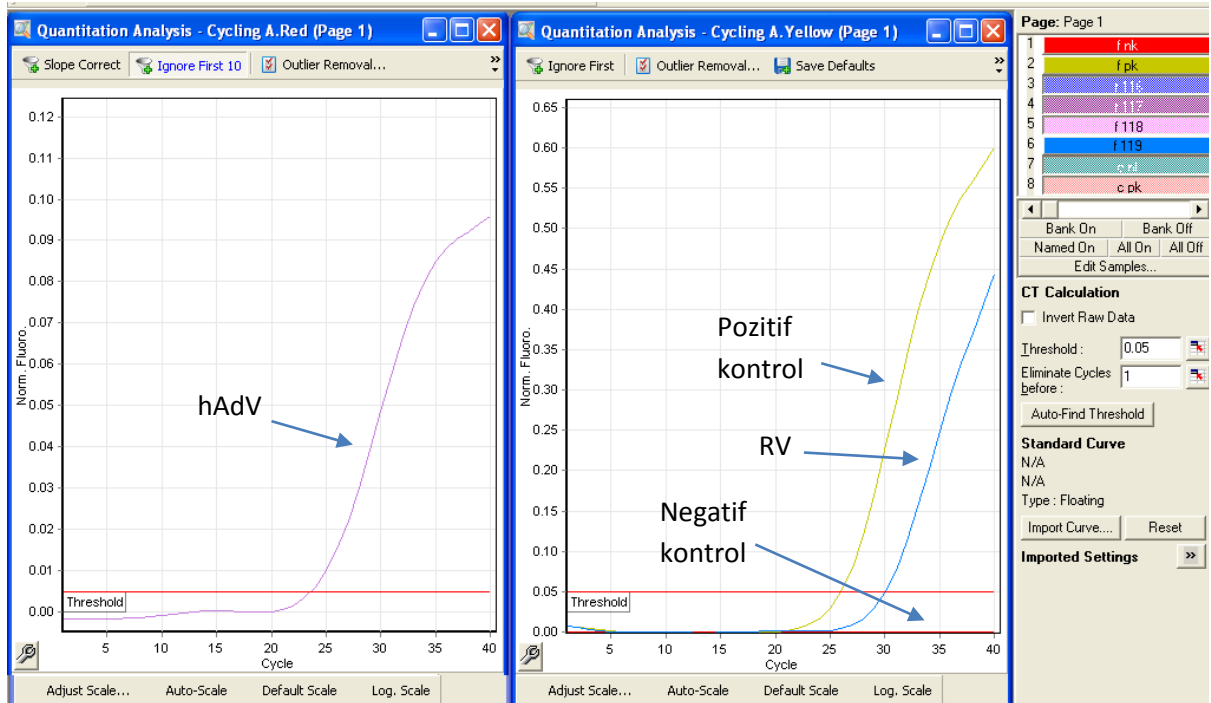
Şekil 4. 6. Rhinovirusun hastalıklara göre dağılımı



Resim 4. 1. Negatif kontrol- pozitif kontrol ve hasta eğrisi



Resim 4. 2. Rhinovirus, Coronavirus 43 ve Coronavirus 63 pozitif eğrisi



Resim 4. 3. Rhinovirus ve Adenovirus pozitif eğrisi

5. TARTIŞMA

Üst solunum yolu enfeksiyonlarının en sık nedeni olan rhinoviruslar, okul çağı çocuklar başta olmak üzere her yaş grubunda hastane başvurularına ve iş gücü kaybına neden olmakla beraber klinik olarak hafif üst solunum yolu enfeksiyonlarından, astım ve pnömoniye kadar çeşitli hastalık tabloları ile ilişkilendirilirler. Son dönemde gelişen moleküler yöntemlerin kullanılmaya başlanması ile birlikte; bebekler, yaşlılar ve bağışıklığı baskılanmış kişilerde önemli sonuçlar ortaya çıkarabileceği ve pulmoner hastalıkların alevlenmelerini arttırabileceği gösterilmiştir[3,9,17,36]

Türkiye'nin'de içinde olduğu yirmi iki Asya ülkesinde yapılan çalışmaları ele alan 10 yıllık hasta sonuçlarının ve 94 makalenin taranmasıyla elde edilen bulguları içeren bir derlemedeki 126,026 hastanın sonuçlarına göre bütün ülkelerin genel toplamında %16,8 (21156/126026) oranında RV pozitifliği saptandığı gözlenmiştir. Bu çalışmanın ülkemize ait RV pozitiflik sonuçları ise % 27 (49/182) dir. Diğer ülkelerde ise; Kamboçya %6 (1229/20507), Tayvan %24,5 (52/216), Hindistan %0,2 (6/2737), İsrail %74,4 (346/465), Japonya %15 (143/946) , İran %15 (166/1107), Ürdün %26 (276/1053), Laos %35 (102/292), Kuveyt %8,3 (188/2252), Malezya %26 (69/268), Moğolistan %11 (552/4907), Filipinler %21,4 (787/3666), Tayland %18,6 (5741/30870) ,Vietnam %24 (1161/4825), Suudi Arabistan %38 (1307/3433), Singapur %13 (64/500), Katar %10 (102/1038), Kore %22,5 (4395/19522), Kıbrıs %37,5 (116/325) , Çin %16 (4252/26738) ve Bangladeş %29,3 (52/177) tespit edilmiştir[37]. Mishra ve arkadaşları (2016) Dünya sağlık örgütü tarafından belirtilen semptomları taşıyan, alt ve üst solunum yolu enfeksiyonu belirtileri olan 2 ile 60 ay arasındaki 300 çocuklar üzerinde yaptıkları araştırmada 248 hastada viral etken tespit etmişler. ÜSYE olan çocuklarda %84 (106/126) oranında en az 1 viral etkende pozitiflik tespit etmişlerdir. Rhinovirus %31 ile en sık tespit edilen virus olmuştur. Sırası ile adenovirus %19 , RSV %17 ve influenza %17 oranında tespit edilmiştir. ASYE olanlarda; %81,6 (142/174) oranında en az 1 viral etkende pozitiflik bulmuşlardır. En sık olarak RSV %30,3, influenza virus, %17,6, RV %14,8, adenovirus %13,4 oranlarında tespit edilmiştir[44]. Gülen ve arkadaşlarının (2013) Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hastanesinde 2010-2012 yılları arasında yaptıkları çalışma sonuçlarında RSV % 32, İnfluenza (A/B) virüs %24, hPIV (tip 1,2,3,4) %14, RV %13, adenovirus %8, coronavirus %5, metapneumo virüs % 3 ve bocavirus %1 oranlarında saptamışlardır[38]. Biçer ve arkadaşlarının 2010-2011 yılları arasında alt ve üst solunum yolu enfeksiyonu olan,

