



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIP FAKÜLTESİ
TIP-MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI



**SOLUNUM YOLU ÖRNEKLERİNDEN SAPTANAN
RHINOVIRUSLARIN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE
TİPLENDİRİLMESİ: RETROSPEKTİF BİR ÇALIŞMA**

**BEYZA TUNER
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BURSA-2023**





**T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIP FAKÜLTESİ
TIP- MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**



**SOLUNUM YOLU ÖRNEKLERİNDEN SAPTANAN
RHINOVIRUSLARIN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE
TİPLENDİRİLMESİ: RETROSPEKTİF BİR ÇALIŞMA**

Beyza TUNER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN:
Prof. Dr. Harun AĞCA**

TYL – 2022 – 1056- BAP

BURSA-2023

**T.C. BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ETİK BEYANI

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum “**Solunum Yolu Örneklerinden Saptanan Rhinovirusların Moleküler Yöntemlerle Tiplendirilmesi: Retrospektif Bir Çalışma**” adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

Beyza TUNER

12.07.2023

TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

12/07/2023

Adı Soyadı: Beyza TUNER

Anabilim Dalı: Tıp-Mikrobiyoloji

Tez Konusu: Solunum Yolu Örneklerinden Saptanan Rhinovirusların Moleküler Yöntemlerle Tiplendirilmesi: Retrospektif Bir Çalışma

ÖZELLİKLER	<u>UYGUNDUR</u>	<u>UYGUN DEĞİLDİR</u>	<u>AÇIKLAMA</u>
Tezin Boyutları	☒	☐	
Dış Kapak Sayfası	☒	☐	
İç Kapak Sayfası	☒	☐	
Kabul Onay Sayfası	☒	☐	
Sayfa Düzeni	☒	☐	
İçindekiler Sayfası	☒	☐	
Yazı Karakteri	☒	☐	
Satır Aralıkları	☒	☐	
Başlıklar	☒	☐	
Sayfa Numaraları	☒	☐	
Eklerin Yerleştirilmesi	☒	☐	
Tabloların Yerleştirilmesi	☒	☐	
Kaynaklar	☒	☐	

DANIŞMAN ONAYI

Unvanı Adı Soyadı: Prof. Dr. Harun AĞCA

İmza:

İÇİNDEKİLER

DIŞ KAPAK	
İÇ KAPAK	
ETİK BEYANI	II
TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU	III
İÇİNDEKİLER	IV
TÜRKÇE ÖZET	VI
İNGİLİZCE ÖZET	VII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 Rhinovirusların Tarihçesi ve Sınıflandırılması	2
2.1.1 Keşfi	2
2.1.2 Sınıflandırılması	3
2.2 Rhinovirus Virolojisi.....	4
2.2.1 Kapsid Yapısı	5
2.2.2. Viral Genom Organizasyonu	6
2.2.3 Viral Replikasyon.....	7
2.2.4 Viral Patogenez Mekanizmaları ve Bağışıklık Sistemi Tepkileri	10
2.2.4.1 Patogenez	10
2.2.4.2 Bağışık Yanıt.....	14
2.2.5 RV İnkübasyonu ve Bulaş.....	15
2.3 RV Moleküler Epidemiyolojisi ve Enfeksiyonlarının Kliniği	16
2.3.1 Mevsimsel Dağılım Modları ve Küresel Yayılım	16
2.3.2. RV Kliniği.....	19
2.4 RV Tespiti ve Karakterizasyonu İçin Laboratuvar Yöntemleri	23
2.4.1 Örnek Toplama ve İşleme Yöntemleri	23
2.4.2 Kültür Tabanlı Virolojik Yöntemler	23
2.4.3 Moleküler Tabanlı Yöntemler	24
2.4.4 Serolojik Tabanlı Yöntemler	26
2.5 RV Enfeksiyonlarına Yönelik Tedavi ve Kontrol Stratejileri.....	27
2.6 COVID-19 Pandemisinde RV'nin Önemi ve Etkisi	28
3. GEREÇ ve YÖNTEM	30
3.1 Gereç	30
3.1.1 Kullanılan Cihazlar	30
3.1.2 Kullanılan Kitler ve Sarf Malzemeler	30
3.1.3 Biyoinformatik ve İstatistiksel Analizler için Kullanılan Programlar	31

3.2 Yöntem.....	31
3.2.1 Solunum Yolu Örneklerinin Toplanması ve Solunum Virüsü Tespiti.....	31
3.2.2 Viral Nükleik Asit (RNA) Ekstraksiyonu	31
3.2.3 Amplifikasyon Protokolü	34
3.2.4 Amplikonların Agaroz Jel Elektroforezi	36
3.2.5 Agaroz Jel Pürifikasyonu	38
3.2.6 Pürifikasyon Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi	40
3.2.7 Sanger Dideoksi Döngü Dizileme Protokolü	41
3.2.8 Biyoinformatik Analiz	41
3.2.9 İstatistiksel Analiz.....	42
4. BULGULAR.....	43
4.1 Hastalara Ait Demografik Bilgiler	43
4.2 RV'nin Biyoinformatik Analiz Sonuçları	44
4.2.1 RV Alt Tip Dağılımları	45
4.2.2 Filogenetik Ağaçlar	45
4.3 RV'nin Yıllara ve Mevsimlere Göre Dağılımı.....	49
4.4 RV'nin Yaş ve Cinsiyete Göre Dağılımı	50
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	53
6. KAYNAKLAR	60
7. SİMGE ve KISALTMALAR	75
8. EKLER.....	77
9. TEŞEKKÜR	88
10. ÖZGEÇMİŞ.....	89

TÜRKÇE ÖZET

Rhinovirus (RV), Enterovirus (EV) cinsindeki Picornaviridae familyasında sınıflandırılır. RV-A, RV-B ve RV-C olmak üzere üç türden oluşur ve 170'in üzerinde RV alt tipi bulunmaktadır. Bu çalışmada, Bursa Uludağ Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı PCR laboratuvarına gönderilen nazofaringeal sürüntü örneklerinde saptanan RV'lerin moleküler olarak alt tiplendirilmesini yapmak ve tiplerin mevsimsel dağılımını, yaş ve cinsiyet kategorileriyle olan ilişkisini belirlemek hedeflendi.

RV pozitifliği saptanan, 0-90 yaş aralığındaki hastalara ait 80 adet örnekten viral RNA, PureLink™ Viral RNA/DNA Mini Kit (ThermoFisher Scientific, ABD) kullanılarak ekstrakte edildi. Nükleik asit amplifikasyonu OneStep RT-PCR Kiti (Qiagen, Almanya) kullanılarak gerçekleştirildi. 5'UTR'de korunmuş bölgeleri hedefleyen RV evrensel primerleri kullanarak amplifiye edildi. Amplifikasyon işlemi sonrasında örnekler agaroz jel elektroforezine tabi tutularak pürifiye edildi. Pürifikasyon sonrası elde edilen PCR ürünleri Sanger dideoksi döngü dizileme metodu kullanılarak tek yönlü DNA dizi analizi yapıldı. Elde edilen diziler MEGA 11 programı kullanılarak değerlendirildi.

Bu çalışmada, RV'lerin yıl boyu dolaşımında olduğu ve sonbaharda zirve yaptıkları tespit edildi. Çalışmaya dahil edilen 80 örnekte, RV-A 33 (%41,25), RV-B 8 (%10) ve RV-C 31 (%38,75) adet bulundu. Örneklerin üçü (%3,75) EV-D68 olarak tiplendirilirken, beş (%6,25) örnek tiplendirilemedi. RV-A için 16, RV-B için 3, RV-C için 12 olmak üzere, toplam 31 farklı alt tip tespit edildi. RV-A, dört mevsimde de tespit edildi. RV-C enfeksiyonları sıklıkla sonbaharda meydana geldi ($p<0,05$). RV-B yalnızca ilkbahar ve sonbaharda tespit edildi. RV-A enfeksiyonlarının daha erken ($p<0,05$), RV-C enfeksiyonlarının ise daha geç yaşlarda görüldüğü tespit edildi ($p<0,05$). RV tiplerinin ve dağılımının, pandemi öncesi ülkemizde yapılan çalışmalarla benzerlik gösterdiği ve pandemiden etkilenmediği tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Rhinovirus, dizi analizi, moleküler epidemiyoloji

İNGİLİZCE ÖZET

Typing of Rhinoviruses Detected from Respiratory Tract Samples by Molecular Methods: A Retrospective Study

Rhinovirus (RV) is classified in the Picornaviridae family in the Enterovirus (EV) genus and consists of three species, RV-A, RV-B, and RV-C, and there are over 170 RV subtypes. This study aimed to make molecular subtyping of RVs detected in nasopharyngeal swab samples sent to Bursa Uludağ University Medical Microbiology Department PCR laboratory and to determine the seasonal distribution of types and their relationship with age and gender categories.

Viral RNA was extracted from 80 samples of patients aged 0-90 years using the PureLink™ Viral RNA/DNA Mini Kit (ThermoFisher Scientific, USA). Nucleic acid amplification was performed using the OneStep RT-PCR Kit (Qiagen, Germany) by using RV universal primers targeting conserved regions in the 5'UTR. After the amplification process, the samples were purified after agarose gel electrophoresis. One-way DNA sequencing analysis of the PCR products obtained after purification was performed using the Sanger sequencing method. The obtained sequences were analyzed using the MEGA 11 program.

In this study, RVs were found to circulate year-round and peak in the fall. In 80 samples, RV-A, RV-B, and RV-C were found in 31 (38.75%), 8 (10%), and 33 (41.25%) samples, respectively. Three samples (3.75%) were typed as EV-D68, while five (6.25%) samples could not be typed. Thirty-one subtypes were identified 16 for RV-A, 3 for RV-B, and 12 for RV-C. While RV-A was detected in all seasons, RV-C was frequent in autumn ($p<0.05$), and RV-B was detected in spring and autumn. We found that RV-A infections were seen at earlier ages ($p<0.05$), and RV-C infections were seen at later ages ($p<0.05$). It was found that RV types and distribution were similar to the studies conducted in our country before the pandemic, and types were not affected by the pandemic.

Keywords: Rhinovirus, sequence analysis, molecular epidemiology

1. GİRİŞ

Rhinoviruslar (RV), solunum yolu enfeksiyonlarının dikkat çekici bir etkeni olarak soğuk algınlığı denilen hastalığa sebep olup dünya çapında halk sağlığı üzerinde ağır bir yük oluşturmaktadır. Bu küçük, zarfsız ve pozitif polariteli RNA virüsü *Picornaviridae* familyasının *Enterovirus* (EV) cinsine aittir. Yaklaşık 7200 baz çiftinden (bç) oluşan genomları dördü yapısal, yedisi yapısal olmayan toplamda 11 proteini kodlar (Duechler ve ark., 1987; Palmenberg, Rathe, & Liggett, 2010). VP1, VP2, VP3 ve VP4 olarak adlandırılan dört yapısal protein, genomu çevreleyen ve hücre yüzey reseptörleri ile etkileşen viral kapsidi oluşturur (Palmenberg ve ark., 2010). Birçok RV-A ve RV-B alt tipi hücrel reseptör olarak Intraselüler Adezyon Molekülü-1 (ICAM-1)'i kullanır. Düşük Dansiteli Lipoprotein Reseptör (LDLR) ise RV-A türünün küçük bir kısmının kullandığı hücrel reseptördür (Kim, Jang, & Jang, 2021). *Cadherin-Related Family Member-3* (CDHR-3), RV-C için hücrel reseptördür (Bochkov ve ark., 2015).

Yüz yetmişten fazla alt tipi RV-A, RV-B ve RV-C olmak üzere üç türde sınıflandırılmaktadır (Pan ve ark., 2018; Royston, & Tapparel, 2016; Touabi, Aflatouni, & McLean, 2021). RV'ler, 1956 yılında keşfedilmiş olup moleküler tabanlı yöntemlerin gelişimiyle birlikte RV-C türü de 2006 yılında keşfedilmiştir (Lamson ve ark., 2006; Price, 1956). Yetişkinleri yılda ortalama 2-3 kez, çocukları ise 8-12 kez enfekte edebildiği bildirilen RV'ler oldukça bulaşıcıdır ve solunum damlacıkları yoluyla veya kontamine yüzeylere dokunarak bulaşabilir (Savolainen-Kopra ve ark., 2012).

Geçmişte yapılan birçok çalışma RV enfeksiyonlarının genetik çeşitliliğine ve mevsimsel dağılımına ışık tutmuş olsa da özellikle RV-A, RV-B ve RV-C enfeksiyonlarının prevalansı ve klinik önemi ile ilgili olarak literatürdeki boşluklar dikkat çekicidir. Bu moleküler epidemiyolojik çalışma, RV türlerinin mevsimsel dağılımını belirleyerek yaş ve cinsiyet kategorileri ile olan ilişkisini anlamlandırmayı ve bu hedefleri gerçekleştirirken kullanılan yöntemlerin etkinliğini vurgulamayı amaçlamıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Rhinovirusların Tarihçesi ve Sınıflandırılması

2.1.1 Keşfi

Günümüzde en sık karşımıza çıkan enfeksiyonlardan biri olan solunum yolu enfeksiyonları, nezle de denilen soğuk algınlığına yol açar. Soğuk algınlığı, antik çağlardan bu yana dikkat çeken hastalıklardan biridir. Antik çağlardan günümüze ulaşan kaynaklara yapılan atıflar sayesinde soğuk algınlığı ile ilgili yapılan çalışmalar ve gelişmeler takip edilebilmektedir.

Eskiden insanlar soğuk havanın ve rüzgârın soğuk algınlığına neden olduğuna inanırlardı. MÖ yaklaşık 1550 yılına tarihlenen Antik Mısır dönemine ait Ebers Papirüsünde soğuk algınlığı benzeri semptomlar ve hastalığa yönelik tedaviler hakkında bilgiler yer almaktadır. Bu eserde solunum yolu enfeksiyonları yani bugünkü soğuk algınlığı benzeri hastalıkların tedavisi için zencefil, bal, tarçın, soğan, sarımsak, nane, mentol gibi bitkisel maddelerin kullanımı önerilmektedir (Hallmann-Mikołajczak, 2004). Hipokrat gibi antik Yunan bilginlerinin de soğuk algınlığı ile ilgili çalışmalar yaptığı bilinmektedir. Hipokrat'ın *peripneumonia* olarak tanımladığı semptomlar açık bir şekilde bugünkü soğuk algınlığını işaret etmektedir. Antik Roma'nın en önemli hekimlerinden olan Galen, soğuk algınlığı nedeninin soğuk hava ve rüzgâr değil vücudun doğal ısısının düşmesi olduğunu savunmuştur. Soğuk algınlığına stresin, hijyen sorunlarının ve bağışıklık sistemindeki zayıflığın sebep olacağını da eserinde belirtmektedir. Her iki tıp bilgini de hastalığın bulaşıcı olduğunu belirtmiştir (Tyrrell, & Fielder, 2002).

Batıda Avicenna adıyla anılan İbn-i Sina'nın El-Kanun fi't-Tıb adlı eserinde soğuk algınlığına neden olan faktörler, semptomlar ve tedavi yöntemleri ele alınmıştır. Çalışmaları, Orta Çağ Avrupa'sında ve Rönesans döneminde büyük etki uyandırmıştır. Bugün modern tıptaki gelişmelerin temelini oluşturan çalışmalara imza atmıştır (Ramazani, Emami, Tayarani-Najaran, Sahebkar, & Tayarani-Najaran, 2021).

