

T.C  
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
KLİNİK BAKTERİYOLOJİ VE ENFEKSİYON  
HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
PROF. DR. DEMİR SERTER

**1995-1996 KIŞ MEVSİMİNDE, HÜCRE KÜLTÜRÜ  
YÖNTEMİ İLE BÖLGEMİZDE SAPTANAN ADENOVİRÜS,  
SOLUNUM SİNSİTYAL VİRÜS VE PARAINFLUENZA VİRÜS  
ENFEKSİYONLARI**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. TANSU YAMAZHAN**

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

**TEZ YÖNETMENİ**

**PROF. DR. DEMİR SERTER**

**İZMİR**

**1998**

# İÇİNDEKİLER

<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER .....</b>	<b>2</b>
<b>2.1. Adenovirüsler.....</b>	<b>2</b>
2.1.1. Tarihçe.....	2
2.1.2. Sınıflama.....	2
2.1.3. Yapısal özellikler.....	3
2.1.4. Adenovirüslerin onkogenik özellikleri.....	6
2.1.5. Patoloji ve patogenez.....	7
2.1.6. Klinik belirtiler.....	8
2.1.7. Tanı.....	12
2.1.8. Sağaltım.....	13
2.1.9. Epidemiyoloji.....	14
2.1.10. Korunma ve kontrol.....	15
<b>2.2. Solunum Sinsityal Virüsü.....</b>	<b>16</b>
2.2.1. Tarihçe.....	16
2.2.2. Sınıflama.....	16
2.2.3. Yapısal özellikler.....	17
2.2.4. Patoloji ve patogenez.....	19
2.2.5. Klinik belirtiler.....	21
2.2.6. Tanı.....	23
2.2.7. Sağaltım.....	24
2.2.8. Epidemiyoloji.....	25
2.2.9. Korunma ve kontrol.....	26
<b>2.3. Parainfluenza Virüsleri.....</b>	<b>27</b>
2.3.1. Tarihçe.....	27
2.3.2. Sınıflama.....	28
2.3.3. Yapısal özellikler.....	28
2.3.4. Patoloji ve patogenez.....	30
2.3.5. Klinik belirtiler.....	31
2.3.6. Tanı.....	33
2.3.7. Sağaltım.....	34
2.3.8. Epidemiyoloji.....	34
2.3.9. Korunma ve kontrol.....	36

<b><u>3. GEREÇ VE YÖNTEM</u></b> .....	<b>37</b>
<b>3.1. Kültür öncesi yapılan hazırlıklar</b> .....	<b>37</b>
3.1.1. Kullanılan cam eşyaların sterilizasyonu.....	37
3.1.2. İzolasyon ve identifikasyon için gerekli çözelti ve serumlar....	37
3.1.3. Besiyerleri.....	39
<b>3.2. Hasta seçimi ve örnek alma</b> .....	<b>40</b>
3.2.1. Hasta seçimi.....	40
3.2.2. Örnek alma.....	41
<b>3.3. Tek tabakalı hücre kültürünün hazırlanması</b> .....	<b>41</b>
3.3.1. Hücreler.....	41
3.3.2. Stok kültürden pasaj.....	41
<b>3.4. Tüp kültürlerinin hazırlanması</b> .....	<b>42</b>
<b>3.5. Örneklerin tek tabakalı hücreler üzerine ekimi</b> .....	<b>42</b>
<b>3.6. Tüp kültürlerinin izlenmesi</b> .....	<b>42</b>
<b>3.7. Virüs izolasyonu ve tanımlama</b> .....	<b>43</b>
<b><u>4. BULGULAR</u></b> .....	<b>45</b>
<b><u>5. TARTIŞMA</u></b> .....	<b>49</b>
<b><u>6. ÖZET</u></b> .....	<b>54</b>
<b><u>7. SUMMARY</u></b> .....	<b>55</b>
<b><u>8. KAYNAKLAR</u></b> .....	<b>56</b>

## ÖNSÖZ

Tez çalışmam esnasında, her türlü desteği ve yardımı sağlayan sayın hocam **Prof.Dr.Demir Serter'e** ve çalışmamın her aşamasında bilgi ve deneyim-leri ile yol gösterici olan Sayın **Doç.Dr.Deniz Dereli'ye**, hasta örneklerimin toplanmasında yardımlarından dolayı **Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı** asistanlarıyla, Ege Ordu Komutanlığı Bornova Merkez Askeri Birliği'ndeki doktor arkadaşlarıma teşekkürlerimi borç bilirim. Ayrıca yetişmemde emeği geçen Klinik Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı ile Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndaki değerli hocalarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**Dr. Tansu Yamazhan**

# 1. GİRİŞ

Viral solunum yolu enfeksiyonları, dünyada ve ülkemizde önemli bir sağlık sorunu oluşturmaktadır. Bu enfeksiyonlar, basit soğuk algınlığından, ağır pnömoni ve bronkopnömonilere kadar değişen bir spektrum göstermekte ve kendiliğinden iyileşebildiği gibi, ölümlerle de sonuçlanabilmektedir.

Solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan virüsler çok çeşitli olabilmektedir. Bunlar arasında influenza virüsü, solunum sinsityal virüsü, parainfluenza virüsleri, rino ve korona virüsleri ile eko ve koksaki virüsleri en önemlileridir.

Bu virüsler arasında solunum sinsityal virüsü, özellikle yaşamın ilk yıllarında ağır bronşiyolit ve pnömonilere yol açarak bebek ölümlerinin önemli bir nedenini oluşturmaktadır. Parainfluenza virüsleri yine küçük yaşta çocuklarda ağır bir hastalık tablosu olan laringotrakeobronşitten (krup) sorumlu olmaları, adenovirüsler ise çocuklarda pnömoni ve akut solunum yolu enfeksiyonu tablolarının yanısıra, acemi asker birliklerinde yaptıkları pnömoni epidemileri açısından daha fazla önem taşımaktadırlar.

Bu tez çalışmasının amacı; insan sağlığı açısından bu denli önem taşıyan ve neden oldukları klinik tablolardan bazıları sağaltılabilir veya önlenabilir nitelikte olan, solunum sinsityal virüsü, adenovirüs ve parainfluenza virüslerinin bölgemizdeki epidemiyolojik dağılımını araştırmak olduğu kadar, varlıklarını virolojik olarak da kanıtlamaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. ADENOVİRÜSLER

#### 2.1.1. Tarihçe

Adenovirüsler, ilk kez 1950'li yılların başında akut solunum yolu enfeksiyonlarının etiolojisini araştıran iki farklı araştırma grubu tarafından tanımlanmıştır.

1953 yılında Rowe ve arkadaşları, operasyon sırasında alınan adenoid dokudan hazırlanan primer hücre kültürlerinde spontan dejenerasyonun varlığını gözlemlemişler ve bunun bir virüsün üremesi sonucu oluştuğunu saptamışlardır. Bu virüse, kaynak aldığı dokudan esinlenerek "adenovirüs" adı verilmiştir. 1954 yılında Hillermann ve Werner, askeri birliklerde solunum yolu enfeksiyonlarının epidemiyolojisini araştırmışlar ve insan hücre kültürlerinde sitopatik değişikliklere neden olan yeni bir viral etkenin varlığını göstermişlerdir. İki farklı grup tarafından tanımlanan bu etkenin daha sonra aynı virüs olduğu anlaşılmıştır (1,2).

1962 yılında Trentin ve arkadaşları, yenidoğan hamsterlere adenovirüs tip 12'yi inoküle ederek tümör gelişimine neden olmuşlardır. Böylece adenovirüsler, bundan sonraki yıllarda kanser-virüs ilişkisinin incelenmesinde model olarak kullanılmaya başlanmıştır. Günümüze değin süren çalışmalarda adenovirüslerin, insanlarda ve yavru hamsterler dışındaki laboratuvar hayvanlarında tümör gelişimine neden olduğu ispatlanamamıştır.

#### 2.1.2. Sınıflama

Adenoviridae familyası geniş bir virüs topluluğu olup, kapsamında **Mastadenovirus** ve **Aviadenovirus** adı verilen iki genus bulunmaktadır. Aviadenovirus genusu kuşlardan elde edilmiş adenovirüsleri, mastadenovirüs genusu ise insan, sığır, köpek, at gibi memelilerin adenovirüslerini içermektedir (3).

Mastadenovirüs genusunda insanlardan izole edilmiş 47 serotip bulunmaktadır ve bunlara *insan adenovirüsleri* adı verilmektedir. Serotipler, kan hücrelerini aglütine etme yeteneklerine göre 6 altgruba (A-F) ayrılırlar.

**Tablo 2.1.** İnsan adenovirüslerinin (mastadenovirus H) sınıflanması.

Altgrup	Hemaglütinasyon grupları	Serotip	Onkojenik potansiyel		DNA'daki G-C oranı	
			Hayvanda tümör oluşturma	Doku kültüründe değişiklik		
A	IV	(aglütinasyon çok az veya yok)	12,18,31	Yüksek derecede	+	48-49
B	I	(maymun eritrositlerinin tam aglütinasyonu)	3,7,11,14,16,21, 34,35	Orta derecede	+	50-52
C	III	(fare eritrositlerinin kısmen aglütinasyonu)	1,2,5,6	Düşük veya yok	+	57-59
D	II	(fare eritrositlerinin tam aglütinasyonu)	8,9,10,13,15,17,19, 20,22-30,32,33, 36-39,42-47	Düşük veya yok (meme tümörleri)	+	57-61
E	III		4	Düşük veya yok	+	57-59
F	III		40,41	Bilinmiyor		

### **2.1.3. Yapısal özellikler**

Adenovirüsler, 70-90 nm çapında, zarfsız, ikozahedral yapıda DNA virüsleridir. Viral genom çift sarmallı, lineer bir DNA'dan yapılmıştır ve molekül ağırlığı  $20-25 \times 10^6$  daltondur. Viral kapsidleri, 12 eksene dizilmiş 252 kapsomerden yapılmıştır. Kapsomerler 3 farklı yapı göstermektedir. 240 tanesi **hekzon**, 12 tanesi **penton** yapısındadır ve pentonların her birinden **fiber** adı verilen, yumru şeklinde uçları olan çomaklar çıkar (1,3,4).

Adenovirüslerin dış yüzeylerinde bulunan bu yapısal elemanlar birbirlerinden hem şeklen hem de antijenik yapı olarak farklıdır.

Virial partikülde alfa, beta ve gama olmak üzere üç farklı antijenik yapı ayırdedilebilmektedir. Bunlardan alfa antijeni hekzon kökenli olup, gruba özgüdür ve tüm insan adenovirüslerinde ortaktır. Beta antijeni penton kökenlidir; adenovirüslerin sitopatik etkisinden sorumludur ve gruba özgül niteliktedir. Gama antijeni ise tipe özgüdür, fiber kaynaklıdır ve hemaglütinin niteliğindedir (3,4).

Adenovirüsler, yapılarında bulunan guanin+sitozin (G+C) oranına göre üç gruba ayrılırlar. Birinci grupta düşük miktarda (%48) G+C içerenler, ikinci grupta orta derecede (%50) G+C taşıyanlar yer almakta ve üçüncü grubu da yüksek oranda (%58) G+C içerenler oluşturmaktadır. G+C oranı düştükçe virüsün onkojenik potansiyeli artmaktadır.

Adenovirüsler, etere dirençli fakat ısıya duyarlıdırlar. 56°C'de yarım saatte harap olurlar. Genellikle dondurulmuş olarak saklanırlar; liyofilize edildiklerinde aktivitelerini yitirmezler.

Adenovirus genomu, dokuzu yapısal işlevden sorumlu olmak üzere toplam 11 polipeptid içermektedir. Bu proteinler polipeptid I 'den itibaren sırayla numaralandırılır.

Virial kapsid 7 polipeptidten oluşur. Bunlardan polipeptid II, en çok bulunan viryon bileşenidir. Hekzon proteini, birbirine sıkıca bağlı üç polipeptid II molekülünden ibarettir ve bu yapıya **hekzon kapsomer** adı verilir. Polipeptid VI, VIII, IX da hekzon proteininde mevcuttur ve tüm bu yapılar hekzon kapsomerini stabilize ederler. Beş adet polipeptid III, **penton proteinini** oluşturur. Polipeptid IIIa, pentonu çevreleyen hekzon üniteleriyle ilişkilidir ve kapsidin komşu parçalarını birbirine bağlar. Polipeptid IV, penton bazdan çıkan fiber proteinini oluşturmaktadır.

Viryon çekirdeğinde ise 4 protein (polipeptid V, VII, mu, terminal protein) ve virial genom bulunmaktadır. Polipeptid VII (174 aminoasit) en önemli çekirdek proteinidir ve virial DNA'yı saran histon benzeri merkez olarak görev yapmaktadır. Polipeptid V (368 aa) penton baza bağlanarak çekirdekle kapsid arasında bir köprü oluşturur. Çekirdekte bulunan diğer proteinler, mu (19 aa) ve

terminal proteindir (671 aa) ve bu proteinlerin işlevi henüz kesinlik kazanmamıştır (1,4).

Adenovirüs replikasyonu HeLa hücre kültürlerinde çalışılmış, viral siklusun 32-36 saat sürdüğü ve bir siklusta yaklaşık 10.000 viryonun oluştuğu gösterilmiştir. Bir insan adenovirüsünün üremesinde ilk aşama, virüsün fiberleri ile hücre yüzeyindeki fiber reseptörlerine yapışmasıdır. Daha sonra virüs hücre içine endositoz ile alınır ve sırasıyla sitoplazma ve ardından nükleus içinde kapsidinden ayrılır. Enfeksiyonun en erken belirtisi, konak hücre metabolizmasının inhibe olmasına bağlı olarak, protein sentezinin durmasıdır. Çoğalma enfekte hücrenin nükleusunda gerçekleşir. İlk ortaya çıkan E1A ve E1B proteinleridir ve bunlar, diğer erken proteinlerin transkripsiyonunu başlatırlar. Erken proteinler, hücre büyümesi ve DNA replikasyonundan sorumluyken, geç proteinler yapısal proteinlerdir ve çoğalmanın geç dönemini kodlamaktadırlar (4).

Viral partikülü oluşturan diğer elemanlar, sitoplazmada şekillenmeye başlar ve virüsün biraraya gelmesi için nükleusa ulaştırılır. Ardından çekirdek proteinleri ve viral DNA, boş olan kapsidin içine girerler. Viral partikül şekillenerek olgun viryon haline gelir. Bu olay, enfekte hücrenin ölümü ile sonuçlanır.

Adenovirüsler, sadece epitelyal kökenli hücrelerde ürerler. Primer insan embriyonu böbrek (HEK) hücreleri, çoğu adenovirüs için en iyi konaktır; ancak HEK hücrelerinin elde edilmesi güçtür ve adeno-associated virüs (AAV) ile kontamine olabilmektedirler (5). Hep-2, HeLa, A 549 gibi sürekli epitelyal hücre dizinleri de adenovirüslerin üremelerinde son derece duyarlıdır. 293 hücre dizini, özellikle enterik tipler olan Ad tip 40 ve 41 kökenleri için iyi bir konaktır (1).

Virüs bu hücrelerde özel bir sitopatik etki oluşturmaktadır. Bu etki ile hücreler yuvarlaklaşır ve üzüm salkımına benzer kümeler oluştururlar. Adenovirüs tip 3, 4, 7 ve 14'ün, 1, 2, 5 ve 6. tiplerine göre daha hızlı ve kısa sürede üredikleri saptanmıştır (1).

Adenovirüsler, sürekli hücre kültürlerinde glikolizi arttırarak hücrelerin çok miktarda asit üretmesine neden olurlar. Düşük pH'a bağlı renk değişikliğinin gözlenmesi, adenovirüslerin hücre kültür yöntemi ile tanısında yol gösterici bir faktör olabilmektedir (3).

Adenovirüsler, enfekte hücrelerin nükleuslarında toplanarak intranükleer inklüzyon cisimleri oluştururlar. Başlangıçta Feulgen-negatif ve eozinofilik olan bu cisimcikler, enfeksiyon ilerledikçe Feulgen-pozitif ve bazofilik hale geçerler.

#### **2.1.4. Adenovirüslerin onkojenik özellikleri**

1962'de Trentin ve arkadaşları, insan adenovirüsü tip 12'nin yenidoğan hamsterlere inoküle edildikten sonra, malin tümör gelişimine neden olduğunu kanıtlayarak, ilk kez bir insan virüsünün onkogenezi indüklediğini göstermişlerdir. O zamandan beri, adenovirüslerin, insanlarda malin bir hastalığa neden olduğunu gösteren epidemiyolojik bir kanıtla rastlanmamıştır. Nörojenik tümörlerde adenovirüs mRNA'sı ile ilgili tek yayın bulunmasına rağmen, geniş çaplı araştırmalarda insan tümörlerinde adenovirüs nükleik asitlerini saptamak mümkün olmamıştır. Yine de hayvanlarda tümörleri indükleme ve hücre kültürlerini transforme etme yetenekleri, adenovirüslerin, onkogenezin araştırılması için önemli bir model olmalarını sağlamıştır (1). Onkojenik transformasyonu, E1A ve E1B genlerinin düzenlediği gösterilmiştir. E1A ve E1B proteinleri ortaya çıktıktan sonra onkojenik transformasyona giden hücrede virüs replikasyonu durmaktadır. E1A proteini, hücresel büyümeyi baskılayan proteinlerden p53'e, E1B ise retinoblastoma (RB) proteinine bağlanmakta ve bunun sonucunda hücrede sonsuz çoğalma süreci başlamaktadır (1,2,3,4).