hastanede yatan 155 hastanın verilerinin geriye dönük olarak değerlendirildiği bir çalışmada % 66.5'inde (103/155) en az bir viral etkeni pozitif saptanmışlardır. En sık olarak sırasıyla RSV (% 32.0), adenovirus (% 26.2), parainfluenza (tip 1-4) virüsler (% 19.4), rhinovirus (% 18.4), influenza A ve B (% 12.6), metapneumo virüsü (% 12.6), coronavirus (% 2.9) ve bocavirus (% 0.9) tespit edilmişlerdir[58]. Akçalı ve arkadaşları (2013), 2009-2010 yılında alt solunum yolu enfeksiyonları tanısı ile gelen 1-10 yaş arasındaki 160 çocuk üzerinde, real-time PCR yöntemi ile yaptıkları çalışmada, 67 (%42) hastada alt solunum yolları enfeksiyonuna sebep olabilecek en az 1 viral etken saptamışlardır, bu viral etkenlerden RV' ler (% 36), RSV den sonra en sık saptanan 2. viral etken olmuştur[41]. RV enfeksiyonları diğer solunum yolu viral etkenlerinin neden olduğu enfeksiyonlara oranla daha hafif seyirli olmasına rağmen tüm dünyada akut solunum yolu enfeksiyonlarının yaklaşık yarısından sorumlu tutulmaktadırlar. RV'ün ülkemizdeki sıklığının farklı dönemlerde, farklı hasta gruplarında, multipleks RT PCR yöntemiyle %3,8 ile %35,8 arasında olduğu ancak ortalama olarak %20' ler civarında tespit edildiği yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur[37,38,39,41,45,47,50,57,58]. Bizim çalışmamızda da; çalışmaya alınan 84 hastanın 49'unda (%58.3) en az 1 viral etken saptanmıştır. Hastaların %27,4 'ünde RV tespit edilmiştir. Pozitif etkenler arasında %20,4 (10/49) ile influenza virüsler, %16,3 (8/49) parainfluenza virüsler, %14,3 (7/49) RSV, %14,3 (7/49) coronavirusler, %14,3 (7/49) bocavirus , %14,3 (7/49) adenovirus, %10,2 (5/49) metapneumo virüsler, %2 (1/49) enterovirus tek başlarına ya da diğer etkenlerle beraber pozitif tespit edilmişlerdir. Ülkemizde ve diğer ülkelerde yapılan çalışmalara bakıldığında RV saptama oranı ortalama olarak % 18-30 arasında olduğu görülmektedir , bizim çalışmamızın sonuçları ile uyumlu olduğu gözlenmiştir. Diğer çalışmalardan farklı olarak çocuk hastalarda sıklıkla saptanan viral etkenlerden RSV ile daha az karşılaşılmış ,influenza ve parainfluenza virüslerinin diğer viral etkenlere oranına bakıldığında sonuçlarımız önceki çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Rhinovirus enfeksiyonunun moleküler epidemiyolojisi ve klinik etkilerini araştıran Hung ve arkadaşlarının 2013 ve 2014 yılları arasında akut solunum yolu enfeksiyonuna sahip, hastanede yatan 487 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada; 76 hastada (%15,6) RV pozitiflik saptamışlardır. Bu hastaların %21'inde RV'ü tek başına, %79'ununda da diğer mikroorganizmalarla beraber koenfeksiyon yaptığını tespit etmişlerdir. Rhinovirusun en çok % 23,7 ile adenovirus, %11,8 ile parainfluenza virüs ile koenfeksiyon yaptığını tespit etmişlerdir[35].

Mishra ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada çoklu enfeksiyonlara bakıldığında ÜS YE olan ve en az bir viral etkende pozitif tespit edilen 106 çocuğun %61,3'ünde (65/106) tek bir virüs, %38,7'sinde (41/106) birden fazla virüs tespit edilmiştir. Üst solunum yolu enfeksiyonunda RV en çok RSV ile ikinci sırada da adenovirus ile koenfeksiyon yapmıştır. Alt solunum yolu enfeksiyonunda, olan en az bir viral etkende pozitiflik saptanan 142 çocuğun, %61'inde (86/142) tek bir virüs, %39'unda (56/142) birden fazla virüs tespit edilmiştir. Alt solunum yolu enfeksiyonunda, RV en çok influenza virus ile sonrasında da RSV ile koenfeksiyon yapmıştır[44]. Annamalay ve arkadaşlarının Mozambik'te 277 çocuk hasta üzerinde yaptıkları araştırmada, RV 92 (%33,2) hastada tespit edilmiş, RV en çok; adenovirusler %21,7 (20/92) ikinci sırada da RSV %15,2 (14/92) ile koenfeksiyon yaptığı belirlenmiştir[54]. Ülkemizde, Çiçek ve arkadaşlarının üst ve alt solunum yolu enfeksiyonu olan hastalarda multipleks PCR yöntemi kullanılarak yapılan çalışmasında hastaların yaklaşık % 40'ında solunum yolu virusleri tespit edilmiş, hastaların yaklaşık %4'ünde çoklu virus enfeksiyonu saptanmış ve bunların % 90'a yakınının çocuk hastalarda olduğu görülmüştür. Rhinoviruslar en sık RSV ile koenfeksiyon yapmış olup bunu sırasıyla, parainfluenza virüs, coronavirus ve adenovirus izlemiştir[45]. Bayraktar ve arkadaşlarının Ulusal Viroloji Referans Laboratuvarında 2009-2012 yılları arasında 1774 hastanın nazofaringeal sürüntü, boğaz sürüntüsü, trakeal aspirat, bronkoalveolar lavaj örneklerini RT-PCR yöntemiyle çalışmış ve RV hemen hemen bütün viruslerle koenfeksiyon yaptığını tespit etmişlerdir. En sık olarak RSV adenovirus, parainfluenza ve bocavirus ile koenfeksiyonu görülmüştür[60]. Özdamar ve arkadaşlarının Kocaeli/İstanbul illerinde 2015-2017 yıllarında alt solunum yolu enfeksiyonu tanısıyla hastaneye yatan çoğu çocuk hastalardan alınan 283 solunum yolu örneğinin, 236'sında (%83,4) en az bir etken saptanmış, bu örneklerin 186'sında (%78,9) tek bir etken, 50'sinde (%21,1) ise birden fazla etken tespit edilmiştir. RV'ler hem tek etkenler hem de koenfeksiyon bakımından en sık rastlanan etken olmuştur. Bunun sonucu olarak da enfeksiyonun klinik olarak geçirilmiş olmasına rağmen PCR gibi çok duyarlı tekniklerin kullanımıyla enfeksiyon bulgularının laboratuvar sonuçlarına yansıdığı bireylerin başka enfeksiyonla da enfekte olup, ikili ve daha fazla sayıda enfeksiyonların gözlenebileceği sonucuna varmışlardır[50]. Bizim çalışmamızda da rhinovirus pozitif hastaların yarısına yakını %43,4 (10/23) bir veya birden fazla etkenle koenfeksiyon yapmıştır. Solunum yolu örneklerinde multipleks PCR çalışmalarının avantajı, hastada aynı anda birden fazla patojeni saptayabilmesidir. Önceki çalışmalar RV enfeksiyonlarında, koenfeksiyonun sıklıkla görüldüğünü doğrulamaktadır. Çalışmamızda Mishra ve arkadaşlarının elde ettiği