Soğuk algınlığı ifadesi ilk olarak 16. yüzyılda kullanılmaya başlanmıştır. Yaygın kullanımı ise 19. yüzyıl sonları ve 20. yüzyıl başlarını bulmuştur (Tyrrell, & Fielder, 2002).

1914 yılında Dr. Krause tarafından gerçekleştirilen deneyde, bir grup enfekte insanın burun salgıları bir diğer gruba verilerek soğuk algınlığının insanlar arasında nasıl yayıldığı ve bulaşıcı olduğu kanıtlanmıştır. 1930'lu yıllarda Dochez ve ekibinin şempanzeler ve insanlar üzerinde gerçekleştirdiği deneysel çalışmalar, solunum yolu enfeksiyonlarının nedenlerinin ve bunların nasıl yayıldığının anlaşılmasına yol açarak gözlemlenen bağışıklık tepkisinin aşı geliştirme sürecine ışık tutabileceği düşünülmüştür (Howley, Knipe, & Whelan, 2020).

Diğer viral etkenlere göre daha sık soğuk algınlığına yol açan RV'ler 1956 yılında keşfedilmiştir. Maymun böbrek hücreleri kullanılarak izole edilen virüs, JH olarak adlandırılmıştır (Price, 1956). Akabinde farklı bir grup tarafından yapılan çalışmalarla izole edilen RV, 2060 olarak adlandırılmıştır (Pelon, Mogabgab, Phillips, & Pierce, 1957).

2.1.2 Sınıflandırılması

Soğuk algınlığının en yaygın nedeni olan RV'ler, 1956 yılındaki keşfi sonrasında uzunca bir süre ciddi hastalığa sebep olmadığı gerekçesiyle yeterince önemsenmemiştir. Çoğu RV enfeksiyonu hafif şiddette seyretse de genel morbitide üzerindeki etkileri ve küresel ekonomik maliyetleri dikkate değerdir. Moleküler tabanlı yöntemlerin gelişimiyle birlikte RV'lerin kronik akciğer hastalığı alevlenmeleri, astım atakları, yenidoğanlarda, bebeklerde ve çocuklarda şiddetli bronşiyolit; yaşlı ve immün sistemi baskılanmış yetişkinlerde şiddetli ve ölümcül pnömonilere yol açtığına tespit edilmesiyle virüse verilen önem gün geçtikçe artmaktadır (Jacobs, Lamson, St. George, & Walsh, 2013).

Rhinovirus alt tipleri, 1967 yılında Ulusal Alerji ve Bulaşıcı Hastalıklar Enstitüsü (NIAID- '*National Institute of Allergy and Infectious Diseases*') Aşı Geliştirme Şubesi (VDB- '*Vaccine Development Branch*') ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO- '*World Health Organization*') desteğiyle gerçekleştirilen çalışma sonucunda 1'den 55'e kadar numaralandırılmıştır (Schieble, Fox, & Lennette, 1967). 1970'te çalışmanın ikinci aşaması tamamlanmış ve 34 farklı alt tip tanımlanmıştır. Bu alt tipler 56'dan 89'a kadar numaralandırılmıştır (Kapikian ve ark., 1971). RV alt tiplerinin sayısını belirlemek için yapılan programın üçüncü aşamasında 11 farklı alt tip daha

belirlenerek numaralandırma sistemi 100 alt tipi içerecek şekilde genişletilmiştir (Hamparian ve ark., 1987).

Antiviral duyarlılığa dayalı olarak gruplandırma yapan çalışmada, 15 farklı antiviral ajandan oluşan bir panel kullanılarak RV'ler antiviral grup A ve antiviral grup B olarak adlandırılmıştır (Andries ve ark., 1990).

Rhinovirusların tanımlanmış 102 alt tipi, hücresel reseptör setlerine göre majör ve minör gruplara ayrılmıştır. Alt tiplerin 91'i majör gruba, 10'u minör gruba dahil edilmiştir. RV-87 olarak adlandırılan alt tipin ise herhangi bir hücresel reseptörü kullanmadığı belirtilmiştir (Uncapher, DeWitt, & Colonno, 1991). RV-87 daha sonra yapılan filogenetik analizlere dayanan çalışmalar sonucunda Enterovirus D-68 (EV-D68) olarak adlandırılmıştır (Ishiko ve ark., 2002).

Moleküler tabanlı yöntemlerin gelişmesiyle RV tür ve alt tiplerinin tanımlanması kolaylaşmıştır. Virüsün genomunda yer alan spesifik bazı bölgeler hedef alınarak yapılan çalışmalarda Rhinoviruslar, RV-A ve RV-B olarak gruplandırılmıştır (Savolainen, Laine, Mulders, & Hovi, 2004). Çok geçmeden RV-A ve RV-B'den farklı olduğu düşünülen bir tür keşfedilmiştir (Lamson ve ark., 2006). Bu tür 2009 yılında Uluslararası Virüs Taksonomi Komitesi (International Committee on Taxonomy of Viruses: ICTV) tarafından RV-C olarak adlandırılmıştır. Günümüzde bilinen 83 adet RV-A, 32 adet RV-B ve 57 adet RV-C alt tipi bulunmaktadır ve her geçen gün alt tip sayıları artmaktadır (Pan ve ark., 2018; Royston, & Tapparel, 2016; Touabi ve ark., 2021).

2.2 Rhinovirus Virolojisi

Tek zincirli (single stranded RNA- ssRNA), zarfsız, pozitif polariteli bir RNA virüsü olan RV'ler, Baltimore sınıflandırmasına göre *Enterovirus* cinsine, *Picornaviridae* familyası içinde yer alan, RV-A, RV-B ve RV-C olarak adlandırılan üç türden oluşur (McIntyre, Knowles, & Simmonds, 2013). RV türleri için düzenlenen sınıflandırma seviyeleri Tablo 1'de gösterilmektedir.

Tablo 1: Rhinovirus sınıflandırma seviyeleri (“Current ICTV Taxonomy Release”, 2022)

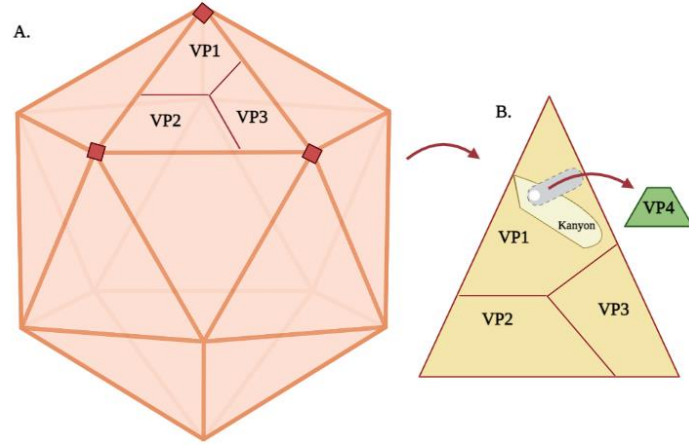
2022	Türler	Riboviria>Orthornavirae>Pisuviricota>Pisoniviricetes>Picornavirales>Picornaviridae>Ensavirinae>Enterovirus> Rhinovirus A
2022	Türler	Riboviria>Orthornavirae>Pisuviricota>Pisoniviricetes>Picornavirales>Picornaviridae>Ensavirinae>Enterovirus> Rhinovirus B
2022	Türler	Riboviria>Orthornavirae>Pisuviricota>Pisoniviricetes>Picornavirales>Picornaviridae>Ensavirinae>Enterovirus> Rhinovirus C

2.2.1 Kapsid Yapısı

Kapsid, virüsün içindeki genomu koruyan dış kabuktur. RV kapsidi, VP1, VP2, VP3 ve VP4 olarak adlandırılan dört adet yapısal proteinin her birinden altmış kopya (protomer) içermektedir. Bu proteinler, çapı yaklaşık 30 nanometre (nm) olan simetrik, ikosahedral bir yapı olarak birleşmektedir.

İkosahedral yapıyı, her biri üç yapısal proteinden (VP1, VP2, VP3) oluşan 20 adet üçgen yüzey meydana getirmektedir. Her bir üçgenin köşeleri, VP1, VP2 ve VP3 proteininin üzerinde yer alan beş adet VP4 kopyasından oluşmaktadır. VP1 proteini her bir üçgenin tepesinde yer alırken VP2 ve VP3 proteinleri üçgenin tabanında yer almaktadır. Her bir yapısal proteinin moleküler kütlesi sırasıyla 32, 29, 26 ve 7 kDa’dır. VP1, VP2 ve VP3 yapısal proteinleri yüzey proteinleridir. Genomda en yüksek değişkenliğe sahip kısımda yer alırlar. VP4 ise kapsidin iç kısmında yer alırken viral genomla yakından ilişkilidir. Beş adet VP1 proteininin şekillendirdiği 2,5 nm derinliğindeki çöküntü kapsidin simetri eksenini etrafında hidrofobik bir cep veya kanyon yapısını oluşturur (Şekil 1). Bu cep yapısının kapsidin soyulmasına yol açtığı, konak hücre yüzeyinde yer alan reseptörlere bağlanma yeri olarak görev aldığı ve antiviral bileşikler tarafından hedeflendiği düşünülmektedir (Hadfield ve ark., 1997).

Rhinovirus kapsidinin yapısı, işlevi üzerinde önemli etkilere yol açar. İkosahedral simetri sayesinde viral genom verimli bir şekilde paketlenirken yapısal proteinlerin altmışar kopyası, kapsidin stabilitesini korur ve çevresel faktörlere karşı dirençli olmasını sağlar. RV’nin konak hücrelere giriş yeteneğinde önemli rol oynayan kapsid yapısı, hücrelere bağlanmasını ve girmesini sağlayan reseptörler içerir (Valiente, López-Argüello, Rodríguez-Huete, Valbuena, & Mateu, 2022).



Şekil 1: A. RV ikosaedral yapısı ve yüzey proteinleri. B. Kapsid içine gömülü olan VP4 proteininin konumu ve kanyon yapısı (Kennedy, Turner, Braciale, Heymann, & Borish, 2012).

2.2.2. Viral Genom Organizasyonu

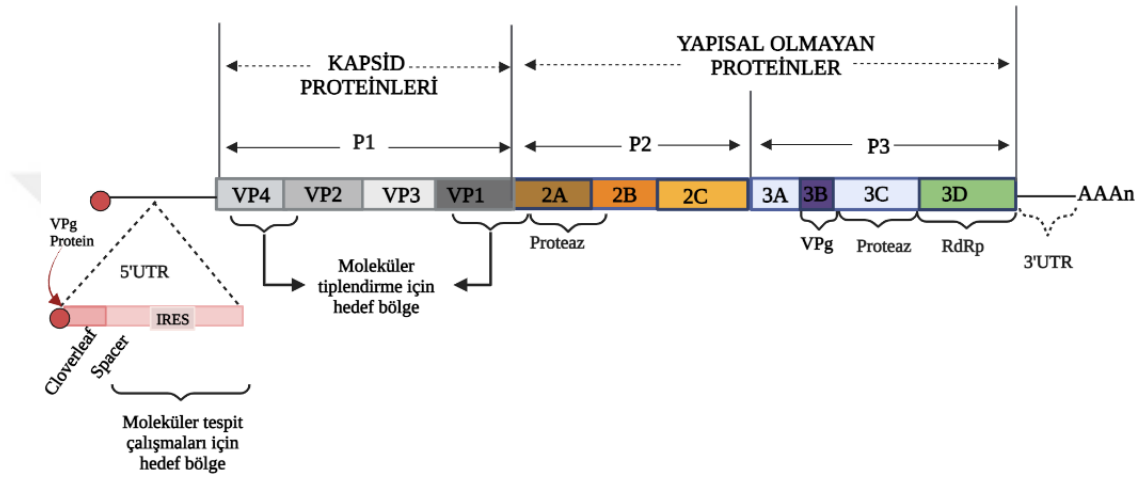
Rhinovirus genomu, yaklaşık 7,2 kb (kilobaz) (7200 baz çifti (bç)) boyutunda olan tek zincir pozitif polariteli RNA sarmalından oluşur. Oldukça kompakt ve etkin bir organizasyon gösterir (Duechler ve ark., 1987).

Tek bir genden yani açık okuma çerçevesinden (ORF) oluşan genomun birincil ürünü tek bir poliproteindir. Viral proteazların parçaladığı dördü yapısal (VP1, VP2, VP3, VP4), yedisi yapısal olmayan (2A, 2B, 2C, 3A, 3B, 3C, 3D) toplamda on bir proteini kodlar. Kapsidi, yapısal proteinler oluştururken diğer proteinler replikasyondan sorumludur (Palmenberg ve ark., 2010).

ORF, 5' ve 3' uçlarda 2 adet kodlanmamış bölge (UTR- 'Untranslated Region') ile çevrilidir. 5'UTR bölgesi ~650 bç, ORF ~6500 bç, 3' UTR bölgesi ise ~50 bç boyutundadır. 3'UTR bölgesinin sonunda poliA kuyruğu bulunmaktadır. 5'UTR bölgesi, protein ifadesi için gerekli olan ribozoma girişten sorumlu bölgeyi (IRES- 'Internal Ribozomal Entry Site') içerir. RV'ler, 5' terminal bölgesinde yer alan ve primer görevi üstlenen VPg'ye ('Viral Priming Protein') kovalent bağ ile bağlıdır (Paul, van Boom, Filippov, & Wimmer, 1998).

ORF tarafından ifade edilen poliprotein boyutu 200-300 kDa arasında değişmektedir ve yaklaşık 2200 amino asitten oluşur. ORF, virüsün dış kabuğunu oluşturan kapsid proteinlerini kodlayan kısmı içeren P1, yapısal olmayan proteinleri kodlayan P2 ve P3 olmak üzere üç bölgeden oluşur. P2 bölgesinde yer alan 2A ve 2B

konak hücrenin protein sentezini inhibe etmekte görevlidir. 2C ise viral replikasyonda görev alır. P3 bölgesi diğer yapısal olmayan proteinleri kodlar. Bunlardan 3A ve 3B, replikasyon kompleksinin oluşumunda görev alırken 3C, poliproteini parçalayan proteazdır. 3D ise viral replikasyonda görev alan RNA'ya bağımlı RNA polimeraz (RdRp) enzimidir (Şekil 2) (Hung, Gibbs, & Tsiang, 2002). Replikasyon için gerekli olan dahili bir cis-etkili elementin (cre) genomun kapsid kodlayan bölgelerinde yerleştiği bildirilmiştir (McKnight, 2003).