Adenovirüsler özellikle yeni doğmuş hamsterlerde *in vivo* ve *in vitro* olarak tümör oluşumunu indüklemektedirler. Yavru hamsterlerde oluşan bu tümörlerde viral DNA hücresel DNA'ya entegre olduğundan, tümörlerden adenovirüs izole edilememekte, ancak aynı hücrelerde immünfloresans yöntemiyle virüse özgül proteinlerin (T antijeni) varlığı gösterilmektedir. Grup A adenovirüsleri (örneğin Ad12, Ad18) yüksek derecede onkojenik olup, çoğu

hayvanda 4 ay içinde tümör oluştururlar; grup B virüsler (örneğin Ad3, Ad7) zayıf onkojenik özellik gösterir ve 4-18 ay içinde tümör oluştururlar; grup D virüsleri de zayıf onkojeniktir ve 3-5 ay içinde meme tümörü oluşumunu indükledikleri gösterilmiştir. Grup C ve E virüslerinin tümörjenik olup olmadığı bilinmemektedir (1).

### **2.1.5. Patoloji ve Patogenez**

Adenovirüsler vücuda; ağız, nazofarinks veya konjunktiva yoluyla girerler. Ad1, Ad5 ve Ad6, çocuklarda vücudun her yerinde bulunur ve özellikle endemik yayılımdan sorumlu olan dışkıda aylarca kalabilirler. Yerel olarak ilk çoğaldığı yer orofarinksteki tonsil dokularıdır. Çoğalma için tercih edilen hücre solunum epitelidir; ancak lenfositlerde de sınırlı bir replikasyon olabilir. Adenovirüsler, yerel çoğalmanın ardından, viremi yaparak iç organlara yayılabilirler. Bu durum özellikle bağışık yetmezliği olan bireylerde karşımıza çıkmaktadır. Virüsün fiber proteinlerindeki antijenik değişikliklere bağlı olarak, farklı kökenler farklı dokular için özgüllük göstermektedir (1).

Adenovirüsler, enfekte hücrede üç tip etkileşim gösterirler. Bunlardan birincisi **litik enfeksiyondur** ve virüs, hücreye replikatif dönemde girdiği zaman görülür. Litik enfeksiyon hücre ölümüyle sonuçlanır ve bir siklusta, %1-5 oranında (10.000-1 milyon) enfeksiyon oluşturabilen virüs partikülü meydana gelmektedir. İkinci etkileşim **latent veya kronik enfeksiyondur**. Virüs, adenoid, tonsil ve Peyer plakları gibi lenfoid dokularda latent olarak kalma eğilimindedir. Bağışık yetmezlik ve diğer etkenlerle enfeksiyon durumlarında reaktivasyon gözlenebilir. Bazı durumlarda, hücre ölümüne neden olmadan, inaparan enfeksiyonlar yapar. Üçüncü virüs-hücre etkileşimi, **onkojenik transformasyondur**. Viral DNA, konak hücrenin DNA'sına entegre olarak onunla birlikte replike olur, fakat enfeksiyöz viryonlar oluşmaz. Her üç durumda da virüse özgü proteinler (T antijenleri) sentezlenmektedir. Bu antijenler, enfeksiyöz viryonlar olmasa bile, adenovirüslerin varlığını kanıtlamada önemlidir (1,3).

Adenovirüs enfeksiyonlarının en önemli histolojik göstergesi virüs ile enfekte epitel hücrelerinin içinde bulunan bazofilik intranükleer inklüzyon cisimcikleridir. Bu tip inklüzyon cisimcikleri içeren solunum sistemi epitel hücrelerine **leke hücresi (smudge cell)** adı verilmektedir. Inklüzyonlar, CMV inklüzyonlarına benzemekle birlikte, adenovirüsler, hücrede büyümeye yol açmazlar. Bu inklüzyonlara mononükleer hücre infiltrasyonları ve epitel hücrelerinde nekroz eşlik eder (1).

Adenovirüslerin yapısal proteinlerinden biri olan penton, adenovirüslerle enfekte olmayan hücrelere doğrudan etki gösterir. Doku kültüründeki hücrelere saflaştırılmış penton eklenmesi, hücrelerin hızla kültür plağı yüzeyinden ayrılmasına neden olmuştur. Pentonun insan hastalıklarındaki önemi henüz tam olarak tanımlanmamıştır, ancak fatal adenovirüs pnömonisi olgularının çoğunun kanında penton proteini saptanmıştır (1).

Adenovirüslerin yaptıkları doku invazyonu sonucunda; alveollerde fibrin ve hiyalin membranlar, nekrotizan bronşit, bronşiyolit, interstisyel pnömoni gibi pulmoner sendromlar görülmektedir. Konjunktivada ise eksuda ve mononükleer infiltratların bulunduğu lezyonlar karşımıza çıkmaktadır. Bu lezyonlarda ülserasyon veya neovaskülarizasyon genellikle görülmez.

Adenovirüs enfeksiyonlarından sonra oluşan, hem gruba, hem de tipe özgül antikolar, enfeksiyonun sonlandırılmasını sağladıkları gibi, aynı serotiple reenfeksiyonu da önlemektedirler. Hastalığın rezolüsyonunda, hücresel bağışık yanıtın da büyük önem taşıması nedeniyle, bu tür bir bağışık yetmezliği olanlarda, enfeksiyonun sınırlanması mümkün olmamaktadır (2).

#### **2.1.6. Klinik belirtiler**

Adenoviral enfeksiyonlar, başta solunum sistemi olmak üzere, göz, gastrointestinal ve üriner sistem gibi pek çok vücut bölgesinde karşımıza çıkmaktadır. İnsanlar için patojen 49 adenovirüs serotipi olmakla birlikte, adenovirüsle ilişkili hastalıklarda en çok 1'den 7'ye kadar olan serotiplerle karşılaşmaktadır. Adenoviral enfeksiyonların önemli bir özelliği, bir tipin değişik klinik tablolara neden olabilmesinin yanı sıra, aynı hastalık tablosunun

farklı serotipler tarafından da oluşturulabilmesidir (1). Çoğu adenovirüs enfeksiyonu subklinik seyreder ve aynı serotiple reenfeksiyonu önleyen antikorların oluşumu ile sonuçlanır. Adenovirüslerin insanlarda neden oldukları hastalıklar, Tablo 2.2'de görülmektedir.

**Tablo 2.2. Adenovirüslerin neden oldukları hastalıklar.**

Hasta Grubu	Sendromlar	Sık Görülen Serotipler
Yenidoğan	Ölümcül dissemine enfeksiyon	3,7,21,30
Bebek	Nezle, farenjit	1,2,5
Çocuk	Üst solunum yolları hastalıkları	1,2,4-6
	Faringokonjunktival ateş	3,7
	Hemorajik sistit	11,21
	İshal	2,3,5,40,41
	İnvaginasyon	1,2,4,5
	Meningoensefalit	2,6,7,12
Genç erişkin	Akut solunum sistemi hastalığı ve pnömoni	3,4,7
Erişkin	Epidemik keratokonjunktivit	8,19,37
Bağışık yetmezliği olanlar	Yayılım ile birlikte pnömoni, üriner sistem enfeksiyonu	5,31,34,35,39,42-47
	SSS hastalığı (ansefalit dahil)	7,12,32

(Serter D. Adenovirüsler. Virüs, Riketsiya ve Klamidya Hastalıkları. Nobel Tıp Kitabevleri, İzmir 1997,120.)

### **A) Solunum Yolları Hastalıkları**

**1. Akut Ateşli Farenjit:** 5 yaşın altındaki çocuklarda akut solunum sistemi hastalıklarının yaklaşık %5'i adenovirüslerce oluşturulur. Başlıca belirtileri nazal konjesyon, nezle, öksürük ve boğaz ağrısıdır. Ayrıca bazı olgularda, klinik olarak A grubu streptokoklarınkine benzeyen eksüdatif tonsillit tablosuna neden olabilirler. Solunum sistemi semptomlarına çoğunlukla ateş,

halsizlik, miyalji ve başağrısı gibi sistemik belirtiler eşlik eder. Sıklıkla adenovirüs serotip 1,2,5,6 (Grup C) ve daha az olmak üzere serotip 3 (Grup B) bu tablolardan sorumludur (1,2,4).

**2. Faringokonjunktival Ateş:** Yaz kamplarındaki çocuklarda epidemilerle seyreden önemli bir klinik tablodur. Hastalarda ateşle birlikte halsizlik, kırıklık, farenjit, servikal lenfadenopati ve konjunktivit görülür. Konjunktivit genellikle foliküler tiptedir ve bilateral veya ünilateral olabilir. Bulber ve palpebral konjunktivit birarada olur. Sıklıkla Ad3, Ad7 ve Ad14 tarafından oluşturulur (1).

**3. Akut Solunum Yolları Hastalığı:** Bu hastalık tablosu acemi asker birliklerine yeni gelen erişkinlerin, kalabalık ve havasız ortamlarda birarada yaşamaları sonucunda ortaya çıkmaktadır. Farenjit, ateş, öksürük ve halsizlikle karakterizedir. Çoğunlukla Ad4 ve Ad7 ve daha az olarak Ad3 tarafından oluşturulur (6).

**4. Pnömoni:** Adenovirüsler, çocukluk çağında görülen tüm pnömonilerin yaklaşık %10'undan sorumludurlar (1,2,7). Pnömonilerin çoğu, alt solunum yolu hastalığı epidemileri sırasında komplikasyon olarak karşımıza çıkmaktadır. Özellikle Ad3 ve Ad7'nin çocuklarda ağır pnömonilere sebep olduğu bilinmektedir. Adenovirüs pnömonilerinde fizik bakıda akciğer seslerinde kabalaşma, ral ve ronküsler duyulurken, akciğer radyogramında alt zonlarda peteşiyal interstisyel infiltratlara rastlanır.

**5. Boğmaca-Benzeri Sendrom:** Adenovirüs enfeksiyonları ile boğmaca-benzeri sendrom arasındaki ilişki, adenoviral enfeksiyonlar sırasında boğmaca öksürüğünün görülmesi üzerine kurulmuştur. Ancak adenovirüslerin, tek başına bu sendroma neden olabildiği ispatlanmamıştır. Son yıllarda *Bordetella pertussis* enfeksiyonları sırasında tonsiller dokuda latent olarak bulunan adenovirüslerin reaktif olarak bu sendromu oluşturdukları üzerinde durulmaktadır (1).

## **B) Göz Enfeksiyonları**

Akut foliküler konjunktivit, solunum yolları hastalığı sırasında karşımıza çıkabildiği gibi, ayrı bir klinik tablo olarak da başlayabilir. Hastalık sırasında

konjunktivitle birlikte preauriküler lenfadenopati görülebilir. Kuluçka dönemi genellikle 6-9 gündür. Enfeksiyon sporadik olarak ortaya çıkabildiği gibi, kaynağın göl veya yüzme havuzu olduğu durumlarda endemik şekilde de görülebilmektedir. Bu son durum oldukça sık rastlanılan bir tablodur ve "yüzme havuzu konjunktiviti" adını almaktadır. Virüs, enfekte bireylerin konjunktivasından izole edilmesine rağmen, su örneklerinden izole edilememiştir. Bu tablodan sıklıkla Ad3 ve Ad7 sorumludur fakat Ad 1, 2, 4, 6, 9, 10, 11, 15, 16 serotipleri de bu enfeksiyonu oluşturabilir (1).

Yüzme havuzu konjunktiviti, yalnız konjunktivada sınırlı olmasına karşın, adenovirüslerin oluşturduğu epidemik keratokonjunktivit, çok daha bulaşıcı ve ağır bir tablodur. Gözde bulunabilecek tahriş veya zedelenme hastalığının oluşmasını kolaylaştırdığı gibi, göz hekimlerinin enfekte gözleri muayeneleri sırasında hastadan hastaya da bulaşabilmektedir. Konjunktivitın yanı sıra periauriküler lenfadenopati, göz çevresinde ödem, gözde ağrı ve sulanma birlikte görülür. Korneal opasite oluşabilir ve uzun yıllar devam edebilir. Epidemik keratokonjunktivit etiyolojisinden Ad8 sorumludur. Son yıllarda epidemilerde Ad37 de izole edilmeye başlanmıştır (1).

### **C) Gastrointestinal Sistem Hastalıkları**

Adenovirüsler barsak hücrelerinde çoğalabilir ve dışkıda bulunabilirler. Ancak bunların dışkıda saptanmaları her zaman hastalıkla ilişkili olmamaktadır. İnfantil diyareden sorumlu iki farklı enterik adenovirüs (Ad40 ve Ad42) vardır. Klinik olarak hastalarda subfebril bir ateş ve 1-2 hafta sürebilen sulu diyare görülür.

Adenovirüslerle ilişkili bir diğer sendrom da, *invaginasyon*'dur. Bu hastalarda, cerrahi sırasında çıkarılan lenf düğümlerinden ve dışkıdan adenovirüs tip 1, 2, 5 ve 6 izole edilmiştir. Bu tablo ile adenovirüslerin ilişkisi doğrudan kanıtlanmamışsa da, bu virüslerin barsaklardaki lenfoid dokularda büyümeye neden olarak invaginasyonu başlattıkları kabul edilmektedir (1,2).

## **D) Diğer Hastalıklar**

**1. Akut Hemorajik Sistit:** Belirgin bir hematüriyle karakterize bir adenoviral enfeksiyon tablosudur. Hastalık çoğunlukla erkek çocuklarda görülür ve ılımlı seyreder. Ateş, hipertansiyon ve böbrek fonksiyon testlerinde bozukluk genellikle görülmez. Ad11 ve Ad21 etiyolojiden sorumlu serotiplerdir.

**2. Meningoensefalit:** Ad3, Ad6, Ad7 ve Ad12'nin nadir olarak BOS'a geçtiği ve meningoensefalit tablosu oluşturduğu gösterilmiştir (1).

## **E) Bağışık Yetmezliği Olan Bireylerde Adenoviral Enfeksiyonlar**

Adenovirüsler, bağışık yetmezliği olan hastalarda herpesvirüsleri kadar sık görülmemekle birlikte, önemli oranda mortaliteye sebep olabilmektedirler. Çocuklarda serotip 1, 2, 5 ve 6, erişkinlerde ise serotip 4, bu tür hastalardan en sık izole edilen tiplerdir.

Özellikle karaciğer transplantlı olgularda, adenovirüslerin sebep olduğu hepatitler önemlidir. Etiyolojide endojen kaynaklı latent virüslerin reaktivasyonu üzerinde durulmaktadır (1).

Son yıllarda AIDS'li hastaların idrarından Ad34, Ad35 ve Ad7, kemik iliği transplantlı olgulardan da Ad11 ve Ad34 izole edilmektedir.

### **2.1.7.Tanı**

**A) Virüs İzolasyonu:** Adenovirüslerin birçoğu hücre kültürü yöntemiyle izole edilebilmektedir. Bu amaçla insan hücrelerinden elde edilmiş epitelyal hücre kültürleri (örn., insan embriyonik böbrek hücreleri) veya sürekli hücre kültürleri (örn., HeLa ve insan epidermal karsinom hücreleri [Hep2]) kullanılmaktadır (1,2,3). Akut enfeksiyon süresince adenovirüsler, 1-3 gün boyunca boğazdan, 3-5 gün boyunca burundan, dışkıdan veya gözden izole edilebilirler. Genel hastalık semptomları veya bağışık yetmezliği olan bireylerde bu süre 2-12 aya kadar uzayabilmektedir (1). İnceleme materyeli hastalık belirtilerine göre alınır. Duruma göre konjunktiva sürüntüsü, boğaz salgısı, idrar, rektal sürüntü veya dışkı incelenir. Gözden virüs izolasyonu, yalnız konjunktivit olanlarda olasıdır. Ayrıca idrar materyeli, hücre kültürü için toksik

maddeler içerdiğinden 2-4 saatlik bir enkübasyondan sonra inoküle edilmelidir (1).

Adenovirüsler, hücre kültürlerinde karakteristik sitopatik etkileriyle tanınırlar. Üreyen virüsün adenovirüs olup olmadığı floresan antikor veya kompleman birleşmesi (KB) testleriyle gruba özgül antijenlerin saptanması ile anlaşılır. Daha sonra hemaglütinasyon önlenim (HAÖ) ve nötralizasyon testleriyle tipe özgül antijenler araştırılır (1,4,8).

**B) Serolojik Tanı:** KB, HAÖ, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ve nötralizasyon testleri, adenovirüslerin tanısında kullanılan serolojik testlerdir. Adenoviral enfeksiyonlar sırasında hastalığın 7. gününden itibaren hastanın kanında antikorlar saptanabilir. Akut ve konvalesan dönem serumları arasında 4 kat titre artışının, yani serokonversiyonun görülmesi tanı koydurucudur.

HAÖ ve serum nötralizasyon testleriyle her gruptaki adenovirüsler spesifik tiplere ayrılabilir. Aynı amaç için radioimmunoassay (RIA) ve ELISA yöntemleri de kullanılmaktadır (9).

**C) Yeni Yöntemler:** Günümüzde klinik örneklerde viral DNA; hibridizasyon ve kısıtlayıcı endonükleaz yöntemleri birarada kullanılarak saptanabilmektedir (10). Bu yöntemde, genomda bulunan özgül DNA dizilimleri kullanılmaktadır. Son zamanlarda birçok doku ve vücut sıvısında polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi kullanılarak adenoviral enfeksiyonların tanısına gidilebilmektedir. Bu yöntem özellikle hücre kültürlerinde üremeyen enterik adenovirüslerin (Ad40 ve Ad41) tanısında yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. PZR primerleri, pekçok serotip için ortak, olan hekzon kodlayan bölgeden seçilmektedir (1).