sonuçlara benzer şekilde % 40'lara yakın oranlarda koenfeksiyon tespit edilmiştir. Ancak ülkemizdeki ve diğer ülkelerdeki çalışmalardan farklı olarak RSV ile koenfeksiyon daha düşük tespit edilmiş, en çok parainfluenza virüsleri ile koenfeksiyon saptanmış; bunu coronavirusler, bocavirus ve metapneumo virüsler izlemiştir. RSV ile düşük koenfeksiyonun, RSV ile enfekte hastanın az sayıda olmasına bağlamaktayız.

Hung ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; çocuklarda RV enfeksiyonu tespit oranını %18 (60/321), erişkinlerde ise % 9.6 (16/160) bulmuşlar ve çocuklarda erişkinlere göre yüksek tespit etmişlerdir. Pediatrik hastalar ile karşılaştırıldığında, yetişkin hastalarda RV varlığını altta yatan hastalık ile anlamlı şekilde ilişkili bulmuşlardır[35]. Çiçek ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bazı salgın (influenza A gibi) durumları hariç en sık saptanan viruslerin sırasıyla RSV, rhinovirus ve influenza A olduğu tespit edilmiş. Pediatrik hastaların, yetişkin hastalara göre daha yüksek oranda ve poliklinik hastalarında, yatan hastalara göre daha fazla oranda solunum yolu virüsleri bulunduğunu tespit etmişlerdir[45]. Spichak ve diğerlerinin 2008-2010 yılları arasında 56'sı pnömomi 474'ü kontrol grubu olan 530 çocuğun solunum yolu örneklerinin real time RT-PCR yöntemiyle analiz edildiği çalışmada 112 hastada RV pozitif bulunmuşlardır. Rhinovirus pozitifliği pnömonili çocuklarda %10,7 (6/56) , sağlıklı kontrollerde % 22,4 (106/474) tespit edilmiş ve pnömoni tanısı almış çocuklarda kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Bu 112 hastanın yaşlarına göre dağılımına bakıldığında 1-2 yaş aralığındaki hastaların %16' sında (15/94), 3-5 yaş aralığındakilerin %28'sinde (37/132), 6-10 yaş arasındakilerin %20,4'sında (46/225), 11-16 yaş aralığındakilerin %17,7'sinde (14/79) RV pozitifliği saptanmıştır[40]. Taylor ve diğerlerinin (2016), 2010-2011 yılları arasında 17 merkezden gelen 3717 grip benzeri hastalığı olan 6 ay ile 10 yaş arasındaki hasta sonuçları ile yaptığı bir çalışmada 6-11 ay arasındaki bebeklerde RV/EV saptama oranı %47,6 (68/143), 12-23 ay arasında olanlarda %51 (345/676), 24-35 ay arası çocuklarda %46,3 (304/657), 36-59 ay arası çocuklarda %40,9 (429/1050) ve 60 ay üstü çocuklarda da %33,2 (395/1191) bulunmuştur[43]. Biçer ve arkadaşlarının İstanbul'da yaptığı çalışmada %18.4 (19/103) olan RV pozitifliğinin en yüksek oranda 13-24 ay arasındaki çocuklarda (11) tespit edildiği görülmüş, bunu 2-5 yaş arası çocuklar (4) izlemiş, en az ise 5 yaş üstü (1) çocuklarda saptanmıştır[58]. Toivonen ve diğerlerinin 2008-2012 yılları arasında Finlandiya'da akut solunum yolu öyküsü olan 2 yaşından küçük çocuk hastaların sonuçlarının değerlendirilmesiyle yapılan bir çalışmada akut solunum yolu enfeksiyonu olan hastaların yarısından fazlasında %59 (2775/4728) RV tespit etmişlerdir. Rhinovirus enfeksiyonlarını

6 aydan küçük çocuklarda yüksek oranda tespit edilmiştir. Fakat bu oranın 6 aydan 2 yaşa kadar, yaşla beraber giderek arttığını bunun nedeninin de diğer çocuklarla artan temasın yaşla birlikte artmış olabileceği düşünülmüşlerdir[55]. Bizim çalışmamızda yaşlara göre RV pozitiflik dağılımlarına bakıldığında diğer çalışmaların birçoğu ile benzer olduğu en çok 1-3 yaş arası çocuklarda %34,6 oranında saptandığı görülmüştür. 10 yaşına kadar bu oranın giderek azaldığı gözlenmiştir. 10 yaşından sonra % 50 oranında bir pozitiflik gözlenirse de bunun hasta sayısının azlığı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Aynı zamanda diğer çalışmalardakilere benzer olmak üzere RV pozitifliğinin 1 yaş altında ilk 6-7 yıla oranla daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Long ve diğerlerinin İsveç’ de yaptıkları retrospektif olarak 3 yıllık verilerin toplandığı 7853 nazofarengeal örnekle yapılan bir çalışmada %18,9 ile RV tüm yıl boyunca en sık saptanan etken olduğunu, mayıs, ekim ve eylül aylarında pik yaptığını tespit etmişler, ancak yaz aylarında da diğer virüslere oranla görülme sıklığının oldukça yüksek olduğu saptamışlardır[48]. Mishra ve arkadaşlarının Hindistan’da yaptıkları çalışmada RV pozitifliğinin daha çok aralık, ocak, mart ve ağustos aylarında olmakla beraber bütün yıl boyunca tespit edileceğini ortaya koymuşlardır[44]. Arjantin’de 2010-2011 yılları arasında akut solunum yolu teşhisi konmuş 15 yaşından küçük, hastane yatışı olan hastaları kapsayan retrospektif bir çalışmada. rhinovirus RNA'sı, 452 örneğinin 172'sinde (% 38) tespit edilmiş. Bunların aylara göre dağılımına bakıldığında ise bir yıl boyunca bütün aylarda tespit edilebilmekle beraber en yüksek oranda mayıs (%51,4) ve ekim (%51,4) ayında tespit edildiği görülmüştür[59]. Tran ve arkadaşlarının Vietnam'da akut solunum yolu enfeksiyonu (ARI) nedeniyle hastanede yatan 15 yaş altındaki çocuk hastalardaki RV'ün moleküler epidemiyolojisinin araştırıldığı bir çalışmada, 2010-2011 yılları arasında 1082 nazofarengeal solunum yolu örneğinde viral etkenlerin tespit edilme oranın %64.7 olduğu saptanmış. Bu viral etkenler arasında RV'ün %21.6 (234/1082) ile mono enfeksiyonda en sık karşılaşılan virus olduğu koenfeksiyonda ise bu oranın %8.4 (91/1082) olduğu bulunmuştur. Aynı zamanda bu çalışmada yıl boyunca RV'ün temmuz, kasım, ocak ve nisan aylarında birkaç kez zirve yaptığı tespit edilmiştir [18]. Ege Üniversitesinde 2007-2013 yılları arasında 1708 çocuk ve yetişkin hastanın dahil edildiği çalışmada solunum yolu örnekleri multipleks PCR yöntemi ile araştırılmışlar ve RV pozitifliğinin en sık nisan ve haziran ayları arasında olduğunu tespit etmişlerdir[45]. Göktaş ve arkadaşlarının 20014-2015 yıllarında İstanbul’da solunum viruslerinin mevsimsel dağılımını ve prevelansının araştırdıkları bir çalışmada 845 hastanın 612'sinde en az 1 patojen saptamışlar bu