Şekil 2: Rhinovirus genomunun sistematik organizasyonu (Jacobs ve ark., 2013)

2.2.3 Viral Replikasyon

Rhinoviruslar, üst ve alt solunum yolunda yer alan epitel hücreleri enfekte eder. RV türleri, hücreyi enfekte ettikleri sırada kullandıkları reseptörlere göre gruplandırılırlar. RV-B alt tiplerinin tamamını ve RV-A tiplerinin birçoğunu içine alan Major Grup, ICAM-1'i kullanır (Kim ve ark., 2021). Buna ek olarak RV-A89, RV-A54 gibi bazı majör grup RV'lerin alternatif olarak ICAM-1 ifadesi olmayan hücrelerde bir polisakkarit olan heparan sülfatı (HS) kullandığı bildirilmiştir (Khan, Pichler, Rosemann, & Blaas, 2007). LDLR reseptörünü kullanan Minör Grup ise sadece RV-A tiplerinin küçük bir kısmını içerir (~12 RV-A) (Kim ve ark., 2021). RV-C tiplerinin tamamı ise CDHR-3 reseptörünü kullanır (Bochkov ve ark., 2015). Türe spesifik reseptörlerle etkileşen RV'ler konak hücreye bağlanır. Böylece replikasyonun ilk aşaması gerçekleşir.

Rhinovirusun konak hücre reseptörleri ile etkileşimi sonrası hücre içine giriş süreci başlar. Bu süreç, klatrin bağımlı endositoz, kaveola bağımlı endositoz, klatrin ve kaveola bağımsız endositoz ve makropinositoz dahil olmak üzere farklı mekanizmalarla gerçekleşir. Virüs endozomların içine girdiğinde asidik ortam viral kapsidin konformasyonunu değişikliğe uğratar. Bu değişiklikler hidrofobik subviral parçacıkların oluşmasını sağlar. Bu sayede konak hücre sitoplazmasına viral genom salınımı gerçekleşir (Fuchs, & Blaas, 2010).

Klatrin bağımlı endositoz sürecinde virüs, konak hücre zarında klatrin bağımlı çukur oluşturarak virüsü içeren endozomu oluşturmak amacıyla içe doğru tomurcuklanır. RV16 gibi bazı tipler bu mekanizmayı kullanır (Lau ve ark., 2008).

Kaveola bağımlı endositoz sürecinde virüs, konak hücre zarında yer alan kaveola adı verilen invajinasyonlar yani küçük kıvrımlar içine alınarak hücre içine girer. RV1B gibi bazı tipler bu mekanizmayı kullanır.

Klatrin ve kaveola bağımsız endositoz sürecinde virüs, konak hücre zarında küçük veziküllerin oluşumuna yol açar. Fakat veziküller klatrin ile kaplı değildir ya da kaveola proteinleri ile ilişkili değildir. Bunlar yerine virüs hücreye girmek için farklı mekanizmalar kullanır. RV14 gibi bazı tipler bu mekanizmayı kullanır.

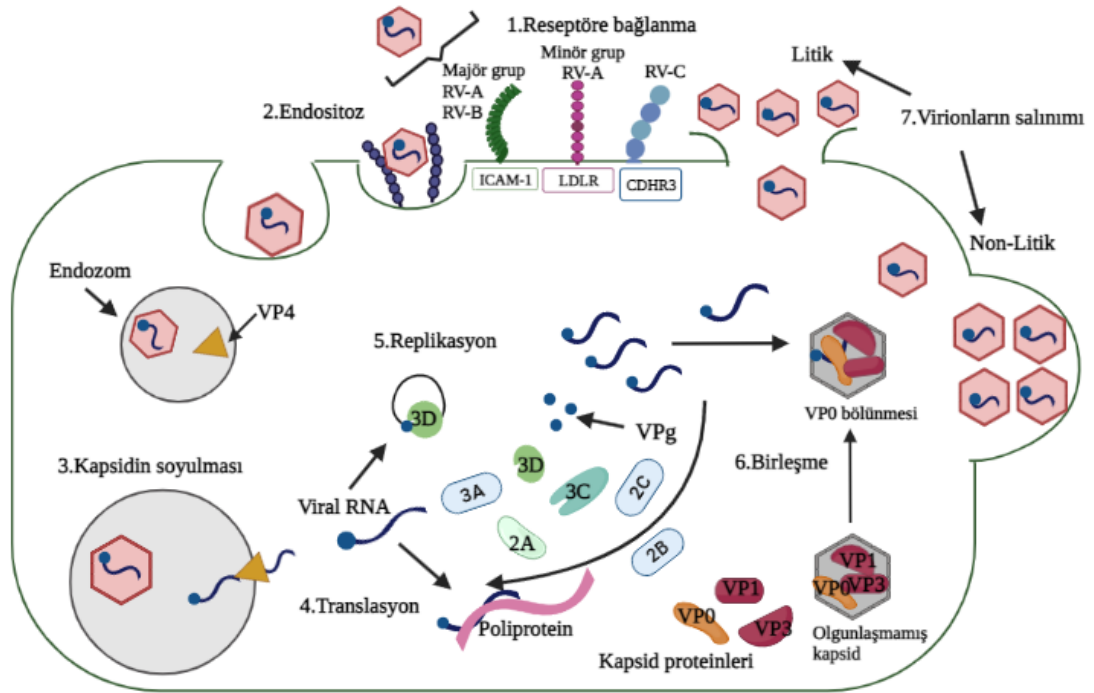
Mikropinositoz sürecinde ise konak hücre zarında büyük ve spesifik olmayan veziküller oluşur. Bu veziküller hücre dışında yer alan virüsü içine alır (Bartlett, Wark, & Knight, 2019; Blaas, 2016).

Konak hücre sitoplazmasına salınan viral RNA, viral proteinlerin ifadesi için kalıp görevi görür. Viral genom, pozitif polariteli RNA olduğundan mRNA (messenger RNA) gibi davranır ve konak hücre ribozomları tarafından direkt olarak proteine çevrilir. Çevrilen tek bir poliprotein, viral proteazlar tarafından parçalanarak 11 adet protein oluşur. Bu proteinler replikasyondan sorumlu olan RdRp'yi ve kapsid proteinlerini içerir (van der Linden, Wolthers, & van Kuppeveld, 2015).

Rhinovirus genomu, 5' cap yapısından bağımsız olarak ifade edilir. Yani hücresel RNA'lardan farklıdır. Bu sebeple virüs, konak hücrenin ribozomları ile viral genomu buluşturmak için IRES bölgesini kullanır. Primer görevli VPg'nin üridilasyonu ile replikasyon süreci başlatılır (Yang ve ark., 2002). RdRp viral RNA'ya bağlanır ve negatif polariteli RNA sentezi için kalıp olarak kullanır. Negatif polariteli RNA ise pozitif polariteli RNA genomunun çoklu kopyalarının sentezi için kalıp

olarak kullanılır. Tüm bunlar viral proteinler ve konak hücre faktörlerinin oluşturduğu sitoplazmik replikasyon kompleksinde meydana gelir (Gerber, Wimmer, & Paul, 2001).

Viral genom, çok sayıda replikasyon döngüsüne tabii tutulabilir. Yeniden negatif polariteli RNA'ya çevrilebilir ya da viral proteinlerle birlikte paketlenerek virionlar halinde birleşerek hücre dışına salınabilir (Zitzmann ve ark., 2023). Yapısal proteinler viral genomu dış etkenlere karşı korumak amacıyla kapsidi oluşturur. Yeni virionlar konak hücre zarından tomurcuklanarak hücre dışına salınır. RV replikasyon döngüsü konak hücrede ciddi hasara neden olmaz ve virionların salınımı hücre lizisi ile sonuçlanmaz. Tüm bu replikasyon sürecinin tamamlanması 8-12 saat sürer (Şekil 3) (Harris, & Gwaltney, 1996).



Şekil 3: Rhinovirus replikasyonu. Viral partikülün ilgili reseptöre bağlanması ve endositoz yoluyla konak hücreye içselleştirilmesi (1,2). Kapsidin soyulması ve viral RNA'nın sitoplazmaya salınması (3). Sitoplazmada viral RNA translasyonu ve replikasyonu ile virionların birleşmesi (4,5,6). Virionların hücre dışına salınımı (Esneau, Bartlett, & Bochkov, 2019)

2.2.4 Viral Patogenez Mekanizmaları ve Bağışıklık Sistemi Tepkileri

2.2.4.1 Patogenez

Rhinovirus enfeksiyonlarına virüs ile konak hücre arasındaki karmaşık etkileşim neden olur. Konjonktiva ya da burun tipik olarak RV'lerin vücuda ilk giriş noktalarıdır. Yapılan üst solunum yolu biyopsileri nazofarenksin yani adenoid çevresindeki alanın RV enfeksiyonunun ortaya çıktığı ilk yer olabileceğini düşündürmüştür. RV'nin nazal mukozaya nasıl girdiğini daha iyi anlamak için sağlıklı gönüllülerin gözyaşı kanalına yakın arka nazofaringeal duvara veya sağ konjonktival keseye 25µl viral inokulum uygulanan çalışmada çoğu durumda RV'nin bulunduğu ilk yerin nazofarenks olduğu daha sonra anterior alt konkalardan birine veya her ikisine ilerlediği bildirilmiştir (Winther, Gwaltney, Mygind, Turner, & Hendley, 1986). Finlandiya'da yapılan bir çalışma cerrahi olarak çıkarılan adenoidlerin çoğunlukla RV'leri içerdiğini bildirmiştir (Rihkanen, Carpén, Roivainen, Vaheri, & Pitkäranta, 2004). Nazal, faringeal ve oral sekresyonların yanı sıra öksürük ve hapşıрма damlacıklarının karşılaştırmalı titrasyonlarına göre, RV replikasyonu büyük ölçüde burunda gerçekleşir. Yine de çok sayıda çalışma, RV replikasyonunun alt solunum yollarında da gerçekleştiğini doğrulamıştır (Gern, Vrtis, Grindle, Swenson, & Busse, 2000; Jamieson, Warner, Leigh, & Proud, 2015; Mosser ve ark., 2002).

Major grup RV'ler immünoglobulin süper ailesinin bir üyesi olan ICAM-1 aracılığıyla hava yolu epitel hücrelerine bağlanırlar. In situ hibridizasyon, RV replikasyonunun nazal epitel ve nazofarenkste az sayıda hücreye lokalize olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bunun ICAM-1'in sınırlı ifadesi nedeniyle olduğu düşünülmektedir (Winther ve ark., 1997). ICAM-1, sağlıklı çocukların ve yetişkinlerin adenoid ve nazofaringeal dokularında az sayıda tekli siliyer olmayan lenfoepitelyal hücrede ve silialı epitelin bazal tabakasında saptanır; buna ek olarak ICAM-1 normalde skuamöz epitel hücrelerinde ve siliyer epitelin lümen yüzeyinde ifade edilmez. Bununla birlikte, normal primer insan bronşiyal epitel hücrelerinde (HBEC'ler) RV, çözünür ICAM-1'in salınımını aşağı doğru düzenlerken, NF-κβ'ya bağlı bir mekanizma aracılığıyla zara bağlı ICAM-1 ifadesini yukarı doğru düzenler (Papi, & Johnston, 1999; Whiteman, Bianco, Knight, & Spiteri, 2003). İn vivo olarak yapılan deneysel bir çalışma sağlıklı gönüllülerin RV-39 ile enfekte edilmesi sonrasında burun epitel hücrelerinde ICAM-

1'in ifadesinin arttığını bildirmiştir (Winther ve ark., 2002). RV ile enfekte kişilerin burun salgılarında glandüler proteinler (laktoferrin, lizozim, salgılayıcı IgA ve 7F10 immünoreaktif müsin) ve plazma proteinleri (albümin ve immüoglobulin G (IgG)) artış göstermiştir (Igarashi ve ark, 1993; Yuta ve ark., 1998). Nazal epitel hücrelerinin in vitro farklılaştırılarak RV (RV16 alt tipi ile enfeksiyon) enfeksiyonunun ilk bağışıklık tepkilerinin modellendiği çalışmada, RV'nin siliyer hücrelerini hedef aldığı, enfeksiyon sonrası gerçekleşen ilk klinik olayın tip I ve tip III interferon (IFN) aktivitesindeki artış olduğu ve IFN'lerin aktivite artışını Toll benzeri reseptör 7 (TLR7) ve Retinoik asitle indüklenebilir gen I (RIG-I) olarak adlandırılan iki spesifik moleküler sensörün hücre içindeki sinyal olaylarını başlattığı bildirilmiştir (Tan ve ark., 2018). Üst solunum yollarına giren RV'lerin ilk olarak mukozal bariyerle temas ettiği ve bariyerin patojeni bertaraf etmek için proteinlerden oluşan bir tabakayla kaplandığı anlaşılr. RV'lerin epitel hücrelerde replikasyonu sonrası hücrelerde bazı sitopatolojik semptomlar görülür. Bu durum nötrofiller, makrofajlar, eozinofiller ve T hücreleri gibi bağışıklık hücrelerini enfeksiyon bölgesine çeken IL-1 β , TNF, IL-8, IL-6 ve IL-11 dahil proinflamatuvar sitokinlerin ve MCP-1, CXCL9, CXCL10, CXCL11 ve RANTES gibi kemokinlerin salınmasıyla sonuçlanır. Bağışıklık hücreleri virüsü, fagositoz ve antiviral sitokinlerin üretimi yoluyla bertaraf etmeye çalışır. Bununla birlikte doku hasarı ve iltihaplanmalar meydana gelebilir veya bireyde önceden var olan solunum yolu hastalıklarının şiddetlenmesine yol açabilir (Kirchberger, Majdic, & Stockl, 2007; Winther, 2011). Bu reaksiyonlar vücudun virüsle savaşmasına yardımcı olurken, virüs kaynaklı iltihaplanma da kişinin kendini hasta hissetmesine neden olabilmektedir.

Rhinovirusların B lenfositlerine girebildiğini ve çoğalmalarını indüklediği sonucuna ulaşan çalışmada, in vitro kültürlenmiş insan periferik kan mononükleer hücreleri, HeLa hücrelerinde çoğaltılan RV 16, 14, 1B ve 29 alt tiplerine maruz bırakılmıştır. B lenfositleri olarak bilinen beyaz kan hücreleri edinilmiş bağışıklık yanıtında rol oynar. Bu durum RV'nin bireyin bağışıklık sisteminden kaçabileceği bir mekanizma ihtimalini düşündürmektedir. RV'nin B lenfositleri ile olan etkileşiminin anlaşılması astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) gibi solunum yolu hastalıklarının anlaşılmasına katkıda bulunur (Aab ve ark., 2017).

Periferik kan mononükleer hücrelerinin RV ile enfekte edilerek gerçekleştirilen başka bir çalışmada doğal öldürücü (NK- *Natural Killer*) hücrelerin yüzey reseptörü GARP aracılığıyla transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF- β) sunma yeteneği üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bulgular, RV enfeksiyonunun, NK hücrelerinin, viral enfeksiyonlar sırasında solunum yolundaki bağışıklık tepkileri için etkileri olabilecek GARP yoluyla TGF- β sunma yeteneğini baskılayabildiğini göstermiştir (Krammer ve ark., 2022).

Rhinoviruslar, bağışıklık hücreleri ve epitelyal hücreler üzerinde doğrudan etkileri olmalarının yanı sıra alerji ve astım semptomlarının gelişimi ile ilişkili Th2 tipi bir yanıtı teşvik ederek konağın doğal ve edinilmiş bağışıklık tepkilerini düzenlemektedir (Pritchard ve ark., 2012). Bu durumun astım vb. solunum yolu hastalıklarına sahip bireylerde RV enfeksiyonlarının yüksek insidansında rol oynadığı ve terapötiklerin geliştirilmesi noktasında potansiyel hedef olabileceği düşünülmektedir (Bryant, & Muehling, 2022).