### **2.1.8.Sağaltım**

Adenovirüslere karşı etkili bir antiviral ilaç yoktur. Solunum sistemi bulguları olanların semptomatik tedavisi yeterlidir (1,2,4). Ancak göz

enfeksiyonlarının korneal sekellere yol açabilmesi açısından tedavisi gerekmektedir. Bu amaçla, herpesvirüslerinin DNA replikasyonunu inhibe eden ilaçlardan olan iyododeoksiüridin ve adenin arabinozid epidemik keratokonjunktivitte kullanılmaktadır. Son zamanlarda, kemik iliği transplantlı hastalarda gelişen hemorajik sistit tedavisinde intravenöz ribavirin uygulanmaktadır. Bu tedavinin hematüri ve üriner semptomları geriletmediği gösterilmişse de tedavinin etkinliği üzerinde çalışmalar devam etmektedir (1).

### **2.1.9. Epidemiyoloji**

Adenovirüsler, insanlar arasında yaygın olarak bulunan virüslerdir ve özellikle askeri birlikler veya kreş, bakımevleri gibi kapalı topluluklarda görülen solunum yolu enfeksiyonlarının önemli etkenleri arasındadırlar (1,6,11). Adenovirüsleri, oluşturdukları hastalık tablolarında etken olarak saptamak kolay değildir. Virüsün solunum lenfoid dokusunda latent olarak uzun süre bulunabilmesi ve tipe özgül serolojik yöntemlerin yaygın olarak kullanılamaması tanıda ve dolayısıyla epidemiyolojik araştırmalarda sorun yaratmaktadır (1).

Adenovirüsler, fekal-oral kontaminasyon, daha az oranda da damlacık enfeksiyonu ile bulaşır. Bu konuda yapılan çalışmalar sonucunda dışkıının, aerosollere göre bulaşmada daha önemli rol oynadığı ispatlanmıştır (1). Çocuklarda tüm ateşli hastalıkların %10'undan, solunum yolu hastalıklarının %2-5'inden adenovirüsler sorumludur (1,2,4,11). Asemptomatik bireylerde %3 oranında adenoviral taşıyıcılık olduğu belirlenmiştir. Virüsle karşılaşma yaşamın ilk iki yılı içinde, sıklıkla 6-12. aylarda olmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucu, çocuklardaki adenoviral enfeksiyonların %40-60'ından Ad tip 1, 2 ve 5 ve daha nadir olmak üzere Ad6'nın sorumlu olduğu gösterilmiştir (1,5,11,12). Ad tip 3, 4 ve 7 çoğunlukla genç erişkinlerde, özellikle askeri birliklerde ortaya çıkan üst solunum yolu enfeksiyonlarından, tip 3 ve 7 ise yüzme havuzu konjunktivitlerinden sorumludur. Tip 8 ile oluşan keratokonjunktivitler çoğunlukla göz hekimlerinin kontamine olmuş aletleriyle bulaşmaktadır. Pas, boya gibi parçacıkların göze kaçması sonucu oluşan travmalar kolaylaştırıcı faktörlerdir (1,2,3,4).

Tüm adenovirüslerin %83'ü Ocak-Mayıs ayları arasında, %17'si ise yaz mevsiminde bulunmuştur. Ad 1, 2, 5 ve 6 daha çok kış sonu; Ad3 Ağustos ve Eylül ayları; Ad7 ise Ağustos aylarında hakim olan serotiplerdir (13).

Adenovirüslerin A subgenuslarının daha çok bebeklerde, C'nin bebek ve küçük çocuklarda, tip 3 adenovirüslerin okul çocuklarında, tip 7'nin okul çocukları ve erişkinlerde, tip 4 ve 8 ile B ve D subgenuslarının da erişkinlerde daha fazla görüldüğü saptanmıştır. C subgenusuna ait virüsler, özellikle de tip 2, hem çocuk hem de erişkinlerde alt solunum yolu enfeksiyonları ile ilişkili bulunmuştur. Tip 3'ün yalnız çocuklarda, tip 7'nin ise erişkinlerde üst solunum yolu hastalığı yaptığı saptanmıştır (13).

Adenovirüslerin oluşturduğu akut solunum yolu enfeksiyonlarının %20-40'ı hospitalizasyon gerektirmektedir. Pek çok adenoviral sendrom hastane enfeksiyonları şeklinde yayılabilmektedir. Çocuk servislerindeki bir grup hastada enterik adenovirüslerin izolasyonu, özellikle hastane ortamının yayılımında önemli rol oynadığını göstermiştir. Adenoviral enfeksiyonlar, transplantasyon hastaları ve AIDS'liler için de sorun olmakta ve bazı adenovirüs tipleri bağışık sistemi baskılanmış hastalarda, ansefalit ve pnömoni gibi çeşitli fırsatçı enfeksiyonlara yol açabilmektedir (1).

#### **2.1.10. Korunma ve kontrol**

Adenovirüslerce oluşturulan enfeksiyonların önlenmesi amacıyla, günümüze değin çeşitli aşılar üretilmiştir.

Bugün, bu enfeksiyonlardan korunmada canlı aşılar kullanılmaktadır. Canlı atenüe aşıların üretiminde ilk olarak primer maymun böbrek hücreleri kullanılmıştır. Ancak bu hücrelerde bulunabilen SV40 virüsü ile kontaminasyonlara rastlanması nedeniyle, günümüzde maymun hücreleri, yerini insan diploid hücrelerine bırakmıştır.

Halen Ad4 ve Ad7'den hazırlanan, enterik kaplı oral aşılar özellikle ABD'de askeri birliklerin immünizasyonunda kullanılmaktadır. Enterik kapsülle paketlenmiş aşı serotipleri, solunum epitelini geçerek barsakta açılmakta ve

subklinik bir enfeksiyona neden olmaktadır. Sonuçta nötralizan antikorlarla oldukça iyi bir bağışıklık oluşmaktadır (1,3,6,11).

Ancak bu aşılar sadece askeri birliklerde kullanılmaktadır ve çocukların aşılınması için lisans almamıştır. Günümüzde çocuklarda en sık enfeksiyon oluşturan serotipler olan Ad1, Ad2 ve Ad5'e karşı aşı çalışmaları devam etmektedir. Bu kökenlerin atenüe edilmesinin güç olması ve adenovirüslerin onkojenik potansiyellerinin bulunması, bu aşuların çocukluk çağında rutin aşı programına alınmasını engellemiştir (1).

Adenoviral enfeksiyonlardan korunmada, yüzme havuzlarının klorlanması ve göz muayeneleri sırasında yeterli sterilizasyonun sağlanmasına da dikkat edilmelidir (3).

## **2.2. SOLUNUM SİNSİTYAL VİRÜSÜ**

### **2.2.1 Tarihçe**

Solunum sinsityal virüsü(SSV), ilk kez 1956 yılında Morris ve arkadaşları tarafından laboratuvar şempanzelerinde soğuk algınlığı salgını sırasında izole edilmiş ve bu virüse "şempanzenin nezle ajanı (chimpanzee coryza agent = CCA)" adı verilmiştir. Bundan kısa süre sonra, Channok ve arkadaşları, pnömoni ve krup sendromu olan iki ayrı çocukta, karakteristik sitopatik etkisi ile CCA'ya çok benzeyen yeni bir virüs izole etmişlerdir. Böylece insanlarda hastalık oluşturduğu kesinleşen virüsün adı "solunum sinsityal virüsü" olarak değiştirilmiştir. Geçen yıllar içerisinde dünyanın pek çok yerinde, çocuklarda alt solunum yolu enfeksiyonlarına yol açan bu virüsün saptandığına dair bilgiler yayınlanmıştır (14,15).

### **2.2.2. Sınıflama**

SSV, *Paramyxoviridae* familyasının *Pneumovirus* genusunda yer alır. Bu genusta SSV dışında; farelerin pnömovirüsü (PVM), sığır sinsityal virüsü (ORSV), oğlak sinsityal virüsü ve hindi rinotrakeit virüsü (TRTV) de bulunur.

**Tablo 2.3. Paramikzoviride ailesi.**

• <b>Pneumovirus generusu</b> (Solunum sinsityal virüsü)
• <b>Morbilivirus generusu</b> (Kızamık virüsü)
• <b>Paramyxovirus generusu</b> -İnsan parainfluenza virüsü tip 1, 2, 3, 4A ve 4B -Sendai virüsü -Sığır parainfluenza virüsü tip 3 -Simian virüs 5 (SV5) -Newcastle hastalığı virüsü -Kabakulak virüsü

### **2.2.3. Yapısal özellikler**

Solunum sinsityal virüsü, zarflı, tek negatif sarmallı, 120-300 nm çapında bir RNA virüsüdür. Elektron mikroskopunda virüs, sferik ve filamantöz formları ile pleomorfik özellik gösterir.

SSV, paramikzovirüs familyasında olmakla birlikte, genomik yapı olarak bu familyadan birtakım farklılıklar göstermektedir. Virüs, diğer paramikzovirüslerden biraz daha küçüktür ve 13,5 nm çapında bir nükleokapside sahiptir. SSV genomu 10 adet viral proteini (NS1, NS2, N, P, M, SH, G, F, M2, L), paramikzovirüslerde ise viral genom 6 veya 7 proteini kodlamaktadır (NP, PIV, M, F, SH, HN, L) (14,16).

Yapısal olmayan proteinlerden NS1 ve NS2, matriks proteinlerinden M2 ve SH proteinleri, pnömovirüslerde bulunan fakat paramikzovirüs familyasında olmayan proteinlerdir.

Virüsün dış yüzeyinde bulunan glikoprotein yapısındaki çıkıntılar, 12 nm uzunluğunda, birbirlerinden 10 nm uzaklıktadır ve bu yapıların hemaglutinasyon ve nöraminidaz aktiviteleri yoktur.

SSV genomunda bulunan 10 proteinden 3 tanesi transmembran yüzey proteinleridir. Bu yapısal proteinlerin (G, F, SH), virüs enfektivite ve patojenitesinde önemli role sahip oldukları bilinmektedir. F proteininin, viral ve hücresel

membranlardan füzyon yolu ile viral penetrasyonu başlattığı, ayrıca karakteristik sinsitya oluşumuna yol açtığı bilinmektedir. G proteini, virüsün konak hücreye bağlanmasını sağlamaktadır. SH proteini ise, küçük hidrofobik bir proteindir ve G ve F proteinleri ile birlikte membran füzyonunda rol oynayarak viral enfeksiyonu başlatmaktadır (14).

Genomda bulunan diğer iki protein (M ve M2), nonglikolize matriks proteinleridir. Bunlardan M2 proteini pnömovirüslere özgüdür. Her iki proteinin, virüsün paketlenmesinden önce nükleokapsid ile zarfın biraraya gelmesini sağladıkları bilinmektedir. Yapısal proteinlerden üçü (N, P, L), genomik RNA ile birlikte viral nükleokapsidi oluşturmaktadır. Bunlardan N, en önemli nükleokapsid proteindir ve genomik RNA'ya sıkıca bağlıdır. P proteini bir fosfoproteindir. L ise polimeraz yapısında bir proteindir.

Son iki protein (NS1 ve NS2) yapısal olmayan proteinlerdir ve enfekte hücrelerin içinde birikirler; viryon içinde çok az miktarda bulunurlar ve işlevleri konusunda kesin bir bilgi yoktur (14).

SSV'nin replikasyonu, tek sarmallı RNA virüslerinin replikasyonu ile aynıdır. Virüs; yüzeyindeki virüs tarafından aktive edilen proteinler sayesinde, konak hücre glikolipidleriyle birleşerek plazma membranlarına bağlanmaktadır. RNA polimeraz enzimleri ile oluşan mRNA'lar sayesinde viral genom sitoplazmada replike olmakta; replike olan genom, nükleokapsid, matriks ve membran proteinleri ile birleşerek, tomurcuklanma ile konak hücreyi terketmektedir (17).

SSV, dayanıksız bir virüstür. pH ve ısı değişiklikleriyle kolayca hastalandırıcılık özelliğini yitirir. Optimum pH'ı 7,5'tir. Asit ortam, eter, kloroform ve çeşitli deterjanlar ile kolayca inaktive olur. SSV, 55°C'de 5 dakika tutulması sonucunda enfeksiyöz özelliğinin %90'ını kaybetmektedir. Ancak hızlı bir şekilde dondurularak -70°C'de saklanırsa aktivitesini sürdürebilir.

Oda ısısında, hastaların sekresyonlarında, neme bağlı olarak 3-30 saat süreyle canlılığını sürdürür. Kağıt, kumaş, peçete gibi yüzeylerde 1 saatten kısa bir sürede aktivitesini kaybeder. Bu yüzden SSV kuşku materyelin bekletilmeden ekilmesi gerekmektedir (15,16,18).

SSV, birçok insan kaynaklı hücre kültürlerinde üretilebilir. İlk izolasyon için çoğunlukla insan heteroploid hücreler, örneğin, Hep-2 ve HeLa hücreleri kullanılır. SSV üretiminde kullanılacak diğer hücre kültürleri, insan böbrek, amniyon diploid fibroblastik hücreleri ile maymun böbrek hücreleridir. Ekim yapılan bu hücrelerde virüsün ürediği, 3-5 günlük bir enkübasyondan sonra karakteristik sinsityal dev hücrelerin görülmesi ile saptanır (14,15,16). Doku kültürüne adapte edilmiş SSV kökenlerinde bu sürenin 10-24 saate kadar indiği görülmektedir. Sinsitya oluşumu, hücre tabakası tamamen harab oluncaya kadar devam eder (yaklaşık 4 gün).

SSV ile değişik deney hayvanlarını enfekte etmek olasıdır. Ancak insan SSV kökenleri ile doğal enfeksiyonlar yalnız şempanze ve insanlarda görülür. Hayvanlarda oluşturulan enfeksiyonlar genellikle asemptomatik alt solunum yolları hastalığı şeklindedir.

#### **2.2.4. Patoloji ve patogenez**

Toplumlardaki salgınlardan elde edilen verilere göre, SSV'nin kuluçka döneminin, 4-5 gün arasında olduğu tahmin edilmektedir. Gönüllü bireylerde yapılan deneysel çalışmalar, virüs inokülasyonundan sonra ortalama 5 gün içinde, hastalık belirtilerinin ortaya çıktığını göstermiştir (14).

SSV, büyük damlacıklar aracılığıyla solunum yollarından bulaşmaktadır. Bulaşmada kontamine eller ve yüzeyler rol oynar; ayrıca virüs, göz ve burundan inokülasyonla da enfeksiyon oluşturabilir. Virüsün üst solunum yollarında hangi mekanizma ile yayıldığı kesin değildir, ancak, aspire edilen sekresyonlar veya solunum sistemi epiteli yardımıyla olduğu tahmin edilmektedir (19). Virüs ilk olarak nazofarinks epitel hücrelerinde ürer ve daha sonra alt solunum yollarına yayılır. Enfeksiyon sırasında viremi saptanmaz. Virüs, ekstraselüler sıvıya geçmeden, hücreden hücreye sinsitya oluşturarak yayılabilme yeteneğindedir. Nazal sekresyonlarda başlangıçta yoğun olarak bulunan virüs, alt solunum yolu semptomlarının başlaması ile kısa sürede (1-3 gün) bronş ve bronşiyollere yayılmaktadır. SSV enfeksiyonlarının sonlandırılmasında, hücresel bağışıklık önemli bir rol oynamaktadır. Hücresel

bağışıklığı bozuk hastalarda SSV persistans kazanmakta ve aylarca solunum yollarında bulunabilmektedir.

Bağışık yetmezliği olan kişilerde virüs, solunum sistemi dışında, böbrek, dalak, miyokard gibi diğer organlara da yayılabilmektedir.

SSV enfeksiyonu olan bireylerde görülen akciğer patolojisi, bronşiyolit veya pnömoni ile seyreden diğer solunum sistemi virüslerinde olduğu gibidir. Bronşiyolitli olgularda, bronşiyoler epitelde proliferasyon ve nekroz ile silli epitel hücrelerinde harabiyet görülür. Mukozal epitel hücrelerine lenfosit göçü sonucunda, peribronşiyal bölgeye lenfosit, plazma hücresi ve makrofajlar birikir. Submukozal ve adventisyal dokular ödemlidir ve yoğun mukus salgırlar. Sonuçta, distal hava yollarının kollapsı nedeniyle küçük bronşiyollerde tıkanıklıklar oluşmakta ve grafide hiperaerasyon bölgeleri görünümü karşımıza çıkmaktadır.

Pnömoni gelişen olgularda ise; interalveoler duvarlar, mononükleer infiltrasyonlar sonucu iyice inceliyor çatlar ve alveoler bölgeye sıvı toplanır. Daha hafif olgularda, mikroskopik patoloji gözlenmeyebilir; enfeksiyon küçük bronşiyollerde sınırlı kalır. Virüsün patolojik etkisi büyük oranda solunum yolu epitelinin doğrudan invazyonu sonucu olmakla birlikte, immünolojik hücre hasarının da olayın bir başka komponenti olduğu bilinmektedir (14).

SSV anneden kazanılmış özgül antikorların varlığında dahi ciddi hastalık tablosu oluşturabilen bir patojendir. Bu da, hastalığın gelişiminde immünolojik mekanizmaların rol oynadığını göstermesi açısından önemlidir. Ancak yine de, yapılan bazı çalışmalarda, anneden geçen SSV antikorlarının bulunmasının, özellikle yaşamın ilk 5-6 haftasında ciddi enfeksiyonlardan korunmada etkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca çeşitli yayınlarda, göbek kordonu kanında bulunan SSV antikor titresini ile hastalık tablolarının ağırlığı arasında bir ilişki olduğu da belirtilmektedir (14,20,21).