hastaların 107'sinde RV/EV pozitifliği tespit etmişlerdir. Aylara göre dağılımına baktıklarında aralık (115/107) ve ocak (14/107) ayında sonrasında sırası ile mayıs (12/107), temmuz (12/107), nisan (10/107), ekim (10/107) ve kasım (10/107) olarak tespit etmişlerdir[63]. Bayraktar ve arkadaşlarının Ankara'da yaptığı solunum yolu viral etkenlerinin mevsimsel dağılımının saptanmasını amaçlayan çalışmada RV'nün tüm yıl boyunca tespit edilebileceği ancak bahar aylarının sonunda ve eylülde olmak üzere 2 defa pik yaptığı görülmüştür[60]. Diğer birçok çalışmada elde edilen sonuçlara göre RV tüm yıl boyunca görülebileceği ortaya konmuştur. Bizim çalışmamızda yılın 2 ayı hariç (şubat ve ağustos) diğer aylarda RV pozitifliği tespit edilmiştir. RV pozitifliği görülmeyen ağustos ayının yaz ayı olması nedeniyle düşük olabileceği düşünülmektedir. Şubat ayında RV pozitifliğinin görülmemesi olayını açıklayamamaktayız. Dünyadaki ve ülkemizdeki çalışmalara bakıldığında bizim çalışmamızda olduğu gibi RV yıl içinde birkaç pik yapmakla beraber genel olarak ilkbahar ve sonbahar mevsiminde yoğunlaşmaktadır. Haziran ayında %66,7 ile en yüksek oranda bulunmuş bunu eylül %50 ve kasım %50 ayları takip etmiştir. Bu sonuçlar; Bayraktar ve arkadaşlarının çalışmalarıyla benzerlikler taşımakla beraber tropikal iklimde bulunan Vietnam'daki sonuçlardan farklı bulunmuştur. İklimsel ve coğrafik değişikliklerin RV saptanmasında etkili olabileceği aynı zamanda eğitim dönemi gibi sosyal olayların da rolü olabileceği düşünülmektedir.

İsveçte 2018 yılında yayınlanan bir çalışmada yetişkinlerden alınan nazofarengeal örneklerde, asemptomatik bireylerde virüslerin tespit oranı % 4.3 gibi düşük bir oranda tespit edilirken ve en sık saptanan virüs ise rhinovirus olmuştur. Semptomatik bir hastalıktan veya subklinik enfeksiyondan sonra uzun süreli virus dökülmesinden dolayı asemptomatik kişilerde RV saptanması olabileceği, ancak farklı serotiplerle yeniden enfeksiyon tekrarlanabilir bulguları da açıklayabileceği görülmüştür[62]. Toivonen ve arkadaşlarının 2 yaşından küçük akut solunum yolu öyküsü olan çocuklardaki araştırmasında rhinovirus akut orta kulak iltihabı enfeksiyonlarının % 50'si , wheezing'in % 41'i akut solunum yolu enfeksiyonlarının % 48'si ile ilişkili bulunmuştur[55]. İtalya 'da 2009-2014 yılları arasında 3 yaş altındaki 273 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada, , 67'sinde RV (% 24.5), RSV' den sonra en sık saptanan virus olmuştur. Sırası ile 148 çocukda (% 54.2) RSV, 13'ün de hMPV (% 4.8), 10'nunda (% 3.7) hBoV tespit edilmiştir. Her bir solunum virüsünün farklı klinik sonuçlara yol açtığı görülmüştür. En sık saptanan virüsler, bronşiyolitte RSV pnömonide rhinovirus ve wheezing'de bocavirusu olduğu görülmüştür[61]. Tran ve arkadaşlarının RV'nün çocuklarda hastanede yatmanın en önemli

nedeni olarak bilinen RSV'den bile daha yaygın olduğu anlaşılmıştır ve çocuklarda tek başına RV enfeksiyonun hastaneye yatışın yeterli bir nedeni olabileceğini sonucunu ortaya çıkarmıştır. Hastanede yatan pnömoni vakalarının %35.5' inde, bronşiolit tanısı olan vakaların %34.6 sında RV'ün tekli enfeksiyonu saptanmıştır. Koenfeksiyonlara bakıldığında pnömoni vakalarında %37.4, bronşiolit vakalarında ise bu oran %40.7'dir[18]. Annamalay ve arkadaşlarının 2010-2013 yılları arasında klinik pnömoni tanısı ile 0-10 yaş arasındaki 277 çocuk hasta üzerinde yaptıkları araştırmada 206 hastada %74,4 (206/277) en az bir viral etken tespit edilmiştir. Hastaların % 33,2 sinde (92/377) RV en sık saptanan virüs olmuştur[54].