IL-33'ün tip 2 inflamatuvar yanıtı indüklediğini varsayarak RV'nin astımın patogenezindeki rolünü fare modeli kullanarak açıklayan çalışma, astımı olan bireylerin solunum yollarında IL-33 ve tip 2 sitokinlerin (IL-4, IL-5 ve IL-13) RV tarafından indüklendiğini ve bu proteinlerin ifade seviyelerinin astımın şiddeti ile ilişkili olduğunu bildirmiştir. Ayrıca insan bronşiyal epitel hücrelerinde gerçekleştirilen *in vitro* RV enfeksiyonunun IL-33 üretimini önemli ölçüde indüklediğini keşfetmişlerdir. İnsan bronşiyal epitel hücrelerinden elde ettikleri üst sıvının T hücreleri ve doğal lenfoid hücreler tarafından tip 2 sitokin üretimini indüklediğini ve bu durumun IL-33 reseptörünü inhibe ettiği sonucuna varmışlardır. Bu sonuçlar, IL-33'ün RV kaynaklı astım alevlenmelerinde önemli bir aracı olduğunu ve sitokin hedeflemenin bu durum için potansiyel terapötik stratejilere katkıda bulunacağını düşündürür (Jackson ve ark., 2014).

Araştırmacıların, RV16'ya maruz kalmadan önce ve sonra hem sağlıklı gönüllülerde hem de KOAH'lı olan hastalarda çeşitli değişkenleri değerlendirdiği çalışmaya her iki grup için 13'er gönüllü dahil edilmiştir. Nazal lavaj, balgam ve bronkoalveoler lavajdaki (BAL) viral yükün yanı sıra klinik verileri (semptomlar gibi), kan, balgam ve BAL'daki inflamatuvar mediatörleri değerlendirilmiştir. KOAH grubunda gönüllülerin viral enfeksiyonu takiben sağlıklı gruba göre daha ciddi alt

solunum yolu semptomları, hava akımı obstrüksiyonu ve inflamasyon (hem sistemik hem de hava yollarında) yaşadığı kaydedilmiştir. Ayrıca KOAH grubunda viral yükün daha fazla olduğu, BAL hücrelerinin IFN üretiminin bozulduğu bildirilmiştir. Bu durum KOAH'lı bireylerin RV enfeksiyonlarına daha yatkın olabileceğini ve başarılı bir bağışıklık sistemi tepkisi oluşturma kapasitelerinin zayıflamış olabileceğini düşündürür (Mallia ve ark., 2011).

Başta RV'ler olmak üzere solunum yollarını enfekte eden virüsler KOAH alevlenmeleriyle ilişkili olsa da virüslerin tetikleyici rollerine ilişkin tartışmalar devam etmektedir. Deneysel enfeksiyonlar üzerine yapılan çalışmalar, viral kaynaklı alevlenmelerin ardındaki mekanizmalara ilişkin bilgi birikimini büyük ölçüde ilerletmiş ve virüs enfeksiyonu ile KOAH alevlenmeleri arasındaki ilişkiyi destekleyen önemli yeni veriler eklemiştir (Cafferkey, Coultas, & Mallia, 2020).

Rhinovirusların alt solunum yolları enfeksiyonlarına yol açtığına dair kanıtlar her geçen gün artmaktadır. RV replikasyonunun daha düşük sıcaklıklarda en iyi olduğunu ve daha yüksek sıcaklıklarda azaldığını öne süren çalışmalar olsa da RV enfeksiyonlarını astım alevlenmelerine bağlayan klinik çalışmalar, araştırmacıları RV'lerin sıcaklık hassasiyetini yeniden incelemeye sevk etmiştir. RV 1b, 2, 7, 9, 14, 16, 41 ve 70 alt tipleri, Ohio-HeLa hücreleri kullanılarak 33°C ve 37°C'de kültürlendiğinde sekiz farklı RV alt tipinin replikasyon yetenekleri arasında yalnızca küçük farklılıklar olduğu ve aynı zamanda tüm RV alt tiplerinin 37°C'de yüksek virüs titreleri sergilediği bildirilmiştir (Papadopoulos, Sanderson, Hunter, & Johnston, 1999).

Rhinovirus enfeksiyonunun patogenezi bulgular ışığında kapsamlı bir şekilde araştırılmaktadır. Bu araştırmalar, RV'nin bağışıklık sistemini nasıl etkilediğinin yanı sıra enfekte hücrelerin nasıl tepki verdiğini netleştirmeye yardımcı olacaktır. Son araştırmalar, semptomları tedavi etmek ve önlemek için yeni terapötiklerin geliştirilmesini teşvik etmektedir. Bu araştırmaların sonuçları diğer solunum yolu hastalıklarının anlaşılması ve yönetimi için de etkili olabilir.

2.2.4.2 Başışık Yanıt

Rhinovirus enfeksiyonuna karşı oluşturulan başışıklık tepkisinde doğal ve edinilmiş başışıklık mekanizmaları görev alır.

Bir RV enfeksiyonuna karşı ilk savunma hattı doğal başışıklık sistemidir. Toll benzeri reseptörler (TLR'ler), RIG-I benzeri reseptörler (RLR'ler) ve nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alanı (NOD) benzeri reseptörler (NLR'ler) gibi patojen tanıma reseptörleri (PRR'ler), konak hücrenin RV'yi tanımasını sağlar (Royston, & Tapparel, 2016). Akciğer epitel hücrelerinin doğal başışıklık tepkisinin RV6 alt tipini spesifik olarak nasıl tanıdığını araştıran çalışmada Toll benzeri reseptörlerin (TLR'ler), enfeksiyonun erken evrelerinde RV6'nın tanınmasındanmli rol oynadığı keşfedilmiştir. Bununla birlikte farklı TLR'ler, çeşitli RV6 bileşenleri tanıyabilir ve virüs replike olduğunda ve çift sarmallı RNA ürettiğinde, tip I interferon (IFN) inflamatuvar yanıtına MDA-5 olarak bilinen farklı bir reseptör aracılık eder. RV6 kapsid, TLR2 tarafından tanınırken, viral genom, hücreye tek sarmallı RNA olarak girdiğinde TLR7 ve TLR8 tarafından tanınır. Tip I IFN yanıtı, virüs çift sarmallı RNA rettiğinde MDA-5 tarafından sağlanır. RV'nin neden olduğu soğuk algınlığı, farklı TLR'ler ve MDA-5'in aktivasyonu ve bunların aşırı ifadesi ile tetiklenen güçlü bir inflamatuvar yanıt ile karakterize edilir (Triantafیلou ve ark., 2011).

Major grup RV'ler konak hücre yüzeyindeki ICAM-1 reseptörüne bağlanarak hücreyi enfekte eder; bu CXCL10 dahil kemokinler olmak üzere başışıklık tepkisi ile ilgili moleküllerin oluşmasına neden olan bir dizi sinyali harekete geçirir (Korpi-Steiner ve ark., 2010). Viral genom konak hücre sitoplazmasına salındıktan sonra hücrenin TLR'leri, retinoik asitle indkленebilir gen-I-benzeri reseptörleri (RLR'ler) ve PRR'leri tarafından tanınır. Virüsün genomunda bulunan paternler olan "Patojenle ilişkili moleküler paternler" (PAMP'ler) bu reseptörler tarafından tanınır. Bu, hücrenin antiviral savunmasını etkinleştiren sinyal yollarını harekete geçirir. TLR'ler, endozom adı verilen hücresel bölmelerde bulunan bir PRR sınıfıdır. TLR-3, 7 ve 8, RV'lerin tanınmasındanmli bir rol oynar ve tek ve çift sarmallı RNA (dsRNA) dahil olmak üzere çeşitli viral RNA tiplerini saptama yeteneğine sahiptir (Hatchwell ve ark., 2015; Saito, T., & Gale, 2008). Viral replikasyonncesinde bile hücrenin yüzey proteini TLR-2, viral kapsidin üzerindeki spesifik molekülleri tanıyabilir. Viral RNA'yı tespit edebilen başka bir PRR sınıfı RLR'lerdir. RIG-I, MDA-5 ve LGP-2 bunlardan

birkaçıdır. Ek olarak, bu reseptörler, bağışıklık sisteminin virüse karşı savunmasını etkinleştirmede rol oynar (Slater, 2010).

Edinilmiş bağışıklık sistemi, patojenin yüzeyindeki belirli antijenleri tanıyan T hücreleri ve B hücreleri gibi bağışıklık hücreleri tarafından, patojeni hedefleyen antikorların ve diğer bağışıklık moleküllerinin oluşturulmasını kapsar. Edinilmiş bağışık yanıtının özgüllüğü ve hafızası, gelecekte yeniden ortaya çıkması durumunda bir hastalığı daha hızlı tanımlayıp tepki vermesini sağlar. RV enfeksiyonları ile edinilmiş bağışık yanıt arasındaki ilişkiyi araştıran çok sayıda çalışma vardır. T hücreleri, sitotoksik ve antikor aracılı bağışıklık tepkilerini başlatan viral antijenleri tanımlayarak antiviral bağışıklığı destekler. Bronşiyal epitel hücrelerinde RV enfeksiyonuna karşı bağışıklık tepkisinin araştırıldığı çalışmada, enfekte hücrelerin yanıt olarak yüksek miktarlarda IP-10 (İnterferon gama kaynaklı protein 10), RANTES ve IL-6 ve daha az miktarlarda IL-8 ve TNF- salgıladıkları doğrulanmıştır (Wark ve ark., 2007). RV enfeksiyonunu takiben miktarları artan IFN- γ ve TNF- α sitokinlerine tepki olarak bronşiyal epitel hücreleri, monositler, lenfositler, nötrofiller ve NK (*Natural Killer*) hücreler, bir kemokin olan IP-10'u üretir. Sağlıklı bireylerden alınan hafıza CD4⁺ T hücrelerinin korunmuş RV kapsid protein epitoplarını tanıdığını bildiren çalışma, bu hücrelerin RV enfeksiyonuna karşı bağışık yanıtta oynadığı kritik rolü göstermiştir. CD4⁺ T hücrelerinin deneysel bir RV enfeksiyonuna hızlı tepki verme yeteneği, bunların gerçek bir enfeksiyona karşı ilk bağışıklık tepkisi için çok önemli olma olasılığını artırır (Muehling ve ark., 2016). Bağışıklık hücrelerinin RV enfeksiyonuna karşı ne ölçüde savunabileceğini keşfetmek ve aşı geliştirme süreçlerinde en verimli hedefleri belirlemek için daha fazla çalışma gereklidir.

2.2.5 RV İnkübasyonu ve Bulaş

Rhinovirus inkübasyon süresi tipik olarak 1-4 gün arasından değişir ve genel olarak 2-3 günlük bir süreyi kapsar. RV'nin tükürük veya mukus gibi solunum salgıları yoluyla bulaşma olasılığının en yüksek olduğu zaman viral saçılmanın zirve yaptığı zamanlardır. Bu tipik olarak enfeksiyondan 2-4 gün sonra ortaya çıkar ve 7-10 gün veya üç haftaya kadar da devam edebilir (Allan, & Arroll, 2014). Astım, alerji gibi atopik durumları olan bireyler yetersiz viral temizliğe sahip olabilir yani diğer insanlardan daha uzun süre enfekte olabilirler (Gern, Vrtis, Grindle, Swenson, &

Busse, 2000). Bu süre akut astım alevlenmelerinde altı haftayı dahi bulabilir (Kling ve ark., 2005).

Rhinoviruslar enfekte birey öksürdüğünde, hapşırdığında, konuştuğunda veya nefes aldığı anda, baskın bulaş yolu olan solunum damlacıkları ve mikro damlacıklar yoluyla yayılır. Bununla birlikte, enfeksiyonun yayılması, enfekte olmayan biri kapı kolları, tezgahlar ve oyuncaklar gibi kontamine yüzeylere veya nesnelere dokunduktan sonra ağzına, burnuna veya gözlerine dokunduğunda da gerçekleşebilir (Savolainen-Kopra ve ark., 2012). Yüzeyleri kontamine eden RV'lerin, kontaminasyondan 18 saat sonra bile bireylerin olağan günlük aktiviteleri sırasında bulaşa sebep olabileceği bilinmektedir (Winther, McCue, Ashe, Rubino, & Hendley, 2007).

2.3 RV Moleküler Epidemiyolojisi ve Enfeksiyonlarının Kliniği

2.3.1 Mevsimsel Dağılım Modları ve Küresel Yayılım

Dünyada çapında görülen tüm solunum yolu enfeksiyonlarının %30 ila %70'i RV kaynaklıdır. “Soğuk algınlığı virüsü” olarak da adlandırılan RV'ler, yılın farklı mevsimlerinde zirve yaptığı bir dolaşım modeline sahiptir (Price, 1956; Price, Graham, & Ramalingam, 2019). RV enfeksiyonlarının insidansı, spesifik olarak Eylül'den Kasım'a kadar sonbaharın başlarında ve yine Mart'tan Mayıs'a kadar ilkbaharda olmak üzere mevsimsel olarak yıl boyunca iki kez zirve yapar. Soğuk algınlığı semptomlarının %80'e varan oranı bu yüksek insidans dönemlerinde bilinen bir RV enfeksiyonu ile ilişkili olabilir (Turner, 2007). RV'lerin küresel yayılımı spesifik bir coğrafi bölge veya herhangi bir ülke ve toplulukla sınırlı değildir. İtalya, Hollanda gibi Avrupa ülkelerinde (Giardina, ve ark., 2022; van der Linden ve ark., 2016); Çin, Tayland gibi Asya ülkelerinde (Fry ve ark., 2011; Lu ve ark., 2014); Mali, Güney Afrika, Zambiya gibi Afrika ülkelerinde (Baillie ve ark., 2019) ve Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde (Chow ve ark., 2022; Jacobs ve ark., 2015) yapılan RV epidemiyoloji çalışmaları bunu kanıtlar niteliktedir. RV'ler dünya çapında farklı bölgelerde, farklı mevsimlerde ve sıklıkta görülür. Coğrafi bölgelerin ve dolayısıyla iklim koşullarının farklılığı ve nem sıcaklık, hava durumu gibi mevsimsel değişkenler bu durumu açıklar (Moriyama, Hugentobler, & Iwasaki, 2020).