Farelerde yapılan bir dizi çalışmada, CD<sub>4</sub> ve CD<sub>8</sub> T-lenfositlerinin hastalık patogeneziindeki yerleri araştırılmıştır. T-lenfositlerinin akciğerlerdeki virüsün temizlenmesinde görev aldıkları gözlenmiştir. CD<sub>4</sub> T-lenfositleri,

perivasküler ve peribronşiyal bölgede daha fazla bulunurken, CD<sub>8</sub> T-lenfositleri alveollerde daha fazladır.

T-lenfositlerinin koruyucu ve hastalık oluşturucu etkileri biraradadır. T hücresi yanıtı nedeniyle SSV enfeksiyonu ataklar halinde tekrarlayabilmektedir.

Son zamanlarda elde edilen kanıtlar, solunum yolu sekresyonlarındaki IgE'nin, SSV enfeksiyonu geçiren bazı çocuklarda patolojik rolünün olabileceği şeklindedir. Akut SSV enfeksiyonu olan hastaların çoğunda nazofaringiyal epitel hücrelerine bağlanmış IgE antikorlarının bulunduğu saptanmıştır. Ayrıca, sekresyonlarda bulunan SSV'ye özgü IgE ve histaminin, wheezingi olan hastalarda daha yüksek düzeyde olduğu görülmüştür (19).

SSV enfeksiyonunun akciğer hasarından antijen-antikor kompleksleri de sorumludur. Virüsle enfekte hücreler tek başlarına veya antikor ile kompleks oluşturarak, komplemanı klasik ve alternatif yoldan aktive edip, doku hasarına yol açarlar.

SSV enfeksiyonu geçiren bebeklerde özgül IgA antikor yanıtı erken olarak ortaya çıkar, ancak düşük miktarlardadır ve virüsü nötralize etmede yetersiz kalmaktadır.

Sonuç olarak; doğal yoldan edinilmiş sıvısal bağışıklık, reenfeksiyonları önleyememektedir. Hücresel bağışıklık, enfeksiyona verilen yanıtta ve iyileşmede en önemli rolü oynamaktadır. SSV enfeksiyonlarına karşı bağışık yanıtın oluşturulması sırasında, bu mekanizmalar genellikle geç ortaya çıkmakta, yeterince etkili olamamakta ve böylece enfeksiyon ciddi tablolara yol açabilmektedir (14).

### **2.2.5. Klinik belirtiler**

Virüsle ilk kez enfekte olan 6-9 aylık çocuklarda SSV enfeksiyonları sıklıkla üst solunum yolları semptomları ile karşımıza çıkar. Bu enfeksiyonların % 25-40'ı, özellikle larinks ve daha alt solunum yollarında görülmektedir (14).

SSV'ye bağlı alt solunum yolu sendromlarında bronşiyolit ilk sırayı almakta, pnömoni bunu izlemektedir. Krup ise % 5 gibi bir oranla en az görülen klinik form olmaktadır. Trakeobronşit ve otitis media daha nadir görülen klinik

tablolardır. Özellikle 1 yaşından küçük bebeklerde görülen ve hastaneye yatırılma endikasyonu konulan bronşiyolit olgularının % 25-60'ından, yenidoğan pnömonilerinin ise % 25'inden SSV sorumlu tutulmaktadır (19,22,23,24). Enfeksiyon daha nadir olmak üzere asemptomatik olarak da karşımıza çıkabilmektedir.

Alt solunum yolları semptomları olan çocuklarda burun akıntısı, genellikle iştahsızlık ve halsizlikle birlikte prodrom döneminde görülür. Öksürük, bu semptomlardan yaklaşık 1-3 gün sonra ortaya çıkar ve öksürükle birlikte ateş ve hırıltılı solunum (wheezing) görülebilir. Hastalık çoğunlukla 5 gün içinde kendini sınırlar ve semptomlar kaybolur (14,15).

SSV'ye bağlı en sık karşılaşılan tablolar olan pnömoni ve bronşiyoliti klinik olarak birbirinden ayırmak güçtür. Ayrıca bebeklerin çoğunda her iki sendrom birlikte görülebilir.

Fizik bakıda; hırıltılı solunum, akciğerlerde yaygın ral ve ronküsler, taşipne ve dispne saptanır. Bazı olgularda dispne ile birlikte hiperekspansiyona bağlı interkostal ve subkostal çekilmeler görülebilir. Akciğer grafisinde en sık interstisyel infiltrasyon ve hiperaerasyon bulgularına rastlanır. Ayrıca peribronşiyal kalınlaşma ve % 5 olguda ise plevral sıvı olabilir. Hospitalize edilen olgularda ventilasyon/perfüzyon oranındaki değişikliğe bağlı olarak hipoksemi vardır.

Zeminde kardiyak veya diğer solunum yolu hastalığı olan çocuklarda SSV enfeksiyonu semptomları daha hızlı seyretmektedir. Hastalığın 2. veya 3. günlerinde mekanik ventilasyon ihtiyacı doğabilir. Özellikle siyanotik konjenital kalp hastalığı ve bronkopulmoner displazisi olan çocuklarda SSV enfeksiyonuna bağlı mortalite oranı % 37-44 civarındadır (14,25).

Prematür ve 6 ayın altındaki bebeklerde solunum yolu semptomları çok daha nadir karşımıza çıkarken, hastalık sıklıkla apne nöbetleri ile seyretmektedir. Ayrıca bu bebeklerde letarji, iritabilite, hiper veya hipotermi semptomları da görülebilir.

SSV'ye bağlı yineleyen enfeksiyonlar çoğunlukla ilk 3 yaştan sonra görülür. Yaşın ilerlemesi ile bağışık mekanizmaların koruyucu etkisinin devreye

girmesi sonucu bu çocuklarda, SSV enfeksiyonları daha az ciddi tablolar oluşturmaktadır. Çocuklarda SSV bronşiyolit ve pnömonisinin uzun dönem prognozu incelendiğinde, bu çocuklarda akciğer fonksiyon testlerinin normal bireylere göre belirgin ölçüde azaldığı ve arteriyel kan gazı değişikliklerinin olduğu saptanmıştır (14).

Erişkinlerde SSV enfeksiyonları, kronik bronşit alevlenmeleri şeklinde karşımıza çıkabildiği gibi, pnömoni ve influenza benzeri hastalık da görülebilir. Yaşlılarda ise SSV enfeksiyonu salgınlarında ağır bronkopnömoniler görülebilir.

SSV enfeksiyonu nadiren santral sinir sistemi hastalığına neden olabilmektedir. Menejit, miyelit, ataksi ve hemipleji gibi çeşitli santral sinir sistemi hastalıklarında bu virüsün varlığı saptanmıştır. Enfeksiyon rastlantısal olabilir, ancak menenjit ve miyelitli çocukların beyin omurilik sıvılarında SSV'ye özgül antikorların varlığı gösterilmiştir (14).

### **2.2.6. Tanı**

**A) Virüs izolasyonu:** SSV'nin klinik materyelden izolasyonunda, hücre kültürü yöntemi yararlı ve duyarlı bir yöntem olup, genel anlamda "altın standart" olarak kabul edilmektedir (14,16). Tercih edilen örnek burun yıkama suyudur. Ancak boğaz ve nazofaringiyal sürüntü örnekleri de izolasyon amacıyla kullanılabilir. Eğer örnek dondurma çözme veya pH değişikliklerine maruz bırakılırsa, virüs titresinde belirgin azalma olur. İzolasyonda kullanılan hücre kültürleri insan kaynaklı olup, en önemlileri Hep-2 ve HeLa hücreleridir (14,15,17). Hücre kültürüne inoküle edilecek örneklerin uygun olarak işlem görmesi halinde, virüsün karakteristik sitopatik etkisi 3-7 gün içinde, genellikle de 4. günde görülür. SSV, kültür hücrelerinde oluşturduğu tipik sinsityal dev hücreler ile kolaylıkla tanınır. Virüsün kesin tanımında floresanla işaretlenmiş monoklonal antikorlar kullanılır.

**B) Serolojik tanı:** Akut SSV enfeksiyonlarında serolojik testlerin yararı sınırlıdır. Hastalığın başlangıcından 2-4 hafta sonra alınan konvalesan serum örneklerinde tanı retrospektif olarak konulabilir. Yineleyen enfeksiyonlarda ve

yaşlı hasta gruplarında belirgin antikor titreleri oluşmayabilir. Antikor düzeyleri, ELISA veya nötralizasyon testleri kullanılarak araştırılabilir (16).

**C) Erken tanı:** Günümüzde hücre kültürlerine alternatif olabilen pek çok hızlı teknik kullanılmaktadır. Bunlar ELISA ve doğrudan immün floresans (DIF) testleridir. Genel olarak monoklonal antikorların kullanıldığı DIF testleri daha özgüdür. Yalnız materyelin hazırlanması ve okunmasında deneyimli kişilere gereksinim bulunmaktadır (26).

Son yıllarda SSV'nin hızlı tanı yöntemlerinden biri olan ELISA testi, DIF'e alternatif olarak ileri sürülmüştür. Bu test; kolay uygulanabilmesi, sonuçların objektif kriterlere dayanması ve uygulayıcıların özel eğitimine gerek duyulmaması gibi nedenlerle çekici bir yöntem gibi görünmektedir. Ancak yapılan çalışmalara göre, SSV'nin hızlı tanısında ELISA, DIF'ten daha duyarlı bulunmamıştır. Ayrıca DIF testinde örneğin yeterliliğini saptayabilme avantajı da mevcuttur (14,27).

### **2.2.7.Sağaltım**

SSV'ye bağlı alt solunum yolu enfeksiyonlarının sağaltımı, destek sağaltımı olarak uygulanır. Solunum yolu sekresyonlarının temizlenmesi, oksijen inhalasyonu ve daha ağır olgularda mekanik ventilasyondan yararlanır. Bir yaşın üzerindeki çocuklarda hırıltılı solunum varsa, adrenerjik ilaçlardan faydalanılabilir.

Çocuklarda SSV enfeksiyonlarının tedavisinde sadece bir antiviral ajanın etkili olduğu gösterilmiştir. Günümüzde, geniş spektrumlu bir antiviral olan ribavirin, SSV'ye bağlı alt solunum yolu hastalığı nedeniyle hospitalize edilen olguların sağaltımında güvenle kullanılmaktadır. İlacın, küçük partiküllü aerosol şeklinde çadır, maske veya ventilatör içinde günde 12-18 saat süreyle 2-5 gün uygulanmasının etkin bir tedavi sağladığı gösterilmiştir. Ribavirin, virüstatik bir ilaçtır ve sürekli uygulanması halinde viral yayılımı inhibe etmekte ve klinik iyileşmeyi sağlamaktadır (14,15,16,28). İlaç aerosol olarak iyi tolere edilir ve sistemik toksisite oluşturmaz. Ancak ilacın, mortalite oranlarını

düşürmede etkili olmadığı ispatlanmıştır. Yapılan çalışmalarda, SSV'ye bağlı mortalite oranlarını düşürmede destek tedavisinin çok daha önemli olduğu gösterilmiştir.

Hayvanlarda yapılan deneysel çalışmalarda ciddi SSV enfeksiyonlarının tedavisinde immünoterapinin faydalı olduğu gösterilmiştir. Safleştirilmiş insan Ig'lerinin intravenöz olarak kullanımı sonucu pulmoner virüs miktarının düştüğü görülmüştür (29). Intravenöz immün globulin (IVIG), SSV pnömoni ve bronşiyolitli çocuklarda 2 gr/kg/gün şeklinde uygulanır. Etkisi, aerosol olarak kullanılırsa ribavirin ile aynıdır (14,29). Son yıllarda Ig'lerin topikal olarak kullanımı üzerinde çalışılmaktadır.

### **2.2.8. Epidemiyoloji**

Solunum sinsityal virüsü, tüm dünyada, çocuklarda görülen alt solunum yolu enfeksiyonlarının en önemli etkenlerinden biridir. Bu virüsle enfekte olmuş, 6 hafta ile 9 ay arası bebeklerde ciddi bronşiyolit ve pnömoni gelişmekte ve bunların bir bölümü ölüm ile sonuçlanabilmektedir. Hastalık solunum sistemi hastalıklarının en sık görüldüğü dönem olan, yaşamın 2-7. ayları arasında pik yapmaktadır (14,21,25,30). Erkeklerde ciddi alt solunum yolu enfeksiyonları, kızlara göre % 30 oranında daha fazla görülmektedir (14,21).

Kuzey Amerika ve pek çok Avrupa ülkesinde yapılan çalışmalar, solunum sinsityal virüsünün neden olduğu alt solunum yolu enfeksiyonlarına, düşük sosyoekonomik aile yapısına sahip çocuklarda daha sık rastlandığını göstermiştir. Diğer risk faktörleri arasında; ırk, kardeş sayısı, kalabalık aile, annenin sigara içmesi ve doğum ayı sayılabilir (21).

Günümüzde SSV altgrupları arasındaki antijenik varyasyonların, virüsün epidemiyolojisi üzerindeki etkisi kesinlik kazanmamıştır. Ancak altgruplar arasında görülen nötralizan antikor yanıtındaki farklılıklar nedeniyle aynı altgrupla pek çok reenfeksiyon karşımıza çıkabilmektedir (14,31).

SSV'ye bağlı hospitalizasyon oranı, epideminin olduğu bölgeye göre değişiklik göstermektedir. Washington D.C.' de 1 yaşın altında SSV pnömonisi veya bronşiyolitine bağlı hastaneye yatırma oranı 200 çocukta bir iken, İngiltere

ve Norveç gibi Avrupa ülkelerinde bu oran sırasıyla 100 ve 120 çocukta bir olarak bildirilmektedir (14).

Gelişmiş ülkelerde SSV'ye bağlı mortalite oranının % 0.5-2.5 arasında olduğu bildirilmektedir. Zeminde başka bir hastalığı olan çocuklarda SSV'ye bağlı mortalite oranı yüksektir. Konjenital kalp hastalığı olan çocuklarda SSV'ye bağlı mortalite % 37 iken, pulmoner hipertansiyon gelişmesiyle bu oranın %44'lere kadar yükseldiği gösterilmiştir. Ölüm oranlarını arttıran bir durum da bağışık yetmezliktir. Kemik iliği transplantasyonlu çocuklarda özellikle erken transplantasyon döneminde SSV enfeksiyonlarına bağlı mortalitenin %50 olduğu bildirilmiştir (14).

SSV, dünyanın ılıman iklim kuşağında mevsimsel olarak görülür. Kuzey yarıkürede epidemiler, genellikle sonbahar sonu, kış ve bahar aylarında ortaya çıkar. Her SSV epidemisi yaklaşık 5 ay sürer ve enfeksiyonun % 40'ı epideminin pik yaptığı Şubat ve Mart aylarında karşımıza çıkar (30,31,32). Altgrup A'nın B'ye göre daha sıklıkla izole edilmesine karşın, mevsimsel epidemiler sırasında SSV'nin iki antijenik alt grubunun birlikte bulunabildiği gösterilmiştir. Tropikal bölgelerde SSV farklı mevsimlerde ortaya çıkmaktadır. Bu bölgelerde SSV epidemileri yağışların yoğun olduğu Haziran-Aralık ayları arasında görülmektedir (14).

SSV, büyük partiküllü solunum damlacıkları yoluyla yayılmaktadır. Yayılımda kontamine damlalar dışında, kontamine eller ve solunum salgılarıyla kirlenmiş eşyaların da etkili olduğu gösterilmiştir (14,15,17).

SSV, prematür bebeklerde, konjenital kalp hastalığı veya bronkopulmoner displazisi olan bebeklerde ve bağışık yetmezliği olan erişkinlerde önemli bir hastane enfeksiyonu etkenidir. SSV epidemisi sırasında yenidoğan birimlerinde % 26-47, daha büyük çocuklarda ise % 20-40 oranında SSV'ye bağlı hastane enfeksiyonu saptanmıştır (14).

### **2.2.9. Korunma ve kontrol**

SSV enfeksiyonlarından korunmada enfekte bireylerin izolasyonu, hastane ziyaretlerinin kısıtlanması ve özellikle çocuk servislerinde çalışan

personelin eldiven ve maske kullanmasının SSV'nin pasif kazanımını önemli ölçüde önlediği gösterilmiştir. Ayrıca kardiyopulmoner hastalık veya bronkopulmoner displazi gibi SSV enfeksiyonunun risk oluşturabileceği gruplara, aylık IVIG ile pasif bağışıklama yapılması önerilmektedir (33).

SSV enfeksiyonlarından korunmak için günümüze değin üretilmiş etkili bir aşı yoktur. 1960'lı yılların başında denenmeye başlanan, formalin ile inaktive edilmiş aşilar, SSV enfeksiyonlarından korunmada başarısız kalmıştır. Hatta, tekrar oluşan SSV enfeksiyonunun çok daha ağır geçmesine neden olmuştur. Bu aşilar parenteral olarak uygulandığından, solunum yolundaki salgısal IgA antikorlarını indükleyememekte ve dengesiz bir bağışık yanıt sonucu, kişinin enfeksiyona duyarlılığını arttırmaktadır. Ayrıca, aşılanan bireylerde SSV enfeksiyonunda oluşandan çok daha fazla bir lenfosit proliferasyonu gözlenmiştir. Bu, aşıli kişilerin hücresele bağışık yanıtlarında bir dengesizliğe yol açmakta, yüksek titrede antikor oluşumuna rağmen, enfeksiyonun iyileşmesi gecikmekte ve hastalığın şiddeti artmaktadır (14,16).

İnaktif aşiların başarısızlığından sonra, topikal olarak uygulanan atenüe aşı çalışmalarına ağırlık verilmiştir. Ancak bu aşılardan sonra da doğal şartlarda vahşi virüsle karşılaşan bireylerde semptomatik enfeksiyon oluşmuştur. Günümüzde SSV'nin, F ve G glikoprotein rekombinantlarından oluşan aşilar, SSV'ye karşı etkili bir bağışıklamanın sağlanması yönünde ümit vermektedir (14,15).