Zheng ve arkadaşlarının 2018 yılında 63 çalışmayı derledikleri bir meta analizde; astım alevlenmeleri ile ilişkili solunumsal viruslerin prevalansının en yaygın nedeninin sırasıyla RV (% 42.1), RSV (%13,6) ve EV (%10.1) olduğunu tespit etmişlerdir. RV prevalansının bölgelere göre dağılımına bakıldığında Avrupa'da %27.4, Asya'da %41.8, Amerika'da %44, Avustralya ve çevresinde %54.9 olduğu sonucuna varmışlardır, ancak Afrika bölgesi ile ilgili yeterli bilgi olmamasında ötürü bu bölgedeki prevalansını saptayamamışlardır. Çalışmanın sonucunda RV gibi üst solunum yolu enfeksiyonlarına neden olma eğilimindeki viruslerin; viral enfeksiyondan kaynaklanan astım alevlenmesinin doğurduğu tedavi yükünü en aza indirmek için etkili aşılarda veya yeni antiviral ajanlarla preemtif profilaksiye ihtiyaç duyulduğu sonucuna ulaşmışlardır[51]. Brezilya' da 2010-2012 yılları arasında yapılan klinik olarak adenotonsiller hipertrofisi olan ve adenotonsillektomi yapılan 1-13 yaşları arasındaki 172 çocuktan alınan adenoid, palatin tonsiller doku örnekleri ve nazofarengeal sekresyonlarında solunumsal virüslerin araştırıldığı bir çalışmada RV'ler (%33,8), adenovirusler(%52,8) ve enteroviruslerden (%47,2) sonra 3. en sık saptanan etken olmuştur. Mevcut analizde tropikal ve subtropikal iklim koşulları arasında bulunan Sao Paulo'da RV tüm yıl boyunca her mevsimde tespit edilmiştir. Bununla beraber adenoid ve tonsiller dokulardan ziyade nazal sekresyonlarda daha sıklıkla saptanmıştır[52]. Ali. ve arkadaşlarının akut farenjiti olan 83 üniversite öğrencisi üzerinde yaptıkları çalışmada burun içi ve boğaz sürüntülerinden aldıkları swap örneklerinde en sık Rhinovirus, Coronavirus ve İnfluenza A virüsleri tespit edilmiştir. Aynı zamanda sonuçlardan elde ettikleri veriler doğrultusunda boğaz swablarının tek başına solunum yolu viral surveiansı için yeterli olmayacağını, primer olarak boğaz ağrısı şikayetiyle gelen hastalarda bile burun içi swapların etkenleri saptama açısından daha iyi bir örnek olacağı sonucuna varmışlardır[53]. Bizim çalışmamızda RV pozitif tespit edilen

hastaların tanıları dikkate alındığında diğer çalışmalardan farklı olarak bronşit tanısı alan hastaların % 100 gibi çok yüksek bir oranının da RV pozitifliği saptanmıştır, fakat buna bronşit tanısı ile gelen hasta sayısının azlığının neden olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızın sonuçları dünyanın çeşitli yerlerinde elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermiş, pnömoni tanısı olanların %27,3'ünde (6/22), pnömoni ve bronşiolit tanısı olanların %20'sinde (1/5) gözlemlenmiştir. Brezilya'da ki çalışmayla benzer olarak Tonsillit tanısı olanların %50'sinde (2/4) pozitiflik görülmüştür. RV pozitifliğinin Faranjit tanısı olan hastaların üçte birinde görülmesi, Ali ve arkadaşlarının sonuçlarıyla benzer olduğunu ortaya koymaktadır.

Ecemiş ve arkadaşlarının (2012) 2010-2011 yıllarında akut üst solunum yolu enfeksiyonu belirtileri taşıyan çocuklarda multipleks PCR ile yaptıkları çalışmada 1 ile 8 yaş arasındaki 160 çocuk hastanın 55'inde % 34,4 bir viral etken saptanmış, pozitif bulunan 55 hastanın 14'ünde %25,4 RV en sık tespit edilen virüs olmuştur. Üst solunum yolu semptomları olan çocukların yaklaşık olarak 1/3'ünde viral bir etken tespit edilebilmiştir. Kısa sürede ve çok sayıda viral etkeni aynı anda tespit edebilen multipleks PCR'ın solunum yolu enfeksiyonlarının tanı ve tedavisinde güvenilir tanı yöntemi olduğu görüşüne varmışlardır[39]. Yapılan çalışmalar, deneyimli klinisyenlerin bile, klinik bilgilere dayanarak etiyolojik ajanı saptamasının zor olduğu, multipleks PCR testlerinin kullanımının gerekliliğini ortaya koymuştur[48]. Özdamar ve arkadaşları hastaların tedavi takibinin daha etkili bir şekilde yapılabilmesi için hızlı ve doğru sonuç veren kapsamlı testlerin sağlık kurumlarında sıklıkla kullanılmasının gerekliliğini ortaya koymuşlardır[50]. Multipleks real-time PCR yöntemlerinin rutin laboratuvarlarda kullanımının yaygınlaşmasıyla birlikte etkenin duyarlı ve spesifik olarak saptanması açısından önem taşımakta, 8-10 saat gibi kısa bir zaman sonuç verilebilmesi açısından hastanın tedavisinin yönetilebilmesi için avantajlar sağlamaktadır

6. SONUÇ

Sonuç olarak çalışmamızda alt ve üst solunum yolu enfeksiyonu bulguları olan çocuk hastaların %27,4'ünde RV tek başına yada diğer viral etkenlerle beraber saptanmıştır. Çalışmamızda RV saptanma oranının 1-3 yaş arasındaki çocuklarda yüksek olduğu ve diğer çalışmalardaki yaş-dağılım oranlarıyla benzerlikler bulunduğu saptanmıştır.

Dünyanın çeşitli yerlerinde solunum yolu etkenlerinin mevsimsel ve aylık dağılım prevalansını saptama çalışmalarında sonuçların bölgenin coğrafi konumu ve iklimsel koşullarına göre şekillendiği görülmüştür, ülkemizde ise genellikle sonbahar ve ilkbaharda daha sık olmakla beraber, ilkbahar sonu ve yaz başında da yüksek oranda pozitifliğin saptanabildiği tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda bu sonuçlarla uyumlu bulunmuştur ancak RV prevalansının ve mevsimsel dağılımının daha iyi anlaşılabilmesi için daha çok sayıda ve daha çeşitli hasta gruplarıyla çalışılması gerektiği düşünülmektedir.

Önceki çalışmalarda da bahsedildiği üzere RV; belirli hasta gruplarında ve hastanede yatan çocuk ve yetişkin hastalarda hafif üst solunum enfeksiyonlarından, bronşit, bronşiolit, pnömoni, astım alevlenmeleri, tonsillit, faranjit, akut alt solunum yolu enfeksiyonları gibi çok sayıda hastalıkta, solunum yolu örneklerinde saptanmıştır. Çalışmamızdaki hasta sayımızın azlığı, RV pozitifliği ile hastaların kliniği arasındaki ilişkiyi açıklamak açısından yeterli olamadığını, bu yüzden, daha fazla sayıda hasta grubu ile çalışmak gerektiğini düşünmekteyiz.