Rhinovirusların genetik çeşitliliğini ve evrimini ortaya koymak, enfeksiyonlarının türler arası klinik özelliklerini belirlemek amacıyla epidemiyolojik açıdan çok sayıda moleküler çalışma yapılmıştır ve halen yapılmaktadır. 2013-2014 yılları arası Japonya’da bir çocuk hastanesinde yapılan, tüm solunum yolu virüslerinin insidansına yönelik çalışmada RV’ler, diğer ajanlar arasında en sık tespit edilendir. Dizi analizi sonuçlarına göre; RV-C’nin çoğunlukla kışın, RV-A’nın yıl boyu, RV-B’nin ise az sayıda tespitinden dolayı mevsimselliğinin belirlenemediği bildirilmiştir (Morikawa ve ark., 2015). Daha uzun bir zaman dilimini kapsayan benzer çalışma Şanghay’da 2012-2020 yılları arasında RV’lerin her yıl, yıl boyu dolaşımında olduğunu, RV-A’nın baskın tür olduğunu ve en sık sonbaharda ardından yaz, kış ve ilkbaharda tespit edildiğini bildirmiştir (Jiang, 2022). RV’lerin yıl boyu dolaştığını bildiren farklı bir çalışma Amsterdam’da 2007-2012 yıllarını kapsamaktadır. Baskın tür olan RV-A’yı RV-C’nin takip ettiği ve son olarak RV-B’nin az da olsa dolaşımında olduğu tespit edilmiştir. En sık tespit edilen RV alt tipleri RV-C2’nin ve RV-A78’in her yıl benzer bir şekilde sonbahar-kış aylarında dolaştığı bildirilmiştir. Bunlar dışında RV-A12, RV-A101, RV-B104, RV-C16 ve RV-C43 alt tiplerinin diğerlerine göre daha yüksek sıklıkta tespit edildiği gösterilmiştir (van der Linden ve ark., 2016). RV’lerin, solunum yolu etkeni olan viral ajanlarla yapılan uzun süreli çalışmalarda en sık tespit edilen virüs olduğu açıktır. Tanzanya’da sekiz aylık zaman dilimini kapsayan epidemiyoloji çalışmasında pek çok çalışmaya benzer olarak RV-A baskın türdür. Bunu RV-C ve RV-B sırasıyla izlemiştir. Baskın alt türler tespit edilmekle birlikte çok sayıda alt türün dolaşımını kaydedilmiştir. Haziran-Ağustos ayları arası sıklığı zirve yapan RV’lerin bölgedeki uzun süren yağışlı mevsimin sonunda ve kurak mevsimin başlangıcında dolaşımında olduğu görülmektedir (L’Huillier ve ark., 2015).

Arjantin’de iki yıl boyunca izlenmiş olan RV dolaşımının her iki yılının tamamında gerçekleştiği ve bahar aylarının başlangıcında zirve yaptığı bildirilmiştir. Bununla birlikte RV-A ve RV-C türlerinin her iki yılın tamamında tespit edildiği ve RV-A’nın baskın tür olduğu belirlenmiştir (Marccone, Culasso, Carballal, Campos, & Echavarría, 2014). Ilıman iklim bölgelerinden bildirilen sonuçlara benzer olan diğer çalışma da Güney Brezilya’da yapılmıştır. RV’lerin 2012’de çoğunlukla Mayıs-Ağustos ayları arası dolaştığını ve Ağustos’ta zirve yaptığını, 2013’te ise Mayıs ayında zirve yaptığını ve çoğunlukla Mart-Mayıs ayları arasında dolaştığını bildirmiştir

(Leotte ve ark., 2017). Yine Brezilya’da yapılan bir çalışmada RV’lerin kurak mevsimin sonunda, Kasım-Aralık ayları arasında zirve yaptığı kaydedilmiştir (Lopes ve ark., 2020). Her iki çalışmanın bulguları kurak ve yağışlı dönemlerindeki küçük farklılıklara rağmen benzerdir. RV’lerin dolaşımının benzer iklim özelliklerine sahip bu bölgelerde kurak mevsimlerde olduğu söylenebilir.

RV-A’nın baskın tür olarak kaydedildiği yukarıda bahsedilen çalışmaların aksine RV-C’nin baskın tür olduğunu tespit eden çalışmalar da bulunmaktadır. Bunlardan biri hastanede yatan 14 yaşın altındaki çocukların dahil edildiği Guangzhou, Çin’de gerçekleştirilendir. Bir yıldan uzun bir süre boyunca toplanan örneklerin hiçbirinde RV-B tespit edilmemiştir (Li ve ark., 2021). Üç yıllık verileri içeren ve RV-C’nin baskın tür olarak belirlendiği bir diğer çalışma da Çin’de yapılmıştır. RV-C’nin Kasım ve Nisan, RV-A’nın Eylül ve Şubat aylarında daha sık görüldüğü; RV dolaşımının sıklıkla sonbaharda gerçekleştiği, onu takip eden ilkbahar ve yazın sıklığının oldukça yakın olduğu ve kış mevsimindeki dolaşım sıklığının diğer mevsimlere oranla düşük olduğu bildirilerek çalışmanın subtropikal bölgede gerçekleştirildiğine dikkat çekilmiştir (Zheng ve ark., 2018).

Rhinovirusların özellikle ilkbahar ve sonbahar mevsimlerinde sıklaşan enfeksiyon insidansları ile ilişkili olduğuna dair çok sayıda çalışma vardır. Fakat RV virülansı kış aylarında daha fazladır (Civljak ve ark., 2019; Lee ve ark., 2012).

Yoğun bakım ünitesinde yatan yetişkin hastalardan üç yıl süreyle alınan örneklerden tespit edilen RV’lerin yarısının yaz ayında, kalanların çoğunun kış ayında dolaşıma girdiğini ve bunu yaz ayının takip ettiğini bildiren Hong Kong’daki çalışma, Ekim ve Kasım aylarında yani sonbaharda hiçbir RV pozitifliği kaydetmemiştir (To ve ark., 2016). Hong Kong’daki, örneklerinin çoğunun yatan çocuk hastalara ait olduğu diğer bir çalışma ise RV’lerin dolaşımının çoğunlukla sonbahar ve onu takip eden kış aylarında olduğunu bildirmiştir (Lau ve ark., 2009). Çalışmaların sonuçları birbirleriyle çelişmektedir. İlk çalışma örneklerini bir yıl boyunca (2004-2005), ikinci çalışma ise üç yıl boyunca (2011-2013) toplamıştır. Olası sebepler; çoğunlukla farklı hasta gruplarıyla ve farklı süreler boyunca toplanan, farklı sayıda hasta gruplarıyla çalışmaları olabilir.

Rhinovirusların mevsimsel dağılımını etkileyen çok sayıda parametre vardır. Bunlar; sıcaklık ve nemdeki farklılıklar, havaların soğumasıyla birlikte kapalı

alanlardaki kalabalık artışı ve yakın temas, kuru hava ve bağışıklık sistemindeki zayıflıklar sebebiyle kış aylarında solunum yollarındaki duyarlılık artışı olarak sıralanabilir (Moriyama ve ark., 2020).

2.3.2. RV Kliniği

Soğuk algınlığı ve ilişkili semptomlar gösteren bireylerden izole edilen RV'ler, 60 yılı aşkın bir süredir tanınmaktadır (Price, 1956). RV'ler, uzun yıllar hafif şiddette hastalıklara sebep olduğu gerekçesiyle göz ardı edilseler de moleküler tabanlı yöntemlerin gelişimini takiben, şimdilik son RV türü, RV-C'nin keşfi ve orta veya ağır şiddette seyreden solunum yolu hastalıklarıyla ilişkilendirildikçe ilgi odağı olmuştur.

Rhinovirus enfeksiyonlarının klinik seyri, etkilenen bireyin yaşına, enfeksiyon bölgesine ve bağışıklık durumuna göre değişkenlik gösterebilir. RV'lerin ana rezervuarının çocuklar olduğu düşünülmektedir. Yetişkinler yılda 2-3 kez enfekte olurken çocuklarda bu sayı 8-12 arasında değişmektedir (Royston, & Tapparel, 2016).

Temelde bir grup üst ve alt solunum yolu enfeksiyonu için genel bir tanım olan RV enfeksiyonunda, öksürük, boğaz ağrısı, hapşırma, halsizlik, ateş, baş ağrısı, burun akıntısı, iştahsızlık gibi semptomlar tipiktir (DeGeorge, Ring, & Dalrymple, 2019). Çoğunlukla üst solunum yollarında krup, orta kulak iltihabı gibi hastalıklara sebep olduğu bilinse de alt solunum yollarını yadsınamayacak derecede etkilediği ve kronik akciğer hastalıklarını alevlendirdiği bilinmektedir (Peltola ve ark., 2008).

Rhinovirus türlerinin sebep olduğu klinik durumlara dair kesin olmamakla birlikte çok sayıda çalışma ve görüş vardır. Özellikle çocuklar ve bebekler üzerinde yapılan çalışmalar dikkat çekicidir. Bir yıl boyunca takip edilen bebeklerin dahil edildiği çalışmada RV-A ve RV-C türlerinin bebeklerde daha şiddetli solunum yolu hastalığına sebep olduğu bildirilmiştir (Lee ve ark., 2012). Sahra Altı Afrika'sında, 1-59 ay arasında şiddetli/çok şiddetli pnömoni tanısıyla hastaneye yatan çocukların dahil edildiği çalışma, RV-A'nın küçük çocuklarda yaygın olduğunu, RV-C'yle kıyaslandığında daha şiddetli hastalık tablosuyla ilişkili olduğunu, RV-C'nin ise daha büyük çocuklarda hışıltı tanısıyla yaygın olduğunu bildirmiştir (Baillie ve ark., 2019). Ürdün'de akut solunum yolu enfeksiyonu (ASYE) veya ateşle yatan 5 yaşın altındaki çocukların dahil edildiği çalışma RV-C'yi hışıltıyla ve şiddetli hastalık tablosuyla ilişkilendirmiştir (Miller ve ark., 2009). Vietnam'da yetimhanede yaşayan 6 aydan

küçük, şiddetli ASYE olan bebeklerin dahil edildiği çalışmada RV'lerin ölüme sebebiyet verecek şiddetli pnömoniye yol açtığı bildirilmiştir (Hai ve ark., 2012). RV-C'nin sebep olduğu enfeksiyonun çocuklar arasında daha yaygın fakat yetişkinlerde şiddetli hastalık tablosuyla ilişkili olduğunu ileri süren çalışmalar da vardır (Lau ve ark., 2009).

2007-2010 yılları arasında 11 Avrupa ülkesinin dahil olduğu ASYE olan yetişkinler ve asemptomatik kontrol grubu üzerinde yürütülen çalışmada, RV-B ve RV-C ile karşılaştırıldığında, RV-A ile ilişkili ASYE'nin yetişkinlerde çok daha yaygın olduğunu, ancak RV-B enfeksiyonlarının daha sıklıkla asemptomatik olduğunu bildirmişlerdir (Zlateva ve ark., 2020).

Rhinovirus türleri ile viral yük arasında ilişki kurulabilir. Yatan çocuk hastalarda yapılan bir çalışma RV-C viral yükünün RV-A'dan daha yüksek olduğunu bildirmiş ve aynı zamanda RV-C ile enfekte olan hastaların semptomlarının daha şiddetli olduğunu kaydetmiştir (Li ve ark., 2021).

Astım alevlenmeleriyle ilişkilendirilen RV'lerin, en sık tespit edilen viral ajan olduğunu bildiren çok sayıda çalışma vardır. 2-16 yaş arasında acil servise başvuran, çoğunluğunun orta veya şiddetli astıma sahip olduğu çocukların dahil edildiği çalışmada, viral ajanlar arasında en sık (%87,5) RV'ler saptanmıştır. RV-C'nin astım alevlenmeleriyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Bizzintino ve ark., 2011). RV-C'nin astım alevlenmelerinde en sık rastlanan viral ajan olduğunu bildiren diğer bir çalışmada ise RV-A yüksek viral yükü, astım alevlenmeleriyle ilişkilendirilirken RV-C viral yükü ve hastalık şiddeti arasında bir korelasyon olmadığı bildirilmiştir (Zheng ve ark., 2018). Almanya'da çocukların dahil edildiği yakın tarihli bir çalışma, RV-A'yı yüksek ateş ve daha sık pnömoni tanısıyla ilişkilendirmiştir. En yüksek ko-enfeksiyon oranının RV-A ile enfekte çocuklarda görüldüğü bildirilmiştir. RV-C'nin astımı olan çocuklar arasında daha sık görüldüğü, normal vücut sıcaklığıyla karakterize olduğu ve broşiyolit ile ilişkilendirildiği bildirilmiştir (Neugebauer, Bergs, Liebert, & Hönemann, 2022). 6 yaşından küçük çocukların dahil edildiği çalışma, RV'lerin en sık tespit edilen ve ko-enfeksiyonun en sık olduğu solunum yolu patojeni olduğunu bildirmiştir. Ko-enfeksiyonda (%8,5) en sık görülen tanıların bronşiolit (%55) ve pnömoni (%13) olduğu kaydedilmiştir. ASYE'ye neden olan RV'lerin hastane yatışlarının nedenselliğini açıkladığı görülmüştür. RV-A ve RV-C için klinik

verilerin benzer olduğu, RV-B'nin az sıklıkta tespit edildiği bildirilmiştir (Marccone ve ark., 2014).

Yetişkinlerde ve çocuklarda kronik akciğer hastalıklarını alevlendirdiği saptanan RV'ler, astım ve KOAH ile kistik fibroz (KF) tanısı konan bireylerde dikkat çeker.

Akciğer hava yollarının sigara içmek gibi faktörler sebebiyle kronik olarak daralması ve tahribatı KOAH olarak adlandırılır. KOAH'lı bireyler solunum yolu enfeksiyonlarına karşı daha yüksek duyarlılığa sahiptir (Edwards, Ritchie, & Johnston, 2019). Deneysel RV enfeksiyonlarının KOAH alevlenmelerini tetiklediğini bildiren çalışmalar vardır (Mallia ve ark., 2011). Londra'da gerçekteştirilen, ilk kez doğal olarak oluşan KOAH alevlenmelerindeki RV prevalansını inceleyen çalışma stabil durumdaki hastalara göre anlamlı derecede yüksek olduğunu ve RV enfeksiyonu ile ikincil bakteriyel enfeksiyon arasında ilişki olduğunu bildirmişlerdir (George ve ark., 2014). RV ile ikincil bakteriyel enfeksiyon arasındaki ilişkiyi inceleyen, orta-şiddetli KOAH'lı hastalarda yapılan çalışma RV'lere eşlik eden en sık rastlanan etkenin *Haemophilus influenzae* olduğunu bildirmiştir (Wilkinson ve ark., 2006).

Kistik fibroz kalıtsal bir hastalıktır ve mukus, ter gibi vücut sıvılarının yapısını etkiler. Bu sıvılar sağlıklı bireylerde kaygandır fakat KF'li hastalarda kalınlaşır ve tıkanıklıklara sebep olur (Ratjen, & Döring, 2003). En sık akciğerleri etkileyen bu durum tekrar eden solunum yolu hastalıklarına yol açar (Edwards ve ark., 2019). KF'li çocuklardan alınan burun sürüntüleri ve balgam örnekleriyle yapılan çalışmada, viral ajanlar solunum alevlenmeleriyle ilişkilendirilmiştir. En sık saptanan Influenza A ve B'yi RV'lerin takip ettiği bildirilmiştir (Wat ve ark., 2008). Avustralya'da KF'li çocukların üst ve alt solunum yolu örnekleri (nazal sürüntü, orofaringeal süksiyon, balgam ve bronkoalveoler yıkamalar) RV için test edilmiştir. Çocukların yarısından çoğunu enfekte eden viral ajanın RV olduğu bildirilmiştir. RV'nin, solunum alevlenmesi yaşayan 5 yaşın altındaki çocukların %43'ünde, daha büyük çocukların %12'sinde tespit edildiği bildirilmiştir (Stelzer-Braid ve ark., 2017). Brezilya'da KF'li çocuklarda yapılan çalışmada solunum yolu örneklerinde en sık tespit edilen viral ajanın RV olduğu, RV-C'nin solunum alevlenmeleriyle ilişkilendirildiği bildirilmiştir (de Almeida ve ark., 2010). Fransa'da KF'li erişkin hastalarda yapılan çalışmada, en

sık tespit edilen solunum yolu viral ajanı olan RV'ler solunum alevlenmeleriyle ilişkilendirilmiştir (Goffard ve ark., 2014).