## **2.3. PARAINFLUENZA VİRÜSLERİ**

### **2.3.1. Tarihçe**

Bu virüsler ilk kez 1956-60 yılları arasında pediyatrik solunum yolu hastalıkları çalışmalarında hemadzorpsiyon yöntemleri ve doku kültürü uygulamaları sırasında saptanmışlardır. Parainfluenza terimi, yaptığı hastalıklardaki bazı semptomların influenzaya benzemesi ve virüsün influenza gibi hemaglütinin ve nöraminidaz aktivitesi göstermesi nedeniyle konulmuştur.

Ancak daha sonra parainfluenza virüslerinin moleküler genetiğinin oldukça farklı olduğu anlaşılmıştır (34,35).

İnsan parainfluenza virüsü (hPIV) 1, 2 ve 3, ilk olarak alt solunum yolu enfeksiyonu olan bebek ve çocuklardan, insan parainfluenza virüsü tip 4 (hPIV4) ise hafif üst solunum yolu enfeksiyonları olan genç erişkinlerden izole edilmişlerdir. Keşiflerinden hemen sonra, bu virüslerin krup (akut laringotrakeo-bronşit), pnömoni ve bronşiyolitinin en önemli etkenleri arasında oldukları gösterilmiştir (34,35,36).

### **2.3.2. Sınıflama**

Parainfluenza virüsleri, paramikzovirüs ailesi içinde bulunan paramikzovirüs genusunda yer alırlar. Bu familya kızamık, kabakulak, solunum sinsityal virüsü gibi önemli insan patojenleri ile fare Sendai virüsü, köpeklerde bulunan Simian virüs 5, kanatlıların Newcastle virüsü gibi hayvan patojenlerinden oluşmaktadır (Tablo 2.2)(34).

### **2.3.3. Yapısal özellikler**

Parainfluenza virüsleri, konak hücreden köken alan lipid bir zarf ile çevrili, negatif tek sarmallı RNA virüsleridir. Çapları 150-250 nm'dir ancak büyüklükleri 100-700 nm arasında değişebilen pleomorfik şekillere de rastlanmaktadır. Lipid zarf üzerinde glikoprotein yapısında dikensi çıkıntılar yer alır. Bunlar, virüsün konak hücreye tutunması (HN) ve füzyonundan (F) sorumludur (34).

İnsan parainfluenza virüsleri, embriyonlu yumurtada yavaş üremeleri, influenza virüsleri ile antijenik benzerliklerinin olmayışı, viral replikasyonun sitoplazmada olması ve nükleokapsidlerinin segmentsiz ve ince olması ile ortomikzovirüslerden kolayca ayırt edilmektedirler. İnsan parainfluenza virüsleri, familyanın diğer virüslerinden ise, nöraminidaz ve hemaglütinin aktivitesine sahip zarf glikoproteinlerinin bulunması ve daha ince bir nükleokapsid yapısına sahip olmaları ile ayrılmaktadırlar (34).

Parainfluenza virüsünün genomu, helikal bir nükleokapsid ile çevrili, negatif polariteli, lineer, tek sarmallı bir RNA molekülüdür. Ortalama  $5-7 \times 10^6$  moleküler ağırlıktadır ve genetik bilgi taşıyan 15.000 nükleotid içermektedir. PIV RNA'sı 6 yapısal proteini kodlamaktadır (NP, P, M, F, HN, L). NP (nükleoprotein), L (large protein) ve P (fosforilat protein) proteinleri viral RNA ile bir kompleks oluşturarak nükleokapsidi meydana getirirler. NP'nin viral RNA'ya bağlanmasıyla L ve P proteinleri aktive olur ve mRNA'nın transkripsiyonu ve PIV genomunun replikasyonu başlar. M (matriks) proteini viral zarfın altında yer alır; NP ve virüsün yüzeyindeki glikoproteinlere afinitesi vardır. Virüsün üremesi sırasında, viral komponentlerin biraraya gelmesinde önemli rol oynar. Ayrıca viriyonun tomurcuklanacağı bölgede nükleokapsidin tamamlanması işlevini de görmektedir.

Hemaglütinin-Nöraminidaz (HN) glikoproteini, zarf üzerinde bulunan 10 nm'lik dikensi çıkıntılar şeklindedir. Bu proteinler konak hücrenin, **siyalik asit** içeren yüzey reseptörlerine bağlanarak, viral enfeksiyonun ilk basamağı olan viral adzorsiyonu sağlarlar. Bu aktivite, serolojik tanıda ve deneysel laboratuvar çalışmalarında virüsün eritrositleri aglütine etme yeteneğinden sorumludur. Hemaglütinin aktivitesi yüksek iyon konsantrasyonu ve yüksek pH ile artarken, nöraminidaz aktivitesinin artması için, pH ve iyon konsantrasyonunun düşük olması gerekmektedir (34).

F (füzyon) proteini, zarfta bulunan ve virüsün hücreye füzyonundan sorumlu olan yapısal bir proteindir. Enfekte hücrelerde sinsitya oluşturan bu proteinin, hemolizin aktivitesinde önemli bir rolü vardır.

Parainfluenza virüslerinin replikasyonu, tek sarmallı diğer RNA virüslerinininkiyle aynıdır. HN proteinleri sayesinde konak hücrenin siyalik asit reseptörlerine bağlanan virüs, füzyon proteininin yardımıyla plazma membranlarına alınır. Sitoplazmanın içinde RNA-polimeraz aracılığıyla yapılan mRNA sentezi sonucunda genomik replikasyon olur. Genom, nükleokapsidi oluşturmak üzere L, N ve NP proteinleriyle birleşir ve ardından matriks ve diğer glikoproteinlerin eklenmesiyle oluşan olgun viriyon, konak hücreden tomurcuklanarak dışarı çıkar. Parainfluenza virüsleri antijenik olarak birbirine

çok benzeyen ve ancak hiperimmün hayvan serumu ve monoklonal antikorlarla ayırdedilebilen 4 serotipten oluşurlar (36).

**Parainfluenza virüsü tip 1 (hPIV1):** Maymun böbrek hücreleri doku kültüründe sitopatik etki yapmayan bu virüs, ilk kez kobay eritrositleriyle yapılan hemadzorpsiyon testleri sırasında tanımlanmıştır. Bu nedenle, bu etkene tanımlandığı yıllarda hemadzorpsiyon virüsü tip 2 (HA 2) adı verilmiştir. hPIV1, çocukta başta krup olmak üzere nezle, farenjit, bronşiyolit, pnömoni ve üst solunum yolları hastalıklarına neden olmaktadır (16).

**Parainfluenza virüsü tip 2 (hPIV2):** Bu virüs, insan hücreleri doku kültürlerinde (HeLa) ve maymun böbrek hücreleri doku kültürlerinde ürer ve sitopatik etki olarak sinsityal hücre kümeleri oluşturur. Daha önceleri CA(croup associated) veya akut laringotrakeobronşit virüsü olarak isimlendirilen bu virüs, sıklıkla krup, daha az olarak da bronşiyolit ve pnömonilere neden olabilmektedir (16).

**Parainfluenza virüsü tip 3 (hPIV3):** Maymun böbrek hücrelerinde hemadzorpsiyon ve sitopatik etki yapan bu virüse, önceleri hemadzorpsiyon virüsü tip 1 adı verilmiştir. Virüsün, hücre kültürlerinde oluşturduğu sitopatik etki, hemadzorpsiyon testlerinden çok daha sonra ortaya çıkmaktadır. hPIV3, insan hücreli doku kültürlerinde çok nükleuslu dev hücreler yapabilmektedir. hPIV3, bebeklerde bronşiyolit ve pnömoni başta olmak üzere, krup ve üst solunum yolları enfeksiyonlarına neden olmaktadır (16).

**Parainfluenza virüsü tip 4 (hPIV4):** Hemadzorpsiyon önlenim (HAÖ) ve monoklonal antikor reaksiyonları ile saptanan antijenik farklılıklara göre iki antijenik altgruba (A ve B) ayrılmıştır. Bu iki altgrup, birbirine oldukça benzemektedir. Daha nadir izole edilen bu grup parainfluenza virüsleri, küçük çocuklarda olduğu kadar genç erişkinlerde de ortaya çıkan üst solunum yolları enfeksiyonlarından sorumludurlar (16).

#### **2.3.4. Patoloji ve patogenez**

Parainfluenza virüsleri insanlara doğrudan temas veya damlacık yoluyla bulaşmaktadır. Virüs, burun ve boğaz başta olmak üzere solunum yolu epiteline

yerleşerek ürer. Pek çok hastada olay bronşlarda sınırlıdır ve hastalık soğuk algınlığı tablosu şeklinde karşımıza çıkar. Ancak özellikle hPIV1 ve hPIV2 enfeksiyonları sırasında larinks ve üst trakeayı içeren krup sendromuna rastlanabilmektedir. Diğer taraftan, hPIV3 enfeksiyonlarındaki gibi küçük hava yollarının olaya katılımı, bronkopnömoni ve pnömoniyle sonuçlanabilmektedir. hPIV enfeksiyonlarının patogeneğinde virüse ait özelliklerden çok, özellikle konağın bağışık yanıtının önemli olduğu düşünülmektedir (16).

Patogeneşte bağışık yanıtın rolü, krup saptanan bebek ve çocuklarda üst solunum yolu hastalığı olanlara göre çok daha kısa sürede ve fazla miktarda virüse özgül IgE antikor yanıtının oluşması ile ispatlanmıştır. Virüse özgül IgE antikorları, trakea ve subglottik bölgede histamin salınımına yol açmakta ve salınan histamin, krup semptomlarını oluşturmaktadır (22,34,37).

Parainfluenza virüsleri genellikle viremi oluşturmazlar ancak hPIV3'ün aseptik menenjitli hastaların BOS'undan ve bazı parotitli hastalardan izole edilmesi, virüsün nadir olarak solunum sistemi epiteli dışına çıkarak yayılabildiğini göstermektedir (34).

hPIV enfeksiyonları sıklıkla yaşamın ilk 3-5 yılı arasında görülmektedir. Reenfeksiyonlar sık görülmekle birlikte, daha hafif bir klinik tablo oluştururlar. Geçirilmiş enfeksiyonlar sonucunda oluşan antikorlar reenfeksiyonlara karşı tam bir koruma sağlamazlar, ancak ikinci hastalığın daha hafif geçmesine katkıda bulunurlar.

Parainfluenza virüslerinin solunum sistemi dokularında oluşturdukları histolojik değişiklikler çok tanımlayıcı değildir. Bazı hastaların akciğer dokularında sınıtya oluşumuna ve dev hücrelere rastlanmıştır (34).

### **2.3.5. Klinik belirtiler**

Parainfluenza virüsleri, çocuklarda görülen krup sendromunun % 40'ından, bronşiyolit ve pnömoni olgularının % 10-15'inden sorumludurlar. hPIV'ler içinde hPIV1, viral krupun en sık nedenidir ve bunu sırasıyla hPIV3 ve hPIV2 izlemektedir. hPIV3 ise pnömoni ve bronşiyolit olgularından, hPIV2 ve hPIV1'e göre daha fazla sorumludur (18,34,38,39).

Virüs vücuda girdikten sonra, 2-4 günlük bir kuluçka döneminin ardından üst solunum yolu enfeksiyonu semptomları ortaya çıkar. Burun akıntısı, subfebril ateş ve öksürük genellikle en sık karşılaşılan başlangıç semptomlarıdır. Enfeksiyon çoğunlukla bu dönemden sonra ilerlemez ve bir hafta içinde kendi kendini sınırlar. Bazı olgularda enfekte sekresyonların aspirasyonuna bağlı olarak ile enfeksiyonun alt solunum yollarına yayılmasıyla bronşiyolit ve pnömoni tabloları ortaya çıkarabilir. Bu olgularda ateş yüksekliği ve öksürük progresif bir seyir gösterir. Hırıltılı solunum, taşikardi, taşipne, suprasternal ve interkostal çekilmeler görülür. Hava yolu obstrüksiyonu hava açlığı ve siyanoza neden olur. Bu dönemde akciğer grafisinde, interstisyel ve perihiler infiltratlarla birlikte hava tıkaçları gözlenir. Krup gelişen hastalarda inspiratuvar stridor ve subglotal ödeme bağlı olarak tipik "havlama tarzı öksürük" ortaya çıkmaktadır (19,34).

Küçük çocuklar, yaşamın ilk yıllarında parainfluenza virüsleri ile karşılaşmaktadırlar. Bunların yaklaşık % 5'i reenfeksiyon şeklindedir. Klinik tablo olarak daha çok rinit ve farenjit görülür. Ağır olgularda primer enfeksiyonlar; laringotrakeit, krup, bronşiyolit ve pnömoni şeklinde de ortaya çıkabilmektedir. hPIV4, parainfluenza virüsleri arasında en az görülenidir ve diğerleri kadar ağır enfeksiyonlara neden olmaz (22). Çocukların yaklaşık yarısı yaşamlarının ilk 5 yılı içinde herhangi bir hPIV tipiyle reenfeksiyon geçirirler ve bu durum yaşam boyu devam eder. Parainfluenza virüsleri, solunum sistemi dışı enfeksiyonlara oldukça nadir olarak neden olurlar. Viremi ve yaygın enfeksiyonlara özellikle bağışık yetmezliği olan çocuklarda rastlanmaktadır. Bu tür hastalarda virüs, parotis bezi, BOS, perikardiyal sıvı, dalak gibi solunum yolu dışındaki bölgelerde de enfeksiyon oluşturabilmektedir (34,40). Ayrıca parainfluenza enfeksiyonları sırasında dev hücreli hepatit, bağ dokusu ve romatolojik hastalık insidanslarında artış olduğuna dair yayınlar vardır.

Parainfluenza virüsleri, hastane ortamında, solunum yolu sekresyonları ve hastane çalışanlarının elleri ile epidemiler şeklinde yayılabilmektedirler. Hastane enfeksiyonlarından en çok sorumlu olan tip, hPIV3'tür (41).

### **2.1.6. Tanı**

**A) Virüs İzolasyonu:** İnsan parainfluenza virüslerinin tanısında kullanılan en özgül ve duyarlı yöntem, virüslerin hücre kültüründe izolasyonu ve bunun immünfloresans ile doğrulanmasıdır. İnceleme materyeli burun ve boğaz sürüntüsü ile burun yıkama veya burun aspirasyon sıvısıdır. Virüs, oda sıcaklığında kolayca enfektivitesini yitirdiğinden, alınan örnekler hızlı bir şekilde taşıyıcı besiyerleri içinde laboratuvarlara ulaştırılmalı veya hemen ekilmeyecekse +4°C'de saklanmalıdır. hPIV kültürü için en duyarlı hücre, primer maymun böbrek hücreleridir. Ancak bu hücrelerin elde edilmelerinin güç olması ve bazen de bir maymun paramikzovirüsü olan SV5 ile kontaminasyon riskinin bulunması yüzünden rutinde daha çok sürekli maymun böbrek hücreleri (LLC-MK<sub>2</sub>) kullanılmaktadır (34).

hPIV yavaş üreyen bir virüstür ve ürettiğinde çok az sitopatik etki oluşturur. Sitopatik etkiye en çok hPIV2'de rastlanmaktadır ve virüs kültür hücrelerinde sinsityal hücre kümeleri oluşturmaktadır. Hücre kültürlerinde virüsün üremesi hemadzorpsiyon (Hads) testi ile anlaşılır. Üreyen virüs; Hads, HAÖ, KB, nötralizasyon ve immünfloresans yöntemleriyle tiplendirilir (18,34,35).

Günümüzde hücre kültürünün duyarlılığı, kültür hücrelerinin özel lameller üzerinde üretilip, örneğin santrifüje edilerek inoküle edildiği shell vial yöntemiyle arttırılabilmektedir (34,42).

**B) Serolojik Tanı:** Primer hPIV enfeksiyonlarından sonra oluşan antikor yanıtı tipe özgüldür. Ancak hemen her yıl yineleyen enfeksiyonlar, antikor yanıtının genişlemesine ve bu yüzden de heterotipik antikorların artması sonucunda, çapraz reaksiyonların ortaya çıkmasına yol açar. Nötralizasyon, HAÖ, EIA, RIA ve KB testleri, parainfluenza virüslerinin tanısında kullanılan serolojik yöntemlerdir. Bu testlerden biri ile serokonversiyonun gösterilmesi tanıyı desteklemektedir. Bu testlerden KB testinin, parainfluenza virüsü enfeksiyonlarının tanısında daha özgül olduğu bildirilmektedir (16).

**C) Erken Tanı:** Günümüzde viral antijen saptama yöntemleri olarak EIA, RIA ve DIF kullanılmaktadır. Testlerde poliklonal antikorların kullanılmasıyla duyarlılığın % 75-95 olduğu, monoklonal antikor kullanımı ile özellikle DIF testinin duyarlılığının % 95-100'lere çıktığı bilinmektedir. Ancak, bu testlerin reaktifleri pahalı oldukları için yaygın olarak kullanımları kısıtlıdır (35,43).

Ayrıca polimeraz zincir reaksiyonları, northern hibridizasyon ve virüse özgül DNA problemleri kullanılarak viral genomu saptamak mümkündür. Ancak günümüzde bu yöntemler sadece araştırma laboratuvarlarında uygulanmaktadır (34).

### **2.3.7. Sağaltım**

Adenovirüslerde olduğu gibi, parainfluenza virüsleri ile oluşan enfeksiyonların sağaltımında da özgül bir antiviral madde bulunmamakta, yalnızca destek sağaltım uygulanmaktadır (34,35,36).