Rhinovirus'un epidemiyolojik ve klinik özelliklerinin araştırıldığı çalışmalarda bizimde çalışmamızda amaçladığımız hedeflere yönelik olarak çocuklarda, yaşlılarda ve belirli hasta gruplarında multipleks real-time PCR gibi hassas ve spesifik yöntemlerin kullanımıyla klinik tablolara yaklaşımı kolaylaştırması, potansiyel epidemi ile pandemilerin saptanmasına yardımcı olması açısından önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

1. Us, D. ve Ergünay, K. (Editörler) (2012). *Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji* (Birinci Baskı). Ankara: Bilimsel Yayınevi, 180-182.
2. Murray, P., Rosenthal, K., and Pfaller, M. *Tıbbi Mikrobiyoloji*. (çev. D. Us, A. Başustaoğlu). Pelikan Yayınları. (Eserin orijinali 2012’de yayımlandı), 494-505.
3. Greenberg, S. (2003). Respiratory consequences of rhinovirus infection. *Arch Intern Med*. Vol.163, 278-284.
4. Lee, W., Lemanske, R., Evans, M., Vang, F., Pappas T., Gangnon, R., Jackson, D., and Gern, J. (2012). Human rhinovirus species and seasonal of infection determine illness severity. *Mechanism of human rhiAm J Respir Crit Care Med*. Vol 186 (Iss. 9), 886-891.
5. İnternet: Blaas, D., and Fuchs, R. Mechanism of human rhinovirus infections. *Cipec*. URL:<http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fmolcellped.springeropen.com%2Farticles%2F10.1186%2Fs40348-016-0049-3&date=2019-01-07>, Son Erişim Tarihi: 07.01.2019.
6. İnternet: Wong-Chew, R., Espinoza, M., Taboada, B., Aponte, F., Arias Ortiz M., Martinez, J., Vazquez, R., Hernandez, F., Zarate Vidal, F., I Santos Preciado, J., and López, S. Prevalence of respiratory virus in symptomatic children in private physician office settings in five communities of the state of Veracruz, Mexico. *Cipec*. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fbmcrenotes.biomedcentral.com%2Farticles%2F10.1186%2Fs13104-015-1239-0&date=2019-01-07>, Son Erişim Tarihi: 07.01.2019.
7. Black, L. (2008). *Microbiology principles and explorations* (7th edition). US: Wiley, 640-643.
8. İnternet: De Blic, j., Brouard, j., Vabret, A., and Deschildre, A. The interactions between microorganisms and the small airways. *Cipec*. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fpubmed%2F28262277&date=2019-01-07>, Son Erişim Tarihi: 07.01.2019.
9. İnternet: Jamieson, K., Warner, S., Leigh, R., and Proud D. Rhinovirus in the pathogenesis and clinical course of asthma. *Cipec*. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fpubmed%2F26270739&date=2019-01-07>, Son Erişim Tarihi: 07.01.2019.
10. Murray, P., Baron, E., Jorgensen, J., Landry, M., and Phaller, M. (Editörler) *Klinik mikrobiyoloji* (çev. A. Başustaoğlu, A.Kubar, M. Tanyüksel ve Ş.Yıldıran) Atlas Kitapçılık (Eserin orijinali 2008’de yayımlandı), 1405-1410.

11. İnternet: Bochkov, Y., and Gern, J. Rhinoviruses and their receptors: Implications for allergic disease. *Cipec*. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fpubmed%2F26960297&date=2019-01-07>, Son Erişim Tarihi: 07.01.2019.
12. Richman, D., Whitley, R., and Hayden, F. (Editors). (2009). *Clinical Virology* Washington DC: ASM press 1063-1078.
13. İnternet: Royston, L., and Tapparel, C. Rhinovirus and respiratory enteroviruses: not as simple as ABC. *Cipec*. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fpubmed%2F26761027&date=2019-01-07>, Son Erişim Tarihi: 07.01.2019.
14. Lewis-Rogers, N., Seger, J., and Adler, F. (2017). Human rhinovirus diversity and evolution: how strange the change from Major to Minor. *Journal of Virology*. 91:e01659-16.
15. İnternet: Bochkov, Y., Watters, K., Ashrafa, S., Griggs, T., Devries, M., Jackson, D., Palmenberg, A., and Gern, J. Cadherin-related family member 3, a childhood asthma susceptibility gene product, mediates rhinovirus C binding and replication. *Cipec*. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fpubmed%2F25848009&date=2019-01-07>, Son Erişim Tarihi: 07.01.2019.
16. Drysdale, S., Mejias, A., and Ramilo O. (2017). Rhinovirus - not just the common cold. *Journal of Infection*. (74), S41-S46.
17. To, K., Yip, C., and Yuen, K. (2017). Rhinovirus- from bench to bedside. *Journal of the Formosan Medical Association*. 116, 496-504.
18. Tran, D., Trinh, Q., Pham, N., Pham, T., Ha, M., Nguyen, T., Okitsu, S., Shimizu, H., Hayakawa, S., Mizuguchi, M., and Ushijima, H. (2016). Human rhinovirus infections in hospitalized children: clinical, epidemiological and virological features. *Epidemiol. Infect.* 144, 346–354.
19. Suvilehto, J., Roivainen, M., Seppanen, M., Meri, S., Hovi T., Carpen, O., and Pitkaranta, A., (2006). Rhinovirus/enterovirus RNA in tonsillar tissue of children with tonsillar disease. *Journal of Clinical Virology*. 35, 292–297.
20. İnternet: Loeffelholz, M., Trujillo, R., Pyles, R., Miller, A., Alvarez-Fernandez, P., Pong, D., and Chonmaitree, T. Duration of rhinovirus shedding in the upper respiratory tract in the first year of life. *Cipec*. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fpubmed%2F25404719&date=2019-01-07>, Son Erişim Tarihi: 07.01.2019.