Yaşlı bireyler ve *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) ile enfekte veya kemoterapi görenler gibi bağışıklığı baskılanmış olanlar RV'lerin etkilediği gruplar arasındadır (Jacobs ve ark., 2013). Belirgin klinik semptomlar olmaksızın solunum güçlüğü yaşayan yaşlı hastalardan alınan örneklerden en sık saptanan solunum yolu viral ajanı RV'lerdir (Pierangeli ve ark., 2011). Yaşlı hastalarda tespit edilen RV'ler yüksek morbitide ve mortalite oranlarıyla da ilişkilendirilmiştir (Hung ve ark., 2017). RV enfeksiyonu bağışıklığı baskılanmış hastalarda sağlıklı bireylere oranla daha şiddetli seyredebilir ve hatta yaşamı tehdit edebilir (Cohen ve ark., 2015). Antiretroviral tedavi gören 51 yaşındaki HIV'li hastayı bildiren olgu sunumunda saf RV pnömonisi tanısı konulduğu bildirilmiştir (Haranaga, Kinjo, Tateyama, & Fujita, 2014). Akut solunum yetmezliği sebebiyle yoğun bakıma alınan, çoğunluğunun antiretroviral tedavi gördüğü yetişkin HIV'li hastaların dahil edildiği çalışmada, solunum yolu viral patojenleri arasında en sık RV tespit edilmiştir. RV prevalansının CD4 lenfosit sayısı 200 hücre/ μ l'nin altında olan hastalarda en yüksek olduğu bildirilmiştir (Elabbadi ve ark., 2020). RV'ler, Hematolojik Malignitesi (HM) olan hastalarda ASYE ile ilişkilendirilmiştir. Türlerden en sık rastlanan RV-A'yı RV-C'nin takip ettiği ve tipik olarak RV-B'nin en az sıklıkta tespit edildiği bildirilmiştir. RV-A1, RV-A44 ve RV-B42 alt türlerinin en sık dolaşımda olanlar olduğunu vurgulamışlardır. 30 günlük takip süresince mortalite oranının %25, solunum yolu ile ilişkili mortalite oranının %16 olduğu kaydedilmiştir. Solunum yolu ilişkili mortalitenin, RV kaynaklı ASYE'si olanlarda daha sık olduğu gözlenmiştir (Jacobs ve ark., 2015).

Rhinovirus enfeksiyonlarının çoğu halka açık alanlardan bulaşır. Ancak son zamanlarda sağlık personelinin ve hastaları etkileyen hastane kaynaklı salgınlar da bildirilmiştir (Vandini, Biagi, Fischer, & Lanari, 2019).

2.4 RV Tespiti ve Karakterizasyonu İçin Laboratuvar Yöntemleri

2.4.1 Örnek Toplama ve İşleme Yöntemleri

Laboratuvar yöntemlerinin ilk adımı olan örnek toplama ve işleme, RV'lerin doğru bir şekilde tespit edilmesinde önemli rol oynar. Güvenilir verilerin elde edilmesi için uygun örneklerin seçimi ve bu örneklerin usulüne uygun şekilde alınması ve işlenmesi kritiktir. Semptomların başlamasını takiben uygun olan en kısa zamanda örnekler alınarak laboratuvara ulaştırılmalıdır. RV'ler, semptomların başlamasından birkaç gün önce ve semptomlar başladıktan sonraki 6 gün boyunca tespit edilebilse de viral yük enfeksiyon sonrasındaki ilk 2 gün boyunca en yüksek seviyededir (Jorgensen & Pfaller, 2015). Orofaringeal ve nazofaringeal sürüntüler, nazal aspiratlar üst solunum yollarındaki virüsü tespit etmek için alınan örneklerdir. Alt solunum yolları için ise BAL, balgam, trakeal aspirat gibi örnekler alınır. Alınan örneklerdeki viral ajanın aktivitesini koruyabilmek için örnekler, steril bir viral taşıma ortamına (VTM) yerleştirilir. VTM'ler, bakteri, mantar gibi mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyen antimikrobiyal ajanlar ve tamponlar içerir. Herhangi başka bir yere nakli söz konusu olduğunda örnekler, -70 °C'de dondurularak dışarıyla ısı alışverişi minimum olan ve kuru buz içeren köpük kutularla taşınmalıdır (Jacobs ve ark., 2013).

2.4.2 Kültür Tabanlı Virolojik Yöntemler

Viral kültür, enfeksiyöz viral ajanları çoğaltmak ve izole etmek için kullanılan yöntemlerden biridir. RV'lerin kültürde çoğalmasını sağlamak için spesifik koşullar ve kültür ortamı gereklidir. Ortam, kültürü yapılan hücrelerin büyümesine ve virüslerin çoğalmasına imkân verecek gerekli besin ve faktörleri içerir. Viral ajanı içerdiği düşünülen örnek, ilgili kültürdeki hücreler ile muamele edilerek enfeksiyon gerçekleştirilir.

Rhinovirusun ilk izolasyonları 1950'lerin sonlarında iki farklı laboratuvar grubu tarafından bildirilmiştir. RV'lerin hücreye giriş yerlerinden biri olan burnun sıcaklık ve pH koşullarıyla eşleşen kültür sistemleri geliştirmişlerdir. İlk çalışma izolasyonu maymun böbrek hücrelerini kullanarak gerçekleştirmiştir (Pelton ve ark., 1957; Price, 1956). Soğuk algınlığına dair yapılan ilk çalışmalarda virüsün 33°C'de

daha iyi çoğaldığı belirlenmesine rağmen ilerleyen yıllarda bazı durumlarda 37°C’de daha iyi ya da aynı etkinlikte çoğaldığı tespit edilmiştir (Behbahanı, & Lee, 1964; Foxman ve ark., 2015). Kültürde oluşturulan ilk insan hücre hattı HeLa (Henrietta Lacks), 1951’de rahim ağzı kanserinden ölen bir hastanın tümör hücrelerinden elde edilmiştir (Landry ve ark., 2013). Bugün hala çok sayıda moleküler çalışma için kullanılan HeLa hücre hatları, RV’lerin virolojik özelliklerine yönelik çalışmalarda kullanılmaktadır. HeLa hücrelerine benzer şekilde modifiye edilmiş farklı hücre hatları da vardır. Tüm bu hücrelerin kaynağı solunum yolu epitel hücreleridir (Amineva, Aminev, Gern, & Palmenberg, 2011). RV’lerin asidik ortamlarda stabil olmadıkları bilinmektedir (Jorgensen ve ark., 2015). Kültür ortamı bu durum dikkate alınarak nötr pH değerinde sabitlenir. İnsan doku kültürlerinde daha iyi çoğaldığı bilinen RV’ler, embriyonik akciğer fibroblast hücre hatlarından da izole edilebilir (Arruda, Crump, Rollins, Ohlin, & Hayden, 1996).

Rhinovirusların izolasyonu sabır ve çaba gerektir. RV-C, moleküler yöntemler aracılığıyla keşfedilmiştir ve sonrasında kültürlenmeleri zaman almıştır (Lee ve ark., 2007). Sinüs mukozasının organ kültürü kullanılarak ilk kez çoğaltılmıştır (Bochkov ve ark., 2011).

2.4.3 Moleküler Tabanlı Yöntemler

Moleküler tabanlı yöntemlerin gelişimini takiben RV’lerin virolojik ve epidemiyolojik özelliklerine dair çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların verileri RV’lerin basit bir soğuk algınlığı etkeni olmadığını doğrulamıştır.

Moleküler tabanlı yöntemlerin gelişimi, 1953’te çift sarmal DNA’nın keşfiyle başlamıştır (Watson, & Crick, 1953). Ardından keşfedilen DNA polimeraz, DNA replikasyonunun nasıl gerçekleştiğinin anlaşılmasını sağlamıştır. Bu keşifler, 1977’de Sanger dideoksi döngü dizileme, 1980’lerde de Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR ‘*Polimerase Chain Reaction*’) olarak bilinen tekniklerin geliştirilmesine zemin hazırlamıştır. Reverse Transkriptaz PCR (RT-PCR) ve *real-time* PCR (r-PCR) tekniklerinin tanıtılmasıyla viral genomun (RNA) eş zamanlı cDNA’ya (*complementer* DNA) çevrimi ve amplifikasyonuna olanak sağlanmıştır (Heid, Stevens, Livak, & Williams, 1996). PCR tekniğinin RV’lerin analizi için kullanımı 1980’lerin sonunu bulmuştur (Torgersen, Skern, & Blaas, 1989). İnsan genomuyla

çapraz reaksiyon göstermesi nedeniyle bu çalışmaların verilerinin dizi analiziyle doğrulanması gerekmektedir. Yapılan ilk çalışmalar, virüsün evrimsel açıdan yüksek oranda korunmuş 5' UTR bölgesini hedefleyerek tiplendirme yapmıştır. Ancak bu bölge EV'ler arasında da korunmuş olduğundan birbirlerinden ayırt etmeyi zorlaştırmıştır (Hyypiä ve ark., 1998). Bu sorunu çözmek için çeşitli yaklaşımlar geliştirilmiştir. Amplikonların, Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP), prob hibridizasyon, jel elektroforezi gibi bir dizi zaman alıcı ve maliyetli işleme tabii tutulması gerekmiştir. İlerleyen yıllarda RV/EV ayrımını yapan stratejiler geliştirilmiştir (Guan ve ark., 2016; Lu ve ark., 2008). Tüm RV'ler ACTV tarafından EV cinsi altında sınıflandırıldığından beri laboratuvar sonuçlarının RV veya EV olarak bildirilmesine izin verilmiştir (Jacobs ve ark., 2013).

Rhinoviruslar da dahil olmak üzere çok sayıda solunum yolu viral ajanının tiplerini eş zamanlı olarak tespit edebilen multipleks PCR stratejileri de geliştirilmiştir (Mahony ve ark., 2007; Mahony, Petrich, & Smieja, 2011).

Rhinoviruslar, geliştirilen stratejiler sayesinde RV-A, RV-B ve RV-C olmak üzere üç türde sınıflandırılmışlardır (Lamson ve ark., 2006). Dizileme, yalnızca yeni türlerin veya alt tiplerin keşfedilmesi için bir araç değildir. Aynı zamanda RV enfeksiyonlarının zaman içindeki filogenetik benzerliğinin incelenmesine ve epidemiyolojik verilerin elde edilmesine de olanak sağlar. Tiplendirme çalışmaları, 5'UTR bölgesinin hedeflenmesinin yanı sıra evrimsel olarak korunmuş bir diğer bölge olan VP4-VP2 gen bölgesinin hedeflenmesiyle gerçekleştirilen PCR'nin ardından dizileme yapılmasını da içerir (Adam ve ark., 2021). Tipler ve alt tipler arasındaki evrimsel ilişkiyi açıklığa kavuşturmak için RV genomunda VP1, kısmi olarak 2A bölgesi ve 3D polimeraz bölgeleri de hedeflenmiştir (Laine, Savolainen, Blomqvist, & Hovi, 2005; Savolainen ve ark., 2004). RV enfeksiyonunun hızlı tespitini gerçekleştirmeye yönelik olarak yapılan çalışmalardan biri, RT-qPCR yöntemine göre çok daha hızlı olan yüksek analitik duyarlılık (%96) ve özgüllüğe (%100) sahip Ters Transkripsiyon İpliği İnvazyon Tabanlı Amplifikasyon (RT-SIBA) adı verilen yeni bir izotermal nükleik asit amplifikasyon yöntemi geliştirdiklerini bildirmişlerdir (Kainulainen ve ark., 2019).

RV'lerin filogenetik ve genomik özellikleri hakkında bilinenler ile ilgili olarak Tüm Genom Dizileme (WGS- 'Whole Genome Sequencing') önemli bir rol

oynamıştır. Alt tiplerin sınıflandırılmasında etkili olan WGS, araştırmacıların farklı alt tipler arasındaki evrimsel ilişkileri anlamlandırmalarını sağlamıştır (Palmenberg ve ark., 2009).

2.4.4 Serolojik Tabanlı Yöntemler

Günümüze kadar 170'ten fazla alt tipi tanımlanan RV'ler, yüksek oranda genetik çeşitlilik gösterdiğinden ortak bir antijene sahip değildirler. Bu nedenle virüs tespitine yönelik rutin testlerde antijen tespiti yapılamaz (Kainulainen ve ark., 2019). Ancak virolojik çalışmalarda, terapötik yaklaşımların geliştirilmesine veya tasarlanan aşılarda etkinliğinin değerlendirilmesine yönelik olarak yapılan çalışmalarda serolojik tabanlı yöntemlere başvurulur. Hasta antikorunun bulaşıcılığı nötralize etme ve hücreleri enfeksiyondan koruma etkinliğini yani antikorların koruyuculuğunu değerlendiren nötralizasyon testleri altın standarttır (Peaper, & Landry, 2014). RV14 ve RV16 alt tiplerinin kullanıldığı çalışmalardan birinde RV türleri arasında yüksek oranda korunmuş olan VP4 bölgesini hedefleyen anti-VP4 antikorlarının çapraz serotipik aktivite gösterdiği yani çok sayıda alt türe etki eden bir nötralizasyon gerçekleştirdiği gösterilmiştir (Katpally, Fu, Freed, Casimiro, & Smith, 2009). Yakın tarihli farklı bir çalışma, RV89 alt tipinin (RV-A) rekombinant olarak üretilen kapsid proteinlerinde (VP1-VP2) nötralize edici antikorları indüklemeye yeteneğine sahip spesifik epitopları tanımlamıştır. Tanımlanan bu epitopların farklı alt tipler arasında korunduğunu bildirmiştir (Niespodziana ve ark., 2022).

2.5 RV Enfeksiyonlarına Yönelik Tedavi ve Kontrol Stratejileri

En sık karşılaşılan RV enfeksiyonu olan soğuk algınlığı semptomları çoğunlukla hafif seyreder. Bu sebeple tedavi, semptomlara yönelik rahatlatıcı; sinüzit, orta kulak iltihabı, kronik akciğer hastalıklarının alevlenmesi gibi komplikasyonları ve bireyler arasındaki bulaşı önlemeye yönelik yaklaşımları içerir. Temel olarak enfekte bireylere dinlenmeleri, sinüslerdeki mukusların temizlenmesi için bol sıvı tüketmeleri önerilir (Turner, 2001).