Ribavirin kullanımının, bağışık yetmezliği bulunan olgularda virüsün yayılım süresini kısaltarak, klinik tablonun ilerlemesini durdurduğuna dair yayınlar mevcuttur (34).

Kruplu hastalarda destek sağaltımı olarak nebülizör ile havanın nemlendirilmesi ve periyodik epinefrin uygulamaları mevcuttur. Bazı merkezlerde inhaler steroid uygulaması da yapılmaktadır.

### **2.3.8. Epidemiyoloji**

Parainfluenza virüsleri, küçük çocuklardaki alt solunum yolu enfeksiyonlarının SSV'den sonra en önemli ikinci etkenidirler (34,44) ve genellikle büyük çocuk ve erişkinlerde üst solunum yolu reeneksiyonları oluştururlar. Her yıl solunum yolları enfeksiyonu yakınmaları ile hastanelere başvuran çocukların yaklaşık % 60'ının hPIV ile enfekte oldukları görülmektedir (34). Bronşiyolit veya pnömonili bebeklerin % 10-15'inden, kruplu bebeklerin ise % 40-50'sinden parainfluenza virüsleri izole edilmektedir (34,45). Viral krup etkenleri arasında hPIV1 birinci sırayı almakta, hPIV2 ve

hPIV3 ise sırasıyla bunu izlemektedir. hPIV3 ayrıca pnömoni ve bronşiyolitın sık rastlanan nedenlerinden biridir (34,36,39).

Parainfluenza enfeksiyonları genellikle hayatın erken dönemlerinde görülür. hPIV3'e bağlı bronşiyolit ve pnömoninin en sık görüldüğü yaş 2-4. aylardır. hPIV'e bağlı krup ise 9-24. aylarda pik yapmaktadır. Serolojik çalışmalar çocukların % 60'ının hPIV3 ile 2 yaşına kadar, % 80'inin ise 4 yaşına kadar enfekte olduklarını göstermektedir. hPIV1 ve hPIV2 enfeksiyonları, hPIV3'e göre daha geç görülmekle birlikte 5 yaşındaki çocukların çoğunun hPIV2 ile, % 75'inden fazlasının da hPIV1 ile enfekte oldukları saptanmaktadır (34).

Parainfluenza virüsü enfeksiyonları mevsimsel özellik gösterir. Buna göre hPIV1, kuzey ve güney yarıkürede iki yılda bir sonbaharda salgınlara yol açmaktadır. hPIV2'nin, ya hPIV1 ile birlikte iki yılda bir görüldüğü, ya da sıklıkla hPIV1'in görülmediği yıllarda salgınlara oluşturduğu bilinmektedir (39,45,46). Bu epidemiler genellikle yine sonbahar aylarında ortaya çıkmaktadır ve hPIV1'e göre daha uzun sürmektedir. hPIV3 ile olan enfeksiyonlar ise endemik şekilde yıl boyunca görülürler. Son on yıl içinde hPIV3 enfeksiyonları ilkbahar aylarında daha çok ortaya çıkmaya başlamıştır. Örneğin İngiltere'de hPIV3 en sık yazın görülmektedir. Parainfluenza virüsleri içinde en az rastlanılan grup hPIV4'tür ve bu yüzden bu virüsle ilgili oldukça az sayıda epidemiyolojik yayın mevcuttur. 3-5 yaşlarından sonra çocuklar arasındaki antikor insidansının yükselmeye başladığı ve erişkinlerde hPIV4A'ya % 95, hPIV4B'ye karşı ise % 75 oranında antikor bulunduğu saptanmıştır (34).

Parainfluenza virüsleri, insandan insana doğrudan temasla veya kontamine olmuş büyük damlacıklar aracılığıyla bulaşır. Virüs dış ortamda uzun süre canlı kalmaz. Yapılan çalışmalar, hPIV3'ün orofarinkste 3-10 gün (ortalama 8 gün) süreyle bulunduğunu göstermiştir. Bu süre bağışık yetmezliği bulunan çocuk ve erişkinlerde 3-4 haftaya kadar uzayabilmektedir. Parainfluenza virüsleri, kemik iliği transplantlı hastaların iyileşme dönemlerinde ve AIDS'li veya çeşitli bağışık bozukluğu olan kişilerde ciddi pnömoniler oluştururlar. Bu olgularda mortalite % 30'un üzerindedir. HIV enfeksiyonlu

çocukların aylar, hatta yıllarca virüs taşıyıp yayabildikleri bilinmektedir. Ayrıca parainfluenza virüslerinden özellikle hPIV3, hastane enfeksiyonlarından sorumludur (34,40).

### **2.3.9. Korunma ve kontrol**

Embriyonlu yumurta ve primer maymun böbrek hücre kültürlerinden hazırlanan inaktif virüs aşıları, parainfluenza virüsü enfeksiyonlarından korunmada uzun yıllardan beri kullanılmaktadır. Bu aşılar, antikor oluşumuna neden olmakta, fakat hastalık gelişimini engelleyememektedirler. Bunun nedeni olarak, bu aşuların salgısal IgA yanıtını uyarmadaki yetersizliği ile F glikoproteininin formalinle inaktive olması sonucu aşının antijenitesinin düşmesi gösterilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, immünojenliği artırıcı mikrot taşıyıcılar üzerine abzorbe edilmiş hPIV3'ün intraperitoneal yoldan uygulandığında, hamsterlerde iyi bir koruyucu etki yaptığı gösterilmiştir; fakat bu aşı henüz insanların bağışıklanmasında kullanılmamaktadır. Ayrıca virüsün F ve HN proteinlerini içeren subünit aşuların elde edilmesi ile canlı, atenüe hPIV aşısı üretimi için çalışmalar devam etmektedir (47). Virüsün genomundaki mütasyonların aşı kökenlerine karakterize edilememesi, canlı aşı üretiminde bir sorun oluşturmaktadır (34).

## **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

### **3.1. Kültür Öncesi Yapılan Hazırlıklar**

#### **3.1.1. Kullanılan cam eşyaların sterilizasyonu**

Hücre kültüründe kullanılan cam pipetler, cam balonlar, ağzı vidalı cam tüpler dikkatlice temizlendi ve kuru havada 180°C'de 1 saat veya otoklavda 120°C'de ve 20 dakika süre ile sterilize edildiler.

#### **3.1.2. İzolasyon ve idantifikasyon için gerekli çözelti ve serumlar**

##### **• Penisilin - Streptomisin solüsyonu:**

1.000.000 ünite kristalize penisilin ile 1 gram streptomisin, 100 ml steril deiyonize su içinde eritilerek % 1'lik ana stok hazırlandı. Çoğaltma ve izolasyon besiyerlerinin içine, her 10 ml besiyeri için, ana stoktan 0.1 ml ilave edildi (100 Ü/ml penisilin ve 0.1 g/ml streptomisin). Taşıyıcı besiyerlerinin içine, bu standart konsantrasyonların iki katı kadar antibiyotik eklendi.

##### **• Amfoterisin B:**

50 mg'lık 1 flakon amfoterisin B, 10 ml steril deiyonize suda eritildi. Bu stok solüsyondan 1 ml alınıp, 49 ml deiyonize suda karıştırıldı. Son konsantrasyonu 100 µg/ml olan bu solüsyon, çoğaltma ve izolasyon besiyerlerine, son konsantrasyonu 2 µg/ml olacak şekilde eklendi. Taşıyıcı besiyeri için, bu konsantrasyonun iki katı kullanıldı.

##### **• Glutamin:**

Glutamin stok solüsyonunu hazırlamak için 2.92 g glutamin, 100 ml deiyonize su içinde eritildi. Bu çözelti Millipore filtresinden süzöldükten sonra 4°C' de saklandı. Glutamin stok solüsyonu, 1 haftayı geçen stok besiyerlerine %1 oranında eklendi.

• **Tripsin:**

NaCl .....	4 g
KCl .....	0.10 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	0.10 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	0.10 g
Tripsin (Difco).....	2.5 g
Deiyonize su .....	500 ml

Tüm maddeler deiyonize su içinde eritildikten sonra, solüsyon iyice çalkalandı. Bir gece buzdolabında bekletildikten sonra Millipore filtresinden süzüldü ve 4°C' de saklandı.

• **Fetal dana serumu:**

Piyasada hazır bulunan Biochrom KG (Seromed) firmasının fetal dana serumu kullanılıncaya kadar -20°C' de saklandı. Kullanılmadan önce 4°C' de bir süre bekletilerek eritildikten sonra, 10 ml'lik steril tüplere bölündü.

• **Versen: (Na<sub>2</sub> EDTA)**

NaCl.....	8 g
KCl .....	0.2 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	1.5 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	0.2 g
Versen .....	0.2 g
Deiyonize su .....	1000 ml

Tüm maddeler deiyonize suda eritildikten sonra, şişelere ve tüplere paylaştırıldı ve otoklavda sterilize edildi, 4°C'de saklandı.

• **Kobay Eritrositi Süspansiyonu:**

Ege Üniversitesi Veterinerlik Araştırma Laboratuvarı'ndaki kobaylardan, 100 ml venöz kan alındı ve 1/4 oranında, Alsever solüsyonu içine konularak 4°C'de saklandı. Kullanılacağı zaman bu solüsyondan 10 ml alınarak üzerine 3-4 ml PBS eklendi ve 3 kez 1500 devirde 15 dakika süre ile santrifüje edilerek

yıkandı. Bu şekilde yıkanan eritrosit paketinden 0.1 ml alındı ve 1.9 ml PBS içine konularak % 5'lik stok eritrosit süspansiyonu hazırlandı. Hemaglutinasyon testi için kullanılacağı zaman 0.1 ml stok eritrosit süspansiyonu 0.9 ml PBS içerisine konuldu ve son konsantrasyonu % 0.5 olan bu karışımdan 0.05 ml alınarak virüs sulandırılmaları üzerine eklendi.

### 3.1.3. Besiyerleri

a) **Stok Besiyeri:** Piyasadan sağlanan Minimum Essential Medium (MEM) (Sigma, ABD) kullanıldı. 1 litre steril deiyonize su içinde eritilen 4.97 g besiyeri içerisine 2.2 g NaHCO<sub>3</sub> eklendi, 1 N HCl kullanılarak, pH'ı 7.4 olacak şekilde ayarlandıktan sonra Millipore filtresinden süzüldü. Besiyeri 100 ml'lik steril şişelere bölünerek, kullanılıncaya kadar 4°C' de saklandı.

b) **Taşıyıcı Besiyeri:** Hastalardan alınan örneklerin, laboratuvara taşınması amacıyla taşıyıcı besiyeri, aşağıda belirtildiği şekilde hazırlandı. Hazırlandıktan sonra tüplere ikişer ml. bölünerek 4°C' de saklandı.

MEM.....100 ml  
Pen+Strep.....2 ml  
Amf B .....1 ml

c) **Çoğaltma Besiyeri:** Hücrelerin, pasajlandıktan sonra üretilmeleri amacıyla, aşağıda belirtildiği şekilde hazırlandı.

MEM .....100 ml  
Fetal dana serumu.....10 ml  
Pen+Strep .....1 ml  
Amf B .....0.5 ml  
Glutamin<sup>1</sup>.....1 ml

---

<sup>1</sup> Glutamin, hazırlanan besiyeri bir haftayı geçmişse eklenir.

d) **İzolasyon Besiyeri (İdame Besiyeri):** Tek tabaka halinde üremiş hücrelerin idamesi amacıyla veya hasta örneklerinin hücreler üzerine inokülasyonundan sonraki enkübasyon sırasında kullanıldı.

MEM .....100 ml  
Fetal dana serumu <sup>1</sup>.....2 ml  
Pen+Strep .....2 ml  
Amf B .....1 ml  
Tripsin <sup>2</sup>.....0.5 ml

### **3.2. Hasta Seçimi ve Örnek Alma**

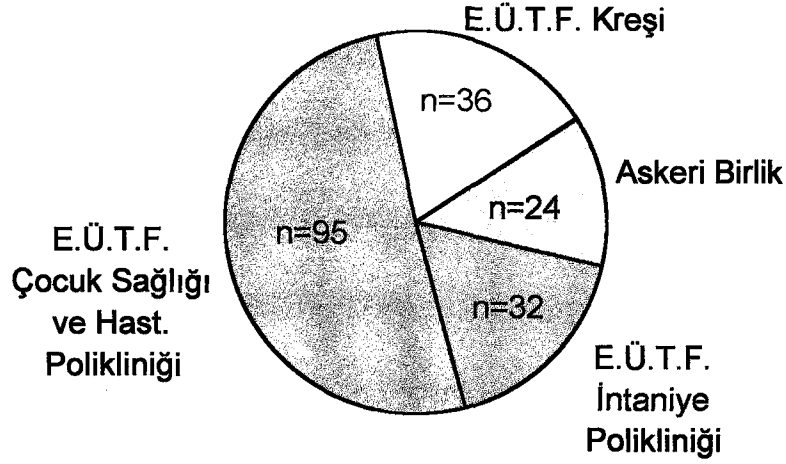
#### **3.2.1 Hasta Seçimi**

Ocak 1996'dan Mart 1996'ya kadar olan dönem içinde influenza benzeri hastalık tablosu (ateş, kırıklık, baş, kas ve eklem ağrıları, boğaz ağrısı, öksürük, burun akıntısı) ile başvuran 2,5 ay - 61 yaş arası 187 hasta (72 kadın, 115 erkek) çalışmaya dahil edildi. Bu olguların 131'i (2,5 ay-12 yaş) Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Polikliniği'ne başvuran hastalar ve Ege Üniversitesi kreşindeki hasta çocuklar; 32'si Bornova Merkez Komutanlığı Acemi Asker Birliği Reviri'ne başvuran acemi askerler ve 24'ü de Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı Polikliniği'ne başvuran erişkinlerdi.

---

<sup>1</sup> Fetal dana serumu sadece adenovirüs ve solunum sinsityal virüsü izolasyonunda besiyerine eklendi.

<sup>2</sup> Tripsin sadece parainfluenza virüsü izolasyonu için besiyerine eklendi ve stok tripsinden 2.5 µ/ml olacak şekilde hazırlandı.



**Şekil 3.1.** 187 örneğin geliş yerlerine göre dağılımı.

### **3.2.2. Örnek Alma**

Tüm hastalardan pamuklu eküvyon ile nazofaringiyal sürüntü örnekleri alındı. Toplanan örnekler taşıyıcı besiyeri içine konularak, laboratuvara ulaştırılincaya dek 4°C'de saklandı. Alınan örnekler 20-30'ar saniye boyunca vortekslenip, 3000 devirde 15-20 dakika süre ile santrifüje edildi. Üst sıvı alınarak ya hemen ekildi ya da ekim yapılana dek en fazla 4 gün boyunca 4°C'de saklandı.

## **3.3. Tek Tabakalı Hücre Kültürünün Hazırlanması**

### **3.3.1 Hücreler**

Adenovirüs ve solunum sinsityal virüsü izolasyonu için, Hep-2 hücreleri (Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Şap Enstitüsü, Ankara), parainflunza virüsleri için Madine-Darby Bovine Kidney (MDBK) hücreleri (Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Şap Enstitüsü, Ankara) kullanıldı (1, 48).

### **3.3.2 Stok Kültürden Pasaj**

25 cm<sup>2</sup> lik şişelerde tek tabaka halinde laboratuvara gelen hücrelerin besiyeri döküldü. Bir kez önceden ısıtılmış stok besiyeri ile yıkandı. Üzerine 2-

2.5 ml tripsin-versen karışımı eklendi. Hücreler bu solüsyonla yıkandı. Yeniden 2.5 ml tripsin solüsyonu şişelere konuldu. Hücreler bir kez daha yıkandı ve şişenin içinde bu kez 0.5-1 ml tripsin solüsyonu ilave edildi. 37°C etüvde 3-5 dakika bekletildi; arada şişeye hafif hafif vurularak, hücrelerin şişe yüzeyinden ayrılması sağlandı. Buradan elde edilen hücre süspansiyonunun üzerine, konsantrasyonu 10<sup>5</sup> hücre/ml olacak şekilde çoğaltma besiyeri eklendi.

### **3.4. Tüp Kültürlerinin Hazırlanması**

Hazırlanan hücre süspansiyonu, hücrelerin dibe çökmesini engellemek için, hazırlandıktan hemen sonra iki şişeye ve her biri 2 ml olacak şekilde lastik tıpalı tüplere bölündü. Şişe ve tüpler yaklaşık 3 gün boyunca 37°C'de, tek tabaka oluşuncaya dek enkübe edildi. Şişelerden biri yeni pasaj için kullanıldı, diğeri yedek olarak saklandı. Tüpler ise enkübasyonun 3. ve 4. günlerinde hastalardan alınan örneklerin ekimi için kullanıldı.

### **3.5. Örneklerin Tek Tabakalı Hücreler Üzerine Ekimi**

Örnekler önce vorteks ile 20-30 saniye karıştırıldı. Daha sonra ekivyonları çıkarıldı ve 3000 devirde 15-20 dakika santrifüje edildiler. Santrifügasyondan sonra üst sıvılar başka tüplere aktarıldı. Tek tabaka halinde üremiş olan hücrelerin besiyerleri döküldü. Her örnekten 0.2'şer ml alınarak, tek tabaka halinde üremiş Hep-2 hücrelerinden dörder adet (adenovirüs ve SSV izolasyonu için) ve MDBK hücrelerinden de ikişer adet (parainfluenza virüsü izolasyonu için) olacak şekilde hücreler üzerine ekildi. İnokülasyon yapılmış hücreler 30 dakika süre ile 37°C'lik etüvde enkübe edildikten sonra, üzerlerine 2'şer ml izolasyon besiyeri eklenerek, yeniden etüve kaldırıldılar.