21. İnternet: Panjwani, A., Strauss, M., Gold, S., Wenham, H., Jackson, T., Chou, J., Rowlands, D., Stonehouse, N., Hogle, J., and Tuthill, T. Capsid Protein VP4 of human rhinovirus induces membrane permeability by the formation of a size-selective multimeric pore. *Cipec*. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fpubmed%2F25102288&date=2019-01-07>, Son Erişim Tarihi: 07.01.2019.
22. Alves, M., Schögler, A., Ebener, S., Vielle, N., Casaulta, C., Jung, A., Moeller, A., Geiser, T., and Regamey, N. (2015). Comparison of innate immune responses towards Rhinovirus infection of primary nasal and bronchial epithelial cells. *Asian Pacific Society of Respiriology*. 21,304-312
23. Patick, A., (2016). Rhinovirus chemotherapy. *Antiviral Research*. 71, 391-396
24. Jacobs, S., Lamson, D., George, K., and Walsha T. (2013). Human RHINOVİRUSes. *American Society for Microbiology*. Clinical Microbiology Reviews p. 135–162.
25. Stobart. C., Nosek, J., and Moore, M. (2017). Rhinovirus biology, antigenic diversity, and advancements in the design of a human rhinovirus vaccine. *Journal Frontiers in Microbiology*. Vol 8: 2412.
26. Kennedy, J., Turner, R., Braciale, T., Heymann P., and Borish L. (2012). Pathogenesis of rhinovirus infection. *Current Oppinion in Virology*. 2, 287-293.
27. Savolainen, C., Blomqvist S., and Hovi T. (2003). Human rhinoviruses. *Paediatric Respiratory Reviews*. 4: 91–98.
28. Ottolini, M., and Malloy, A. (2018). Rhinovirus - new insights into a complex epidemiology. *The Journal of Infectious Diseases*. XX00:1–3.
29. Martin, E., Kuypers, J., Chu, H., Foote, S., Hashikawa, A., Mary P. Fairchok, M., and Englund, J., (2018). Heterotypic infection and spread of Rhinovirus A, B, and C among childcare attendees. *The Journal of Infectious Diseases*. XX00,1–8.
30. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. Bulaşıcı hastalık tanısı için saha rehberi. Viral solunum yolu enfeksiyonları .ICD-10 J00, ICD-10 J01-06; J12.
31. İnternet: Slater, L., Bartlett, N., Haas J., Zhu, J., Message, S., Walton, R., Sykes A., Dahdaleh, S., Clarke, D., Belvisi, M., Kon, O., Fujita, T., Jeffery, P., Johnston, S., and Edwards, M. Co-ordinated role of TLR3, RIG-I and MDA5 in the innate response to rhinovirus in bronchial epithelium. *Cipec*. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fpubmed%2F21079690&date=2019-01-07>, Son Erişim Tarihi: 07.01.2019.

32. İnternet: Hasegawa, K., Jartti, T., Bochkov, Y., Gern, J., Mansbach, J., Piedra, P., Toivonen, L., and Camargo, C. Rhinovirus species in children with severe bronchiolitis: multicenter cohort studies in the USA and Finland. *Cipec*. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fpubmed%2F30001231&date=2019-01-07>, Son Erişim Tarihi: 07.01.2019.
33. Liu, Y., Hill, M., Klose, T., Chen, Z., Watters, K., Bochkov, Jiang, W., Palmenberg, A., and Rossmann, M. (2016). Atomic structure of a rhinovirus C, a virus species linked to sever childhood asthma. *PNAS*. vol. 113. no. 3. 8997–9002.
34. Dagher, H., Donninger, H., Hutchinson P., Ghildyal, R., and Bardin P. (2004). Rhinovirus detection: comparison of real time and conventional PCR. *Journal of Virological Methods* 117,113–121.
35. İnternet: Hung, H., Yang, S., Chen, C., Chiu, C., Kuo C., Huang, K., Lin, T., Hsieh, Y., Gong, Y., Tsao, K., and Huang, Y. Molecular epidemiology and clinical features of rhinovirus infections among hospitalized pantients in a medical center in Taiwan. *Cipec*. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.sciencedirect.com%2Fscience%2Farticle%2Fpii%2FS1684118218303256%3Fvia%253Dihub&date=2019-01-07>, Son Erişim Tarihi: 07.01.2019.
36. Peltolaa, V., Waris, M., Österbackb, R., Susib, P., Hyypiäb, T., and Ruuskanena, O. (2008). Clinical effects of rhinovirus infections. *Journal of Clinical Virology*, 43, 411–414.
37. Khan ,J., (2016). Annual prevalence of rhinovirus and its genotypes in Asia, review. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 4(5), 97-104.
38. Gülen, F., Yıldız, B., Çiçek, C., Demir, E. ve Tanaç, R. (2014). Çocukluk çağı solunum yolu enfeksiyonlarında etken viruslerin mevsimsel dağılımının 10 yıllık geriye dönük değerlendirilmesi. *Türk pediatrik arşivi*. 49, 42-6.
39. Ecemiş,T., Yılmaz, Ö., Şanlıdağ, T., Akçalı, S.,ve Yüksel, H. (2012).Üst solunum yolu enfeksiyonlu çocuklarda viral etkenlerin multipleks PCR ile araştırılması. *İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastatanesi Dergisi*, 2(1),1-5.
40. Spichak, T., Yatsyshina, S., Katosova, L., Kim, S., and Korppi, M., (2016). Is the role of rhinoviruses as causative agents of pediatric community acquired pneumonia over-estimated. *European Journal of Pediatrics*, 175,1951–1958.
41. İnternet: Akçalı, S., Yılmaz, N., Güler, Ö., Şanlıdağ, T. ve Anıl, M. Alt solunum yolu enfeksiyonu olan çocuklarda solunum yolu viral etkenlerinin sıklığı. *Cipec*. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fdergipark.gov.tr%2Fdownload%2Farticle-file%2F140524&date=2019-01-07>, Son Erişim Tarihi: 07.01.2019.

42. Demirkan, E., Kırdar, S., Ceylan, E., Yenigün, A. ve Ömürlü, İ. (2017). Akut solunum yolu enfeksiyonlu çocuk ve erişkin hastalarda rinovirüsü genotiplerinin belirlenmesi. *Mikrobiyol Bülteni*, 51(4), 350-360.
43. Taylor, S., Lopez, P., Weckx, L., Tabora, C., Gutierrez, R., Ponce, E., Kerdpanich, A., Weber, M., Santos, A., Tinoco, J., Safadi, M., Lim, F., Mezerville, M., Faingezicht, I., Valdez, A., Feng, Y., Li, P., Durviaux, S., Haars, G., Ghanta, S., Vaughn, D., and Nolan, T. (2017). Respiratory viruses and influenza-like illness: epidemiology and outcomes in children aged 6 months to 10 years in a multi-country population sample. *Journal of Infection*. 74, 29-41.
44. Mishra, P., Nayak, L., Ranjan Das, R., Dwibedi, B., and Singh, A. (2016). Viral agents causing acute respiratory infections in children under five: a study from eastern India. *Hindawi Publishing Corporation International Journal of Pediatrics Volume*. Article ID 7235482, 8.
45. Çiçek, C., Arslan, A., Saz, E., Pullukçu, H. ve Çok, G. (2015). Üst ve alt solunum yolu enfeksiyonu olan hastalarda solunum viruslerinin multipleks PCR yöntemi ile eş zamanlı saptanması. *Ege Tıp Dergisi*. 54(1):8-14
46. Poritz, M., Blaschke, A., Byington, C., Meyers, L., Nilsson, K., Jones D., Thatcher, S., Robbins, T., Lingenfelter, B., Amiot, E., Herbener, A., Daly, J., Dobrowolski, S., Teng, D., and Ririe, K. (2011). FilmArray, an automated nested multiplex PCR system for multi-pathogen detection: development and application to respiratory tract infection. *PLoS ONE*. 6(10), e26047.
47. Çiçek, C., Bayram, N., Anıl, M., Gülen, F., Pullukçu, H., Saz, E., Telli, C. ve Çok, G. (2014). Solunum virusları ve influenza A virus alt tiplerinin multipleks pcr yöntemi ile aynı anda saptanması. *Mikrobiyol Bul*. 48(4): 652-660.
48. Long, R., Andersson, L., Olofsson, S., Lindh, M., and Westin, J. (2012). Seasonal variations of 15 respiratory agents illustrated by the application of a multiplex polymerase chain reaction assay. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. 44: 9–17.
49. Granados, A., Goodall, E., Luinstra, K., Smieja, M., and Mahony, J. (2015). Comparison of asymptomatic and symptomatic rhinovirus infections in university student: incidence, species diversity, and viral load. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 82, 292–296.
50. Özdamar, M. ve Türkoğlu, S. (2018). 2015-2017 yıllarında Kocaeli/İstanbul illerinde alt solunum yolu enfeksiyonları etkenlerinin multipleks real time PCR ile belirlenmesi. *Medeniyet Medical Journal*. 33(3), 188-194
51. Zheng, X., Xu, Y., Guan, W., and Lin, L. (2018). Regional, age and respiratory secretion specific prevalence of respiratory viruses associated with asthma exacerbation: a literature review. *Archives of Virology* 163, 845–853.