Viral enfeksiyonların tedavisine yönelik 13 farklı fonksiyonel gruba ayrılmış 90'dan fazla antiviral ajan bulunmaktadır. Ancak RV'leri hedefleyen onaylanmış bir aşı veya ilaç yoktur (De Clercq, & Li, 2016). RV'leri hedefleyen spesifik antivirallerin geliştirilmesi için çalışmalar halen devam etmektedir. Kapsid bağlayıcı bir anti-RV ajanı olan vapendavirin, in vitro virüs replikasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Tijssma ve ark., 2014). IFN- β 'nın inhalasyon yoluyla uygulandığı çalışma, vücudun akciğerlerdeki ve potansiyel olarak vücudun her yerindeki doğal bağışıklık tepkilerini artırabileceğini öne süren kanıtlar sunmuştur (Djukanović ve ark., 2014). IFN- λ , in vitro, ex vivo, hayvan modelleri kullanılarak yapılan deneyler ve devam eden klinik çalışmalardan elde edilen verilere göre çok sayıda solunum yolu viral ajanına karşı terapötik bir yaklaşıma olanak sağlar (Martínez-Espinoza, & Guerrero-Plata, 2023). Bir guanozin nükleoziti olan ribavirin, kapsid soyulmasını bloke eden pleconaril, pirodavin, bir proteaz inhibitörü olan rupintrivir gibi antiviral bileşiklerin RV'lere etki ettiği, en etkili bileşiklerin ise kapsid bağlayıcı bileşikler olduğu bildirilmiştir (Casanova, Sousa, Stevens, & Barlow, 2018).

Rhinoviruslara yönelik, çok sayıda koruyucu aşı geliştirme çalışmaları yapılmıştır. Ancak yüksek oranda antijenik çeşitliliğe sahip olması, replikasyonlarını viral kültürlerde indüklemenin zorluğu, tasarlanmış uygun hayvan modellerinin olmayışı gibi sebeplerden dolayı henüz başarılı olunamamıştır (McLean, 2014). Nötralize edici antikörleri indükleyen epitoplara anlamak etkili aşılarda geliştirilmesine yönelik umut vermektedir. Aşılar korunmuş epitoplara hedefleyerek potansiyel olarak bir dizi RV alt tipine karşı koruma sağlayabilir. Bu yaklaşım, çok sayıda alt tip tarafından korunmuş epitopların keşfini gerektirir (McLean, 2020).

Rhinovirusların bulaşını önlemek için bireysel olarak uygulanması gereken birçok parametre vardır. Aslında bunlar temelde tüm solunum yolu enfeksiyonuna sebep olan ajanlardan korunmak için uygulanabilir. Hasta bireylerle olan mesafenin korunarak temastan kaçınmak, kapı kolları, yürüyen merdiven bantları gibi çok sayıda kişinin temas ettiği yüzeylere dokunduktan sonra elleri sabun ve suyla yıkamak veya antiseptik kullanarak temizlemek, temizlenmemiş ellerle burun, ağız, göz vb. virüsün giriş yerlerine dokunmamak, kalabalık ortamlarda örneğin toplu taşımalarda cerrahi maske kullanmak, öksürürken, hapşırırken bir mendil kullanmak veya dirsekle ağzı kapatmak gibi parametreler hayata entegre edilip uygulanırsa enfeksiyon büyük oranda önlenmiş olur (“Rhinoviruses: Common Colds | CDC”, 2023).

2.6 COVID-19 Pandemisinde RV’nin Önemi ve Etkisi

Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) olarak adlandırılan hastalığa sebep olan, 30 Aralık 2019 Wuhan Jinyintan Hastanesi’nde üç hastanın BAL sıvısından izole edilen Şiddetli Akut Solunum Yolu Sendromu Koronavirüs 2 (SARS-CoV-2), tüm dünyayı etkisi altına alarak bugün hala içinde bulunduğumuz pandemiye sebebiyet vermiştir (Zhu ve ark., 2020). Önemli küresel morbidite ve mortaliteye neden olan salgın, ülkelerin enfeksiyonun yayılmasını kontrol altına almak için farmasötik olmayan sosyal mesafe kuralları, sokağa çıkma yasakları, maske kullanımına zorunluluk getirmek gibi müdahalelerde bulunmasına yol açmıştır. COVID-19 pandemisi, dünya çapında solunum yolu enfeksiyonlarına sebep olan viral ajanların dolaşımındaki dikkat çeken değişikliklerle ilişkilendirilmiştir. Farmasötik olmayan müdahalelerin solunum yolu enfeksiyonlarına sebep olan ajanların dolaşımını ve dolayısıyla bulaşı azaltmak için tasarlandığı düşünüldüğünde şaşırtıcı değildir. Ancak solunum yoluna etki eden ajanların prevalansındaki değişikliklere çok sayıda faktörün etki ettiği de açıktır (Chow, Uyeki, & Chu, 2023).

Solunum yolu viral ajanlarından biri olan influenza vakalarındaki düşüşler farklı yarımkürelerde ve bölgelerde dikkat çekmiştir (Olsen ve ark., 2020). COVID-19 kontrol önlemleri boyunca vaka sayılarındaki düşüşün dikkat çektiği bir diğer solunum yolu ajanı Respiratuar sinsityal virüs (RSV) olmuştur (Tempia ve ark., 2021). Bununla birlikte RV’ler ve solunum EV’lerinin dolaşımının pandeminin ilk

zamanlarında azaldığı fakat alınan önlemlere rağmen devam ettiği bildirilmiştir (Agca ve ark., 2021; Olsen ve ark., 2021). Çalışmalar RV'lerin SARS-CoV-2 ile dolaşımda olan ana virüs olduğunu kaydetmişlerdir (Varela ve ark., 2022). Farmasötik olmayan önlemlerin yanı sıra virüs-virüs etkileşimlerinin solunum yolu viral ajanlarının dolaşımını etkilediği düşünülmektedir. RV'lerin COVID-19 pandemisindeki dolaşımına dikkat çeken çalışmalardan biri SARS-CoV-2 reseptörü ACE2'nin aktivitesinde gözlemledikleri akış aşağı regülasyonu RV'lerin oluşturduğu IFN aracılı doğal bağışıklık yanıtıyla ilişkilendirmişlerdir (Dee ve ark., 2021).



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1 Gereç

3.1.1 Kullanılan Cihazlar

-80 °C Derin Dondurucu (SANYO, Japonya)
+4 °C Buzdolabı (Arçelik, Türkiye)
-20 °C Derin Dondurucu (Arçelik, Türkiye)
Biyogüvenlik Kabini (BİLSER, Türkiye)
Vorteks Cihazı (Labinco, Hollanda)
Kısa santrifüj (spin) Cihazı (Biosan, Almanya)
Otomatik mikropipetler (10 µl, 100 µl, 1000 µl) (Eppendorf, Almanya)
Mikrosantrifüj Cihazı (HERMLE LABNET Z 233 MK-2, Almanya)
Benmari (GFL 1092, Almanya)
Thermal Cycler (QIAGEN, Almanya)
Hassas Terazi (SHIMADZU, Japonya)
Mikrodalga Fırın (Arçelik, Türkiye)
Elektroforetik Jel Sistemi (E-C Apparatus Corporation, ABD)
Güç Kaynağı MP-250 V (Cleaver Scientific, İngiltere)
UV Transilluminator (WEALTEC, ABD)

3.1.2 Kullanılan Kitler ve Sarf Malzemeler

Steril filtreli pipet uçları (10 µl, 100 µl, 1000 µl) (Sehagen, Türkiye)
Mikrosantrifüj tüpleri (2ml) (ISOLAB, Türkiye)
PCR Tüpleri (0,2 ml) (Gunster Biotech, Tayvan)
PureLink™ Viral RNA/DNA Mini Kit (ThermoFisher Scientific, ABD)
OneStep RT-PCR Kit (QIAGEN, Almanya)
Expin™ Gel SV Mini Kit (GeneAll, Güney Kore)
Primerler (MetaBion, Almanya)
Agaroz (Prona Agarose, Biomax, AB)
5x Loading Buffer (GeneAll-GENESTA, Güney Kore)

100 bç DNA Ladder (GeneAll-GENESTA, Güney Kore)

10X TBE Buffer (ATB, Türkiye)

3.1.3 Biyoinformatik ve İstatistiksel Analizler için Kullanılan Programlar

MEGA X 11 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis Software v11), IBM SPSS Statistics v22 (Inc, Chicago, IL, USA).

3.2 Yöntem

3.2.1 Solunum Yolu Örneklerinin Toplanması ve Solunum Virüsü Tespiti

Bu çalışmada, Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı PCR laboratuvarına gönderilen nazofaringeal sürüntü örnekleri Multipleks PCR (Ağustos 2022'ye kadar QIASTAT kitleri (QIAGEN, Almanya), sonrasında BioFire kitleri (BioMérieux, Fransa) kullanıldı) ile solunum yolu virüsleri için tarandı. RV pozitifliği saptanan örnekler -80°C'de saklandı. Restrospektif olarak saklanan 0-74 yaş arası olan örneklerden 22.10.2021-13.12.2022 tarihleri arasında RV pozitifliği saptanan 80 adet nazofaringeal sürüntü örneği seçilerek çalışmaya dahil edildi.

Bu çalışma, 23 Şubat 2022 tarihinde 2022-4/15 karar numarası ile Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylandı.

3.2.2 Viral Nükleik Asit (RNA) Ekstraksiyonu

Ekstraksiyon protokolü PureLink™ Viral RNA/DNA Mini Kit (ABD) kullanılarak gerçekleştirildi.

- Protokole başlarken örneklerdeki kriyopresipitatları uzaklaştırmak için -80°C'de saklanmış her bir nazofaringeal sürüntü örneği 20 sn vortekslendi.
- Steril mikrosantrifüj tüplerine 25 µl Proteinaz K eklendi.
- Proteinaz K eklenen her bir mikrosantrifüj tüpüne hücresiz numune olan nazofaringeal sürüntü örneklerinden 200 µl ilave edildi.

- Protokole başlamadan önce Taşıyıcı (*Carrier*) RNA (5,6 µg) stok solüsyonu hazırlandı. 1 µg/1 µl stok solüsyonu elde etmek için kit ile verilen 310 µg liyofilize *Carrier* RNA'ya 310 µl RNase-free su (kit içeriğinde olan) eklendi. İyiçe vortekslendikten sonra çözelti alikotlanarak mikrosantrifüj tüpleri içerisinde -20°C'de saklandı.
- Aşağıda verilen formül kullanılarak Lysis Buffer (L22) ile önceden hazırlanan *Carrier* RNA stok solüsyonu istenen sayıda örneği aynı anda işlemek için hazırlandı.

N = Örnek Sayısı

A = Lysis Buffer (L22) Hesaplanan Hacmi

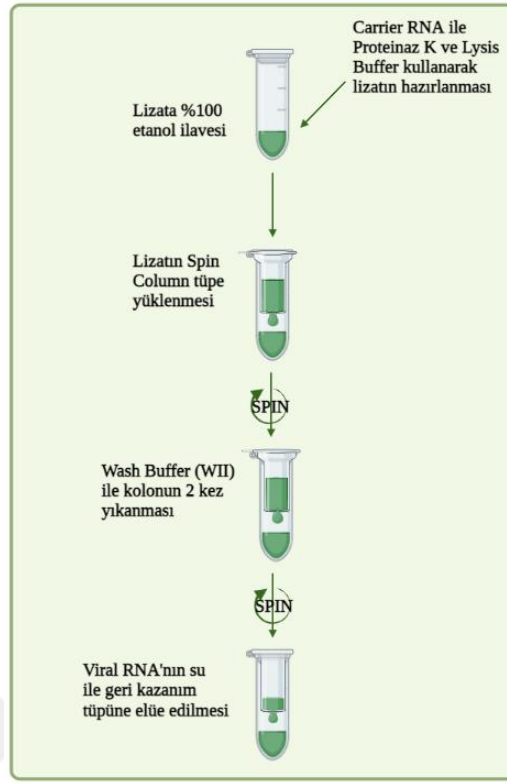
B = Lysis Buffer eklemek için hesaplanan 1 µg/1 µl *Carrier* RNA stok solüsyonu

$$N \times 0,21 = A \text{ ml}$$

$$A \times 28\mu\text{l} = B \mu\text{l}$$

- Bu protokolde 1 µg/1 µl *Carrier* RNA 6 örneğin aynı anda işlenmesini sağlayacak şekilde alikotlanarak saklandı. Bunun sebebi 1 µg/1 µl *Carrier* RNA stok solüsyonunun tekrar tekrar dondurulup çözmeden kullanılmak istenmesidir.
- 6 örnek için; 35,28 µl 1 µg/1 µl *Carrier* RNA stok solüsyonuna 1260 µl Lysis Buffer ilave edilmiştir.
- 1 µg/1 µl *Carrier* RNA stok solüsyonu ilave edilerek hazırlanan Lysis Buffer her bir mikrosantrifüj tüpüne 200 µl ilave edildi. Tüplerin kapakları kapatılarak 15 saniye vortekslenerek karıştırıldı. Vorteks sonrası tüplere kısa santrifüj (spin) uygulandı.
- Örnekler benmaride 56 °C'de 15 dk inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrası örnekler kısa süre santrifüje tabii tutuldu.
- Her bir örneğe 250 µl %100 etanol ilave edildi. Tüplerin kapakları kapatılarak 15 saniye vortekslenerek karıştırıldı.
- Lizatlar oda sıcaklığında 5 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonrası vortekslenerek karıştırıldı ve ardından kısa süre santrifüj uygulandı.
- Her bir lizat kit içeriğinde olan Viral Spin Column toplama tüpüne aktarıldı (~675µl).

- Spin Column tüpler mikrosantrifüj cihazına yerleştirilerek 10000 rpm’de 1 dk santrifüj edildi.
- Santrifüj sonunda her bir toplama tüpü atılarak yıkama tüpüyle değiştirildi.
- Her bir Spin Column, etanol ilave edilmiş (60 ml %100 etanol+15 ml Wash Buffer (WII)) 500 µl Wash Buffer (WII) ile yıkandı.
- Yıkama sonrası Spin Column tüpler mikrosantrifüj cihazına yerleştirilerek 10000 rpm’de 1 dk santrifüj edildi.
- Santrifüj sonunda her bir yıkama tüpü atılarak yeni yıkama tüpüyle değiştirildi.
- Her bir Spin Column, etanol ilave edilmiş (60 ml %100 etanol+15 ml Wash Buffer (WII)) 500 µl Wash Buffer (WII) ile yıkandı.
- Yıkama sonrası Spin Column tüpler mikrosantrifüj cihazına yerleştirilerek 10000 rpm’de 1 dk santrifüj edildi.
- Santrifüj sonunda her bir yıkama tüpü atılarak yeni toplama tüpüyle değiştirildi.
- Kalan Wash Buffer (WII)’ı uzaklaştırmak için Spin Column tüpler mikrosantrifüj cihazına yerleştirilerek 14000 rpm’de 1 dk santrifüj edildi.
- Santrifüj sonunda Spin Column tüpler temiz bir geri kazanım tüpüne yerleştirildi.
- Her bir Spin Column tüpünün ortasına kit içeriğinde olan RNase- free sudan 20 µl ilave edilerek elue edildi.
- 1 dk oda sıcaklığında inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrası nükleik asitleri saflaştırmak için 14000 rpm’de 1 dk santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrasında geri kazanım tüplerinde saflaştırılmış nükleik asit bulunmaktadır. Bu sebeple Spin Column tüpler atıldı.
- Saflaştırılmış viral RNA bir sonraki aşamaya kadar -80 °C’de saklandı.