### **3.6. Tüp Kültürlerinin İzlenmesi**

**3.6.1. Sitopatik etki:** Ekim yapılan tüm tüpler, 3, 7, 9, 11, 13 ve 15. günlerde, invert mikroskopta, tipik **sitopatik etki** yönünden izlendi. Hücrelerin üzüm

salkımı şeklinde biraraya gelerek kümeler oluşturması, adenovirüslerin; sinsitya oluşturmuş büyük dev hücrelerin varlığı, SSV'lerin; parçalanmış büyük dev hücre görünümünün varlığı da parainfluenza virüslerinin oluşturduğu sitopatik etki olarak yorumlandı.

**3.6.2. Hemaglütinasyon testi:** Ayrıca parainfluenza virüslerinin tanısında ek olarak, yine aynı günlerde hemaglütinasyon testi yapıldı (48,49,50). Bu test için, MDBK hücrelerine ekilmiş olan örneklerin kültür sıvılarından 0.1 ml alınıp, 0.9 ml PBS (phosphate buffered saline) ile 1/10'luk sulandırım elde edildi. Üzeri çukurcuklu mikropklara, ilk çukur boş kalacak şekilde sıra ile 0.05 ml PBS konuldu. Ardından ilk tüpe 0.05 ml virüs sulandırımı eklendi ve diğer çukurlara 0.05'er ml aktararak, her örneğin ileri dilüsyonları yapıldı. Böylece virüs, 1/10, 1/20, 1/40, 1/80,... şeklinde sulandırılmış oldu. Son sıra çukurcuğa, kontrol olarak, virüs sulandırımı eklenmeden, sadece PBS konuldu. Ardından bütün çukurlara, yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlanmış olan % 0.5'lik kobay eritrosit süspansiyonundan 0.05 ml eklendi ve 1 saat oda sıcaklığında bekletildi. Dipte nokta şeklinde çökme varsa test negatif, hemaglütinasyon şeklinde bir yayılma varsa test pozitif olarak yorumlandı.

### **3.7. Virüs İzolasyonu ve Tanımlama**

Sitopatik etki görülen ve/veya hemaglütinasyon olumlu bulunan hücreler tüp yüzeyinden kazınarak, daha sonraki incelemelere yetecek sayıda olmak üzere, lamlar üzerine aktarıldılar ve havada kurutulduktan sonra, metanol içinde 5 dakika süre ile tespit edildiler. Birinci preparatın üzerine 0.25 µl floresein ile işaretlenmiş monoklonal adenovirüs (Dako Diagnostica, UK), ikinci preparatın üzerine solunum sinsityal virüsü (Dako Diagnostica, UK) ve üçüncü preparata da parainfluenza virüsü (Dako Diagnostica, UK) antikorları konuldu. Tümü 15 dakika süre ile 37°C de enkübe edildikten sonra PBS ile 2 kez yıkandılar ve üzerlerine gliserin içeren kapatici sıvı konularak floresan mikroskopta (Olympus,Japan) incelendiler. Mikroskopta, adenovirüsler için sitoplazma içinde, SSV ve parainfluenza virüsleri için ise hem sitoplazma içinde

hem de hücre çeperinde yoğunlaşmış, yaygın mavi-yeşil renkte floresans veren partiküllerin görülmesi, olumlu sonuç olarak değerlendirildi.

**Tablo 3.1. Viral tanımlamada izlenen yol.**

<b>Virüsler</b>	<b>İnokülasyon yapılan hücre tipi</b>	<b>İzlem</b>	<b>Tanımlama</b>
<b>Adenovirüsler</b>	Hep-2	CPE	IF
<b>Solunum sinsityal virüsü</b>	Hep-2	CPE	IF
<b>Parainfluenza virüsleri</b>	MDBK	CPE+Hemaglutinasyon	IF

## **4. BULGULAR**

Çalışmada toplam 187 örnek incelendi. Bu örneklerin 131'ini Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Polikliniği ile Ege Üniversitesi kreşindeki hasta çocuklar oluşturmaktaydı. Bu grubun geliş yerleri ve cinsiyet dağılımı Tablo 4.1'de gösterilmiştir. Çocukların yaş dağılımı 2.5 ay ile 12 yaş arasında değişmekte idi.

**Tablo 4.1.** 131 çocuk hastadan alınan örneklerin geliş yerleri ve cinsiyetlerine göre dağılımı.

<b>Geliş Yeri</b>	<b>K</b>	<b>E</b>	<b>Toplam</b>
<b>E.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Polikliniği</b>	42	53	95
<b>E.Ü.T.F. Kreşi</b>	15	21	36

56 erişkin hastadan alınan örneklerin, 32'sini Bornova Merkez Askeri Birliği'ndeki acemi erler, 24'ünü ise E.Ü.T.F. Klinik Bakterioloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Polikliniği'ne başvuran hastalar oluşturmaktaydı. Bu hastaların yaş dağılımı 18 ile 57 yaş arasında değişmekteydi (Tablo 4.2).

**Tablo 4.2.** 56 erişkin hastadan alınan örneklerin geliş yerleri ve cinsiyetlerine göre dağılımı.

<b>Geliş Yeri</b>	<b>K</b>	<b>E</b>	<b>Toplam</b>
<b>Askeri Birlik</b>	-	32	32
<b>E.Ü.T.F.Klinik Bakt. ve Enf. Hast.</b>	9	15	24

Yapılan çalışma sonucunda, yaşları 8 ay ile 3.5 yaş arasında değişen 6 çocuktan solunum sinsityal virüsü, 5'i erişkin olmak üzere toplam 7 hastadan adenovirüs, 1 çocuk hastadan parainfluenza virüsü tip 1, yine 1 çocuk hastadan parainfluenza virüsü tip 2 izole edildi. Toplam 187 hastanın 15'inde (% 8) bir solunum yolu patojeni saptandı.

Solunum sinsityal virüsü izole edilen 6 hastanın 4'ü erkek, 2'si kızdı ve yaşları 8 ay ile 3,5 yaş arasında değişmekteydi. Adenovirüs izole edilen 7 hastanın 5'ini acemi askerlerin eğitim gördükleri Bornova Merkez Askeri birliğindeki erler oluşturmaktaydı ve bu hastaların yaş ortalaması 25 idi. Ayrıca adenovirüs, 1,5 ve 2.5 yaşlarında iki çocuk hastadan daha izole edildi. Parainfluenza virüsü, yaşları 1 ve 2,5 olan biri kız diğeri erkek iki çocuk hastadan izole edildi (Tablo 4.3 ve 4.4).

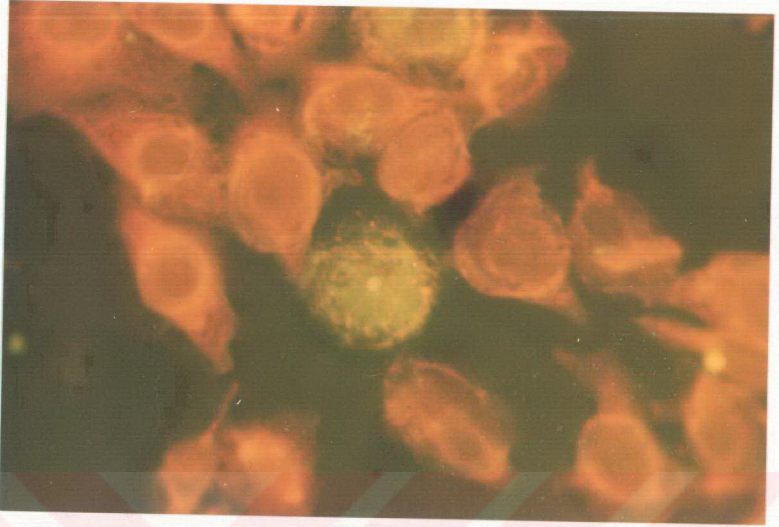
**Tablo 4.3.** İzole edilen virüsler ve yüzdeleri.

	<b>Adenovirüs</b>	<b>Solunum Sinsityal Virüsü</b>	<b>Parainfluenza Virüsü</b>	<b>Toplam</b>
<b>İzole edilen virüs sayısı</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>2</b>	<b>15</b>
<b>İzole edilen virüs yüzdesi</b>	<b>% 3.7*</b>	<b>% 3.2*</b>	<b>% 1.0*</b>	<b>% 8.0*</b>

\*Yaklaşık oranlar

**Tablo 4.4. Pozitif örneklerin yaş ve geliş yerlerine göre dağılımı.**

	<b>Yaş</b>	<b>Cinsiyet</b>	<b>Geliş Yeri</b>
<b>Adenovirüs (Toplam: 7)</b>	1.5	K	E.Ü. Kreşi
	2.5	E	E.Ü.Ç.S.Hast.Polik.
	25	E	Askeri Birlik
	25	E	
	27	E	
	25	E	
	25	E	
<b>Solunum Sinsityal Virüsü (Toplam: 6)</b>	1	E	E.Ü.Ç.S.Hast.Polik.
	1	E	
	3.5	K	
	8 ay	K	E.Ü.Kreşi
	2.5	E	
	2.5	E	
<b>Parainfluenza Virüsü(Toplam:2)</b>	1	E	E.Ü.Ç.S.Hast.Polik.
	2.5	K	



**Resim 1.** Tek tabakalı Hep-2 hücrelerinde üretilmiş adenovirüslerin immünfloresan mikroskoptaki görünüşleri.



**Resim 2.** Tek tabakalı Hep-2 hücrelerinde üretilmiş SSV'lerinin immünfloresan mikroskoptaki görünüşleri.

## 5. TARTIŞMA

Solunum sistemi hastalıklarına tüm dünyada, çocuk ve erişkin olmak üzere her yaş grubunda oldukça sık rastlanılmaktadır. Bu hastalıkların çok önemli bir grubunu virüs kaynaklı enfeksiyonlar oluşturmaktadır (49,51). Özellikle 0-5 yaş arası çocuklarda viral solunum sistemi hastalıklarının en önemli morbidite ve mortalite sebebi olduğu bilinmektedir (52,53). Bu yaş grubunda hastaneye yatırılan çocukların yarısından veya üçte ikisinden viral enfeksiyonlar sorumlu tutulmakta ve A.B.D. verilerine göre her yıl 2-5 milyon çocuk bu sebeple yaşamlarını yitirmektedir (54,55,56).

Gelişmekte olan ülkelerde bu oran çok daha yüksektir (57). Filipinler, Tayland, Pakistan, Kenya, Kolombiya, Uruguay, Arjantin gibi pek çok ülkeyi içine alan çok merkezli bir çalışmada, çocukların her hafta % 21-40 oranında bir akut solunum yolu hastalığı atağı ile sağlık merkezlerine başvurdukları gösterilmiştir (58).

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de viral solunum yolu hastalıkları önemli bir sağlık sorunu oluşturmaktadır. İlerleyen yıllar içerisinde, erken viral tanı yöntemlerinin rutin laboratuvarlarda kullanılmaya başlanması, hastane ortamlarının iyileştirilmesi ve özellikle başta aşı çalışmaları olmak üzere tüm tedavi ve korunma yöntemlerinin uygulamaya konulması, bu hastalıklara ülkemizde de önem verildiğinin birer göstergesidir.

Bu çalışmada, 1995-1996 kış mevsiminde bölgemizdeki adenovirüs, solunum sinsityal virüsü ve parainfluenza virüslerinin dağılımı ve sıklığı incelenmiştir.

Bölgemizde, solunum yolu hastalıkları çalışmanın gerçekleştirildiği dönemin Ekim ayında sporadik olgular şeklinde ve influenza benzeri hastalık tabloları ile ortaya çıkmaya başlamıştır. Bu aktivite, Kasım ve Aralık ayları içinde giderek artmış ve Aralık sonu, Ocak başında epidemik düzeylere ulaşmıştır.

Benzer bir dağılım ve aktivite Avrupa ülkelerinde de gözlenmiştir. Avrupa ülkelerinde, Ekim ayı içinde ilk SSV ve parainfluenza virüsü izolasyonları yapılmış, daha sonra bunlar giderek artış göstermişlerdir (59). Kasım ayından itibaren bunlara adenovirüsler de eklenmiş ve solunum yolu enfeksiyonlarının aktivitesi hız kazanmıştır (60).

Viral solunum yolu enfeksiyonlarının erkeklerde, kızlara oranla daha fazla oranda ortaya çıktığı bilinmektedir (14). Bu olay erkeklerin anatomik olarak kızlara göre daha ince hava yollarına sahip olması ile açıklanmaktadır. Bu çalışmada da, sayı az olmakla birlikte, erkek çocuklarda daha fazla oranda virüs izole edilmiştir.

Çalışmada toplam 187 örnek değerlendirilmiştir. Bu örneklerde 7 adenovirüs, 6 solunum sinsityal virüsü ve 2 parainfluenza virüsü (PIV-1 ve PIV-2) olmak üzere toplam 15 solunum yolu patojeni saptanmıştır.

Bu çalışma, E.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları polikliniği ve kreşi, Ege Ordu Komutanlığı Bornova Merkez Askeri Birliği ve E.Ü.T.F. Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Bakteriyoloji Anabilim Dalı polikliniğini içeren çok merkezli bir çalışma olmuştur. Örnek sayısı, solunum yolu virüsleri gibi toplumda oldukça yaygın olarak hastalık oluşturan patojenlerin epidemiyolojisinin araştırılması için yeterli değildir. Ancak, daha kapsamlı ve verimli bir çalışma için örneklerin ayrı ayrı merkezlerden aynı günde toplanarak, uygun bir şekilde laboratuvara ulaştırılması ve bekletilmeden ekimlerinin yapılması gerektiğinden bu durum laboratuvarımızın kapasitesini aşmış ve örnek sayısında istenilen sayıya ulaşamamıştır.

Bu çalışmada, adenovirüs izolasyon oranı (% 3.7), adenovirüslerin epidemiyolojik özelliklerine uyumlu bulunmuştur. Özellikle 32 acemi askerden elde edilen örnekler dikkate alındığında, izolasyon oranı % 6.2'ye yükselmektedir.

SSV enfeksiyonlarının oranı, genel popülasyon gözönüne alındığında düşük (% 3.2) gibi görünmekteyse de, bu enfeksiyonların çocuklar arasında daha yaygın, özellikle de 2 ay-2 yaş arası çocuklarda egemen olarak görülen solunum yolu enfeksiyonu etkeni oldukları bilinmektedir. SSV enfeksiyonları

yaşamın ilk iki yılı içinde daha çok alt solunum yolu enfeksiyonu, daha sonraki yıllarda ise hafif üst solunum yolu enfeksiyonları şeklinde karşımıza çıkmaktadır. Bronşiyolit veya pnömoni nedeniyle hastaneye yatırılan çocuklarda SSV etiyolojisi araştırılmış ve Newcastle'da (ABD) bir yaşın altındaki bronşiyolitlilerin % 75'inden, pnömonililerin ise % 25'inden SSV izole edilmiştir. Yine Washington D.C.'de 13 yıllık bir izlem programı sonucu, bronşiyolitlerin % 43'ünden, pnömonilerin ise % 25'inden SSV'nin sorumlu olduğu saptanmıştır. Son çalışmada SSV'ye bağlı bronşit ve krup oranları sırasıyla % 11 ve % 10 olarak bulunmuştur.

Bölgemizde viral solunum yolu hastalıklarının epidemiyolojisini araştıran sınırlı sayıda yayın mevcuttur. Dereli ve ark., 93-94 kış mevsiminde 2 ay-2 yaş arasındaki 65 çocukta solunum sinsityal virüsü oranlarını, hücre kültürü ve doğrudan floresan antikor yöntemleri ile sırasıyla % 29.2 ve % 11.4 bulmuşlardır (61). Bu çalışmada virüs izolasyonu oranının, bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında yüksek bulunması, hasta grubunun 2 yaş altında, pnömoni ve bronşiyolit nedeniyle hastanede yatmakta olan olgular arasından seçilmiş olması ile açıklanabilir.

Çalışmamızda influenza benzeri hastalık tablosu gösteren, üst solunum yolu enfeksiyonu olan hastalar incelemeye alındıklarından, alt solunum yolu enfeksiyonu olan çocukların SSV enfeksiyonları atlanmış olabilir. Ayrıca, SSV enfeksiyonlarının yaygın olarak görüldükleri sonbahar aylarında çalışmaya başlanmamış olması da oranın düşük kalmasında etkili olmuş olabilir.

SSV'ye benzer şekilde, parainfluenza virüsü enfeksiyonları da yaşamın ilk yılları içinde yaygın olarak görülürler ve bu virüsler de daha çok alt solunum yolu enfeksiyonlarına neden olurlar. Ayrıca parainfluenza virüsleri, diğer virüslerin, özellikle de SSV'nin egemen olmadığı sonbahar ve ilkbahar aylarında yaygın olarak bulunurlar (62). Daha önce de değindiğimiz gibi, çalışmamızda parainfluenza virüsü izolasyonu oranı yaklaşık % 1'den ibarettir. Bu oran diğer literatürlerdeki oranlara göre düşüktür. Ancak, çalışmanın ilk ve sonbahar aylarını kapsamaması, yalnız üst solunum yolu enfeksiyonu olan hastaları içermesi ve ayrıca laboratuvar ve çalışma şartlarından dolayı

parainfluenza virüsü izolasyonu için, klinik örneklerin ekiminin ancak bir yıl sonra gerçekleştirilebilmiş olması değinilen oranın bulunmasında etkili olabilir. Diğer taraftan, -70° C'de bir yıl süre ile saklanan materyellerin enfektivitesinde bir miktar düşüş olabileceği de dikkate alınmalıdır.