52. Modena, J., Buzatto, G., Paula F., Saturno, T., Delcaro L., Prates, M., Tamashiro, E., Valera F., Arruda, E., and Lima, W. (2014). Respiratory viruses are continuously detected in children with chronic tonsillitis throughout the year. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 78, 1655–166.
53. Ali, M., Han, S., Gunst, C., Lim, S., Luinstra, K., and Smieja, M. (2015). Thorat and nasal swaps for molecular detection of respiratory viruses in acute pharyngitis. *Virology Journal*, 12, 178.
54. Annamalay, A., Lanaspas, M., Khoo S., Madrid, L., Acacio, S., Zhang, G., Laing, I., Gern, J., Goldblatt, J., Bizzintino, J., Lehmann, D., Souef P., and Bassat, Q. (2016). Rhinovirus species and clinical features in children hospitalised with pneumonia from Mozambique. *Tropical Medicine and International Health*, 21(9), 1171–1180.
55. Toivonen, T., Havupola, L., Karppinen, S., Jaakkola, T., Rulli, M., Mersola, J., Waris, M., and Peltola, V. (2016). Rhinovirus infections in the First 2 Years of Life. *Pediatrics*, 138(3), e20161309.
56. Ali, A., Akhund, T., Warraich, G., Aziz, F., Rahman. N., Umrani, F., Qureshi, S., Petri, W., Bhutta, Z., Zaidi, A., and Hunghe, M., (2016). Respiratory Viruses Associated With Severe Pneumonia in Children Under 2 Years Old in a Rural Community in Pakistan. *Journal of Medical Virology*. 88,1882–1890.
57. İnternet: Aktürk, H., Sütçü, M., Badur, S., Törün, S., Çıtak, A., Erol, O., Somer, A. ve Salman, N. İnfluenza ve diğer solunum yolu viruslerinin klinik ve epidemiyolojik özelliklerinin değerlendirilmesi. *Cipeç*. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.turkpediatriarsivi.com%2Feng%2Fjvi.aspx%3Fpdir%3Dtpa%26plng%3Deng%26un%3DTPA-85057%26look4%3D&date=2019-01-07>, Son Erişim Tarihi: 07.01.2019.
58. Biçer, S., Giray, T., Çöl, D., Erdağ, G., Vitrinel, A., Gürol, Y., Çelik, G., Kaspar, Ç., and Küçük, Ö. (2013). Türk Virological and Clinical Characterizations of Respiratory Infections in Hospitalized Children. *Italian Journal of Pediatrics* 39, 22
59. Rudi, J., Molina, F., Diaz, R., Bonet, V., Ortellao, L., Cantarutti, D., Gomez, A., Pierini, J., Cociglio, R., and Kuszniarz, G. (2015). The role of Rhinovirus in children hospitalized for acute respiratory disease, Santa Fe, Arjantina. *Journal of Medical Virology*, 87,2027–2032.
60. Bayraktar, F., Altaş, B., Korukluoğlu, G., (2013). Solunum yolu viruslerinin 2009-2012 yılları arasında ülkemizdeki mevsimsel dağılımı. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 43(2), 56-66

61. Nicolai, A., Frassanito, A., Nenna, R., Cangiano, G., Petrarca, L., Ppoff, P., Pierangeli, A., Scagnolari, C., Moretti, C., and Midulla, F. (2016). Risk factors for virus-induced acute respiratory tract infections in children younger than 3 years and recurrent wheezing at 36 Months follow-up after discharge. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 36(2).
62. İnternet: Sundell, N., Andersson, L., Long, R., Sundavall, P., Alsio, A., Lindh, M., Gustavsson, L., and Westin, J. PCR detection of respiratory pathogens in asymptomatic and symptomatic adults. *Cipeec*. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fjcm.asm.org%2Fcontent%2F57%2F1%2Fe00716-18&date=2019-01-07>, Son Erişim Tarihi: 07.01.2019.
63. Göktaş, Ş. and Şirin, M. (2016). Prevalence and seasonal distribution of respiratory viruses during the 2014-2015 season in İstanbul. *Jundishapur Journal Microbiol*, 9(9), e39132.
64. Levinson, W. and Jawetz, E. (2003). *Medical Microbiology and Immunology: Examination and Board Rewiew* (Second edition). US:Prentice Hall International. 35-244, 250-256.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : DOĞU TOK, Canan
Uyruğu : Türkiye Cumhuriyeti
Doğum tarihi ve yeri : 04/01/1980
Medeni hali : Evli
Telefon : 530 924 1363
e-posta : canan.dogu@hotmail.com



Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet yılı
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi/Tıbbi Mikrobiyoloji ABD.	Devam ediyor
Lisans	Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi/Biyoloji Bölümü	2006
Önlisans	Akdeniz Üniversitesi/Sağlık Hizmetleri MYO/Tıbbi Laboratuvar	1999
Lise	Denizli Lisesi	1997

İş Deneyimi, Yılı	Çalıştığı Yer	Görev
2007-devam ediyor	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi/Tıbbi Mikrobiyoloji ABD.	Biyolog
2001-2007	Gazi Üniversitesi	Memur

Yabancı Dil

İngilizce

Hobiler

Yüzme, Kayak, Kitap okumak



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