İyi bir virüs izolasyonu için örneğin kalitesinin yanında, alındığı bölge de önemlidir. Solunum sisteminde hastalık oluşturan virüslerin izolasyonu için tercih edilen örnek, nazofaringiyal aspirasyon veya nazal yıkantı suyudur. Bu konuyla ilgili olarak yapılan bir çalışmada, polietilen kateterle yapılan nazofaringiyal aspirasyonun, nazofaringiyal sürüntü örneğine göre çok daha fazla miktarda virüs partikülü içerdiği gösterilmiştir (63). Bizim çalışmamızda hastalardan alınan örnek; poliklinik koşulları gereği, nazofaringiyal sürüntü örneğidir. Bu yüzden, örneğin niteliğinden dolayı virüs izole etme şansının bir miktar da olsa düşebileceği göz önüne alınmalıdır.

Bilindiği gibi hücre kültürü yöntemi ile virüs tanımlanması tüm tanı laboratuvarlarında altın standart yöntem olarak kabul edilmektedir. Bu yöntemle virüslerin kesin idantifikasyonunu sağlama olanağı mevcuttur. Ancak hücre kültürü yöntemi zahmetli bir iştir. Özellikle bazı virüslerin bu yöntemle tanımlanması oldukça geç ve bazen de olanaksız olmakta, sterilizasyon şartlarının ve uygun ekipmanın sağlanması da her zaman kolay olmamaktadır.

Bu nedenlerden ötürü, tüm dünyada hücre kültürü yöntemine alternatif olabilecek tanı yöntemleri geliştirilmiş ve özellikle solunum yolları virüsleri için erken tanıyı olası kılabilecek yöntemler, rutin laboratuvarlarda kullanılmaya başlanmıştır. Bunlar arasında; hastalık materyelinden antijen arama, dokularda nükleik asit hibridizasyonu ve PZR sayılabilir. Ancak tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de bu yöntemlerin rutin olarak uygulanması sırasında bir takım sorunlar doğmaktadır. Maliyetin en aza indirilmesi, kaliteli ekipmanın sağlanması ve kontaminasyonun önlenmesi gibi konular üzerinde çalışmalar halen devam etmektedir.

Tüm dünyada olduğu gibi, bölgemizde de erişkin ve özellikle çocuklarda ağır sekillere ve hatta mortaliteye sebep olabilen solunum yolları virüslerinin yaygın şekilde bulunduğu bilinmelidir. Bu sayede ayırıcı tanıya hızla gidilerek,

riskli bireylerin korunması ve uygun tedavilere zamanında başlanması sağlanabileceği gibi, aşı çalışmaları için gerekli epidemiyolojik verilerin toplanması da gerçekleştirilebilir.

Ülkemizde ve özellikle bölgemizde solunum yolu virüslerinin epidemiyolojik özelliklerine ait çalışma sayısı yeterli değildir. Ülkemizin doğu ve batıyı birleştiren stratejik bir yere sahip olması, bu açıdan önemli bir kaynak oluşturacağına göstergesidir. Gerçekleştirdiğimiz çalışma ufak çapta da olsa, bölgemizdeki viral üst solunum yolu hastalıklarının etiyolojisine araştırmaya yönelik ilk çalışmadır. Bu durumda, benzer çalışmaların yaygınlaştırılarak sürdürülmesinde yarar bulunmaktadır.



## **6. ÖZET**

Solunum yolu enfeksiyonlarına, tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de oldukça sık olarak rastlanmaktadır. Bunlar arasında viral enfeksiyonlar önemli bir grubu oluştururken, her yaş grubunda ve farklı klinik tablolar ile karşımıza çıkabilmektedirler.

Bu çalışmada, solunum sistemi hastalıklarının önemli patojenlerinden olan solunum sinsityal virüsü, adenovirüs ve parainfluenza virüslerinin bölgemizdeki dağılımı ve sıklığı araştırılmıştır. Bu amaçla 1995-96 kış mevsiminde influenza benzeri hastalık tablosu gösteren, 131'i çocuk ve 56'sı erişkin olmak üzere toplam 187 hastanın nazofaringiyal sürüntü örneği alınmıştır. Alınan örnekler santrifüje edildikten sonra, solunum sinsityal virüsü ve adenovirüs izolasyonu için, tüplerde tek tabaka halinde üremiş olan Hep-2 hücrelerine, parainfluenza virüsü izolasyonu için ise MDBK hücreleri üzerine inoküle edilmiştir. Tüpler 15 gün süre ile gūnaşırı, sitopatik etki yönünden araştırılmış, ayrıca parainfluenza virüslerinin tanısı için yine gūnaşırı olmak üzere hemaglütinasyon testi yapılmıştır. Sitopatik etki gözlenen ve/veya hemaglütinasyon olumlu olan örnekler, floresein ile işaretli monoklonal solunum sinsityal virüsü, adenovirüs ve parainfluenza virüsü antikorları kullanılarak boyanmış ve floresan mikroskopta incelenmiştir.

Yapılan çalışma sonucunda, yaşları 8 ay ile 3.5 yaş arasında değişen 6 çocuktan SSV, beşi erişkin olmak üzere 7 hastadan adenovirüs, bir çocuk hastadan parainfluenza tip 1 ve yine bir çocuk hastadan parainfluenza tip 2 izole edilmiştir. Toplam 187 nazofaringiyal örneğin 15'inde (% 8) bir solunum yolu patojeni saptanmıştır.

## **7. SUMMARY**

Respiratory tract infections are frequent in our country as they are throughout the world. Viral respiratory tract infections constitute the major group and are manifest with different clinical features in all age groups.

The frequency and the distribution of respiratory syncytial virus (RSV), adenoviruses and parainfluenza viruses, the important causes of respiratory tract infections in our region, were investigated in this study. For this reason, nasopharyngeal swab specimens were collected from 187 patients, 131 children and 56 adults, who suffered from influenza-like illness in the winter of 1995-96. After centrifugation of the specimens, they were inoculated on monolayers of Hep-2 cells for RSV and adenoviruses and on MDBK cells for parainfluenza virus isolation. The tubes were tested for the cytopathic effect every other day during 15 days and hemagglutination test was added for parainfluenza virus identification. Cytopathic effect and/or hemagglutination test positive specimens were stained using fluorescein-conjugated monoclonal RSV, adenovirus and parainfluenza virus antibodies and examined under fluorescent microscope.

RSV was isolated from 6 children ages ranging between 8 months and three and a half years, adenoviruses from 7 patients five of which were adults, and human parainfluenza viruses type I and II each from one child patient. A respiratory tract pathogen was isolated from fifteen of all 187 nasopharyngeal swab specimens (8 %).

## **8. KAYNAKLAR**

1. Shenk T. Adenoviridae: The viruses and their replication. In: Fields Virology, third edition. Fields BN, Knipe DM, Howley PM, et al, eds. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996, 2111-48.

2. Baum SG. Adenovirus. In: Principles and Practice of Infectious Diseases, fourth edition. Mandell GL, Douglas, Jr. RG, Bennett JE, eds. Churchill Livingstone Inc., New York, 1995, 1382-7.

3. Serter D. Virüs, Riketsiya ve Klamidya Hastalıkları. 1. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1997, 116-123.

4. Murray PR, Kobayashi GS, Pfaller MA, Rosenthal KS. Adenoviruses. In: Medical Microbiology, second edition. Mosby-Year Book, London, 1994, 564-70.

5. Fox JP, Hall CE, Cooney KM. The seattle virus watch. Am J Epidemiol 1977; 105: 362-85.

6. Edwards KM, Thompson RN, Paolini BS. Adenovirus infections in young children. Pediatrics 1985; 76: 420-4.

7. Turner RB, Lande AE, Chase P. Pneumonia in pediatric outpatients: cause and clinical manifestations. J Pediatr 1987; 111: 194-200.

8. Blanding JB, Hoshiko MG, Stutman HR. Routine viral culture for pediatric respiratory specimens submitted for direct immunofluorescence testing. J Clin Microbiol 1989; 27: 1438-40.

9. Sarkkinen HK, Halonen PE, Arstila PP, et al. Detection of respiratory syncytial, parainfluenza type 2, and adenovirus antigens by radioimmunoassay and enzyme immunoassay on nasopharyngeal specimens from children with acute respiratory disease. J Clin Microbiol 1981; 13: 258-65.

10. Lehtomaki K, Julkunen I, Sandelin K, et al. Rapid diagnosis of respiratory adenovirus infections in young adult men. J Clin Microbiol 1986; 24: 108-11.

11. Pacini DL, Coller AM, Henderson F. Adenovirus infections and respiratory illnesses in children in group day care. *J Infect Dis* 1987; 156: 920-7.
12. Brandt N. Adenoviruses. *Pediatric Respiratory Tract Disease* 1970; 90: 486-500.
13. Schmitz H, Wigand R, Heinrich W. Worldwide epidemiology of human adenovirus infections. *Am J Epidemiol* 1983; 117: 455-71.
14. Collins PL, Chanock RM, McIntosh K. Respiratory syncytial virus. In: *Fields Virology*, third edition. Fields BN, Knipe DM, Howley PM, et al, eds. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996, 1313-53.
15. Hall CB, McCarthy CA. Respiratory syncytial virus. In: *Principles and Practice of Infectious Diseases*, fourth edition. Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE, eds. Churchill Livingstone Inc., New York, 1995, 1501-19.
16. Serter D. Virüs, Riketsiya ve Klamidya Hastalıkları. 1. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1997, 291-307.
17. Murray PR, Kobayashi GS, Pfaller MA, Rosenthal KS. Respiratory syncytial virus. In: *Medical Microbiology*, second edition. Mosby-Year Book, London, 1994, 638-40.
18. Serter D. Virüs, Riketsiya ve Klamidya Hastalıkları. 1. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1997, 307-314.
19. Kenneth MI. Pathogenesis of severe acute respiratory infections in the developing world: respiratory syncytial virus and parainfluenza viruses. *Rev Infect Dis* 1991; 13 (Supp 6): 492-500.
20. Holberg JC, Wright AL, Martinez FD. Risk factors for respiratory syncytial virus-associated lower respiratory illnesses in the first year of life. *Am J Epidemiol* 1991; 133 (Supp 11): 1135-51.
21. Glezen PW, Paredes A, Allison JE. Risk of respiratory syncytial virus for infants from low-income families in relation to age, sex, ethnic group, and maternal antibody level. *J Pediatr* 1981; 98: 708-15.
22. Heilman CA. Respiratory syncytial and parainfluenza viruses. *J Infect Dis* 1989; 161: 402-6.

23. Glezen WP, Taber LH, Frank AL, et al. Risk of primary infection and reinfection with respiratory syncytial virus. *AJDC* 1986; 140: 543-6.
24. Kim WH, Arrobio CD, Brandt C. Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in Washington D.C. *Am J Epidemiol* 1973; 98: 216-25.
25. Groothuis JR, Carol K, Salbenblatt RN. Severe respiratory syncytial virus infection in older children. *AJDC* 1990; 144: 346-8.
26. Ray GC, Minnich LL. Efficiency of immunofluorescence for rapid detection of common respiratory viruses. *J Clin Microbiology* 1987; 25: 355-7.
27. Grandien M, Pettersson C, Gardner P, et al. Rapid viral diagnosis of acute respiratory infection: comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and the immunofluorescence technique for detection of viral antigens in nasopharyngeal secretions. *J Clin Microbiol* 1985; 22: 757-60.
28. Levin MJ. Treatment and prevention options for respiratory syncytial virus infections. *J Pediatr* 1994; 124: 22-7.
29. Groothuis JR. Role of antibody and use of respiratory syncytial virus immunoglobulin to prevent severe RSV disease in high risk children. *J Pediatr* 1994; 124: 28-32.
30. Ray G, Minnich LL, Holberg CJ, et al. Respiratory syncytial virus associated lower respiratory illnesses: possible influence of other agents. *Pediatr Infect Dis* 1993; 12: 15-9.
31. Hendry MR, Pierik LT, McIntosh K. Prevalence of respiratory syncytial virus subgroups over six consecutive outbreaks: 1981-1987. *J Infect Dis* 1989; 160: 185-90.
32. Anderson LJ, Parker RA, Strikas RL. Association between respiratory syncytial virus outbreaks and lower respiratory tract deaths of infants and young children. *J Infect Dis* 1989; 161: 640-6.
33. Groothuis JR, Levin MJ, Rodriguez W, et al. Use of intravenous gammaglobulin to passively immunized high risk children against respiratory syncytial virus: safety and pharmacokinetics. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 1469-73.

34. Collins PL, Chanock RM, McIntosh K. Parainfluenza viruses. In: Fields Virology, third edition. Fields BN, Knipe DM, Howley PM, et al, eds. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996, 1205-41.
35. Murray PR, Kobayashi GS, Pfaller MA, Rosenthal KS. Medical Microbiology. second edition. Mosby-Year Book Inc. London, 1994, 639-40.
36. Murray PR, Kobayashi GS, Pfaller MA, Rosenthal KS. Paramyxoviruses. In: Medical Microbiology, second edition. Mosby-Year Book Inc. London, 1994, 629-38.
37. Welliver RC, Wong DT, Middleton E, et al. Pole of parainfluenza virus-specific IgE in pathogenesis of croup and wheezing subsequent to infection. *J Pediatr* 1982; 101: 889-96.
38. Hall BC, Geiman BS, Burtis B, et al. Parainfluenza viral infections in children: correlation of shedding with clinical manifestations. *J Pediatr* 1977; 91: 194-8.
39. Downham PS, Mcquillin J, Gardner PS. Diagnosis and clinical significance of parainfluenza virus in children. *Arch Dis Child* 1974; 49: 8-15.
40. Frank JA, Warren RW, Tucker A, et al. Disseminated parainfluenza infection in a child with severe combined immunodeficiency. *Am J Dis Child* 1983; 137: 1172-4.
41. Karron RA, O'Brien KL, Froehlich JL, et al. Molecular epidemiology of a parainfluenza type 3 virus outbreak on a pediatric ward. *J Infect Dis* 1992; 167: 1441-5.
42. Rabalais GP, Stout GG, Ladd K, et al. Rapid diagnosis of respiratory viral assay and monoclonal antibody pool. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 1505-8.
43. Stout C, Murphy D, Lawrence S, et al. Evaluation of a monoclonal pool for rapid diagnosis of respiratory viral infections. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 448-52.
44. Welliver RC, Wong DT, McCarthy RN, et al. Parainfluenza virus bronchiolitis. *AJDC* 1986; 140: 34-40.
45. Hemming VG. Viral respiratory disease in children: classification, etiology, epidemiology and risk factors. *J Pediatr* 1994; 124: 13-16.

46. Henrickson KJ, Kuhn SM, Savatski LL. Epidemiology and cost of infection with human parainfluenza virus types 1 and 2 in young children. *Clin Infect Dis* 1994; 18: 770-9.
47. Steinhoff MC. Viral vaccines for the prevention of childhood pneumonia in developing nations: priorities and prospects. *Rev Infect Dis* 1991; 13 (suppl 6): 562-70.
48. Avila M, Solomon H, Ebekian B, et al. Isolation and identification of viral agents in Argentinian children with acute lower respiratory tract infection. *Rev Infect Dis* 1990; 12 (suppl 8): 974-81.
49. Henrickson KJ, Kuhn MS, Savatski LL, et al. Recovery of human parainfluenza virus types one and two. *Journal of Virological Methods* 1994; 46: 189-206.
50. Welliver R, Wong DT, Pearay LO, et al. Natural history of parainfluenza virus in childhood. *J Pediatr* 1982; 101: 180-7.
51. Wong DT, Welliver RC, Riddlesberger KR, et al. Rapid diagnosis of parainfluenza virus infection in children. *J Clin Microbiol* 1982; 16: 164-7.
52. Martin AJ, Gardner PS, Mc Quillin J. Epidemiology of respiratory viral infection among pediatric inpatients over a six year period in North East England. *Lancet* 1978; 11: 1035-8.
53. Avila MM, Carballal G, Rovalletti H, et al. Viral etiology in acute lower respiratory infections in children from a closed community. *Am Rev Respir Dis* 1989; 140: 634-7.
54. Glezen PW, Denny FW. Epidemiology of acute lower respiratory disease in children. *N Engl J Med* 1982; 101: 180-7.
55. Ray GC, Holberg CJ, Minnich L, et al. Acute lower respiratory illnesses during the first three years of life: potential roles for various etiologic agents. *Pediatr Infect Dis J* 1993; 12: 10-14.
56. Meissner HC. Economic impact of viral respiratory disease in children. *J Pediatr* 1994; 124: 17-21.

57. Ghafoor A, Nomani NK, Ishaq Z, et al. Diagnoses of acute respiratory tract infections in children in Rawalpindi and Islamabad, Pakistan. Rev Infect Dis 1990; 12 (supp 8): 907-14.

58. Selwyn BJ on Behalf of the Coordinated Data Group of BOSTID Researchers. The epidemiology of acute respiratory tract infection in young children: comparison of findings from several developing countries. Rev Infect Dis 1990; 12 (supp 8): 870-88.

59. Eurogrog Bulletin No:6, Feb 1996.

60. Eurogrog Bulletin No:7, March 1996.

61. Dereli D, Ertem E, Serter D, et al. Detection of respiratory syncytial virus in children in the 1993-94 winter season in İzmir, Turkey, by two diagnostic methods. APMIS 1994; 102: 877-80.

62. McIntosh K, Halonen P, Ruskanen O. Report of respiratory viral infections: epidemiology, diagnosis, treatment, and prevention. Clin Infect Dis 1992; 16: 151-64.

63. Frayha H, Castriciano S, Mahony J. Nasopharyngeal swabs and nasopharyngeal aspirates are equally effective for the diagnosis of viral respiratory disease in hospitalized children. J Clin Microbiol 1989; 27: 1387-9.

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**