Şekil 4: Nükleik asit ekstraksiyonunun şematik özeti

3.2.3 Amplifikasyon Protokolü

QIAGEN OneStep RT-PCR Kit (Almanya) kullanıldı. PCR protokolü, her bir reaksiyon tüpünde (0,2 ml) 10 µl RT-PCR 5x Buffer, 2 µl dNTP (10 mM), 1 µl Forward Primer (0,04 µmol), 1 µl Reverse Primer (0,04 µmol), 2 µl RT-PCR Enzyme Mix, 29 µl nükleaz içermeyen su ve 5 µl saflaştırılmış viral nükleik asit (kalıp RNA), toplamda 50 µl reaksiyon hacmi olacak şekilde tasarlandı (Tablo 3). Kit sayesinde ters transkripsiyon ve PCR aynı tüpte sırayla gerçekleşti (Şekil 5). Amplifikasyon reaksiyonu başlatılmadan önce termal döngüleyici cihazının sıcaklığı 30 dk 50 °C'ye ayarlandı ve ısıtıldı. Cihaz 50°C'ye ulaştıktan sonra reaksiyon tüpleri cihaza yerleştirildi. İlk PCR aktivasyon adımı 15 dk 95 °C olarak belirlendi. Bu aşamada Enzyme Mix içeriğinde yer alan HotStarTaq DNA Polimeraz etkinleştirildi. 3 adımlı döngü; 1 dk 94 °C denatürasyon, 1 dk 52 °C bağlanma, 1 dk 72 °C uzama şeklinde 40 kez tekrarlandı. Son uzama aşaması 10 dk 72°C olarak belirlendi (Tablo 4). Kullanılan primerler Tablo 2'de gösterilmektedir.

Tablo 2: 5'UTR'de korunmuş bölgeleri hedefleyen RV evrensel primerleri (Kiang ve ark., 2008)

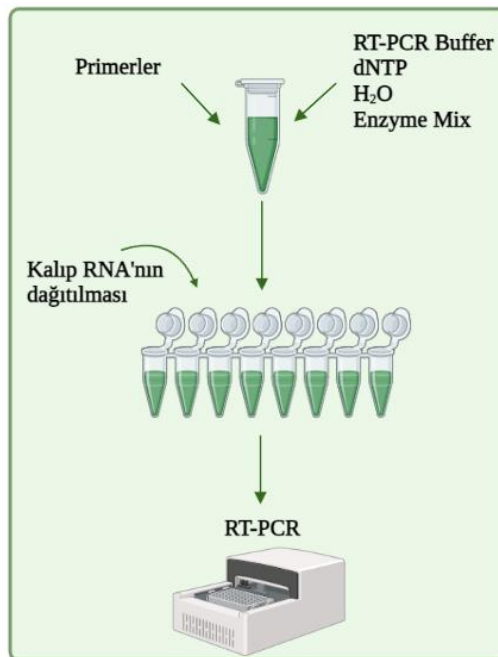
Forward primer	5'- CAAGCACTTCTGTTTCCC-3'
Reverse primer	5'-CACGGACACCCAAAGTAGT-3'

Tablo 3: RT-PCR reaksiyonu için hazırlanan karışımdaki komponentler ve hacimleri

Komponent	Hacim
RT-PCR Buffer	10 uL
dNTP	2 uL
Primer F	1 uL
Primer R	1 uL
RT-PCR Enzyme Mix	2 uL
H ₂ O	29 uL
RNA	5 uL
Son Hacim	50 uL

Tablo 4: Thermal Cycler Koşulları

Döngü sayısı	40 kez	
	Süre	Sıcaklık
Reverse Transkripsiyon	30 dk	50 °C
İlk PCR aktivasyon adımı	15 dk	95 °C
3 Adımlı Döngü:		
Denatürasyon	1 dk	94 °C
Bağlanma	1 dk	52 °C
Uzama	1 dk	72 °C
Son Uzama	10 dk	72 °C



Şekil 5: Amplifikasyon protokolünün şematik özeti

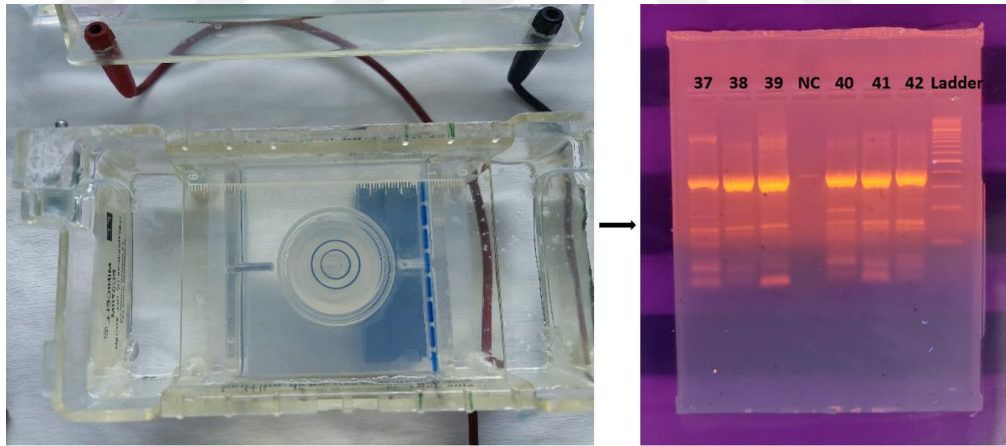
3.2.4 Amplikonların Agaroz Jel Elektroforezi

Amplikonları boyutlarına göre ayırmak ve ilgili DNA bandını (~400 bp) kesip pürifiye etmek amacıyla agaroz jel elektroforezi uygulandı. %2'lik agaroz jel hazırlandı. Bunun için aşağıda yazılan adımlar izlendi:

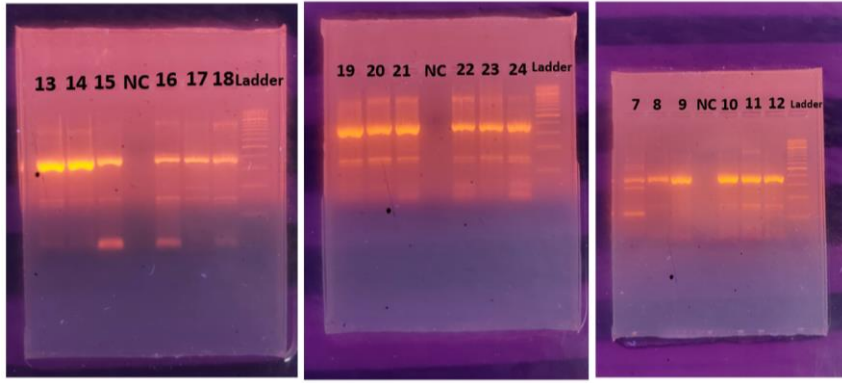
- %2'lik agaroz jel hazırlamak amacıyla hassas terazide (SHIMADZU, Japonya) 0,6 gram agaroz (Prona Agarose, Biomax, AB) tartıldı. Agarozu çözmek amacıyla 10X TBE Buffer (ATB, Türkiye) kullanılarak 950 ml steril distile su ile 50 ml TBE Buffer içeren 0,5X TBE tampon çözelti hazırlandı.
- Tartılan 0,6 gram agaroz bir erlen içine alındıktan sonra üzerine 30ml 0,5X TBE tampon çözelti ilave edilerek erlen yavaşça çalkalandı. Hazırlanan jel, agarozun tamamen çözünmesi için mikrodalga fırında 1 dk boyunca ısıtıldı. Baloncuklar çıkmaya başladığında mikrodalga fırından çıkarılıp hafifçe çalkalandı ve tekrar mikrodalga fırına konuldu. Bu işlem agarozun tamamen çözündüğünden emin olunana kadar devam ettirildi.
- Çözdürme işlemi sonrası hazırlanan jel, soğuk zemin üzerinde donmaması için yaklaşık 30 saniye hafifçe çalkalandı. İlk sıcaklığının düştüğünden emin olunduktan sonra 6 µl Etidyum Bromür (floresan boya) ilave edilerek karıştırıldı.
- Bu işlemden sonra jel, önceden ilgili alanına tarak yerleştirilmiş olan elektroforez kalıbına döküldü. Jelin donması için loş ortamda yaklaşık 15 dk beklendi.
- Jelin donması beklenirken diğer taraftan elektroforez tankının temizliği yapılarak içi 0,5X TBE tamponuyla dolduruldu. Elektroforez elektrotları tankın katot (-) ve anot (+) uçlarına yerleştirildi.
- Jelin donduğundan emin olduktan sonra taraklar çıkartıldı ve elektroforez kalıbı tanka yerleştirildi. Üzeri 0,5X TBE tamponla kaplandı.
- Tarakların oluşturduğu her bir kuyucuğa, 8 µl amplikon ve 2 µl 5x Loading Buffer (nükleik asit boyası içeren yürütme tamponu) (GeneAll-GENESTA, Güney Kore) 0,2 ml tüpte karıştırılarak yükleme yapıldı. Kayıpsız yükleme için pipet ucunda hava bırakılmamasına dikkat edildi. Yüklenen amplikonların uzunluklarının tespiti için Ladder (GeneAll-GENESTA, Güney Kore)

kullanıldı. 3 µl Ladder ve 2 µl 5x Loading Buffer karıştırılarak kuyucuklardan birine yüklendi. Diğer kuyucuğa 2 µl 5x Loading Buffer ve 8 µl negatif kontrol karıştırılarak yüklendi. Ladder ve 5x Loading Buffer pipetlenmeden önce vortekslendi.

- Güç kaynağı 140 V akıma ayarlandı. Amplikonlar 50 dk boyunca yürütüldü.
- Elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra elektroforez kalıbı içinde yer alan jel, bir jel UV transilluminator (WEALTEC, ABD) altında görüntülendi (Şekil 6 ve Şekil 7).
- Görüntüleme sonrası ilgili DNA bantları (~400 bp) belirlenerek steril bistüri ucu yardımıyla kesildi ve daha önce boş ağırlığı kaydedilen mikrosantrifüj tüplerine konuldu.
- Kesim işlemi sırasında DNA'nın saflığını korumak için jel olabildiğince küçük kesilerek jel hacmi en aza indirildi. Jel dilimi mikrosantrifüj tüplerine alındıktan sonra her biri hassas terazide tartıldı. Sonuçlar kaydedildi. Jel dilimi içeren her bir mikrosantrifüj tüpü bir sonraki aşamaya kadar -20 °C'de saklandı.



Şekil 6: Elektroforez tankına yerleştirilmiş agaroz jel ve jele yüklenmiş amplikonlar; bazı amplikonların Jel UV transilluminatör altındaki görüntüleri (Ladder-100 bp).



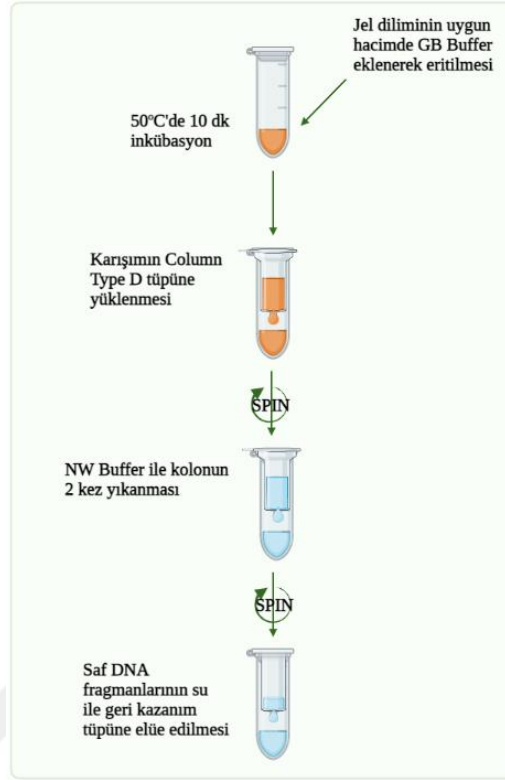
Şekil 7: Bazı amplikonların Jel UV transilluminator altındaki görüntüleri

3.2.5 Agaroz Jel Pürifikasyonu

GeneAll Expin™ Gel SV Mini Kit (Güney Kore) kullanılarak gerçekleştirilen protokol için aşağıdaki adımlar izlendi:

- Steril bistüri ucu kullanılarak kesilen ilgili DNA bantları bir mikrosantrifüj tüpüne alındı. Önceden ağırlığı kaydedilen mikrosantrifüj tüpleri içinde yer alan jel dilimleri de hassas terazide tartılarak jel dilimlerinin ağırlığı hesaplandı.
- 1 hacim (mg) jele 5 hacim (µl) Buffer GB oranında hesaplama yapılarak her bir mikrosantrifüj tüpüne jel diliminin ağırlığına uygun konsantrasyonda Buffer GB eklendi.
- Agaroz jel dilimleri tamamen eriyinceye kadar 50 °C’de inkübe edildi. İnkübasyon sırasında her bir mikrosantrifüj tüpü 2 dakikada bir benmariden çıkarılarak önce 15 sn vortekslendi. Ardından spin cihazına konularak 1 dk kısa santrifüj uygulandı ve tekrar benmariye konuldu. Benmaride toplamda 10 dk inkübe edildi.
- Jel dilimi tamamen çözündükten sonra karışımın renginin sarı olup olmadığı kontrol edildi. Her bir mikrosantrifüj tüpündeki karışımın rengi sarıydı.
- Karışım Column Type D tüpüne aktarıldı. Karışım hacmi 700 µl’den fazla olduğu takdirde iki farklı Column Type D tüpüne aktarıldı. Aktarım sonrası tüpler, mikrosantrifüj cihazına yerleştirilerek 1 dk 12000 rpm’de santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası her bir toplama tüpü atılarak yenisiyle değiştirildi.

- Her bir Column Type D tüpüne 500 µl Buffer GB eklendi. Her bir tüp mikrosantrifüj cihazına yerleştirilerek 1 dk 12000 rpm’de santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası her bir toplama tüpü yenisiyle değiştirildi.
- Her bir Column Type D tüpüne 300 µl Buffer NW eklendi. Her bir tüp mikrosantrifüj cihazına yerleştirilerek 1 dk 12000 rpm’de santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası her bir toplama tüpü yenisiyle değiştirildi.
- Her bir Column Type D tüpüne 700 µl Buffer NW eklendi. Her bir tüp mikrosantrifüj cihazına yerleştirilerek 1 dk 12000 rpm’de santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası her bir toplama tüpü yenisiyle değiştirildi.
- Her bir Column Type D tüpünden yıkama tamponunu (Buffer NW) uzaklaştırmak için her bir tüp mikrosantrifüj cihazına yerleştirilerek 1 dk 12000 rpm’de santrifüj edildi. Bu adım iki kez tekrarlandı.
- Santrifüj sonrası her bir toplama tüpü geri kazanım tüpüyle değiştirildi.
- Her bir Column Type D tüpünün merkezine 30 µl ddH₂O eklendi.
- Her bir tüp oda sıcaklığında 5 dk inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrası her bir tüp mikrosantrifüj cihazına yerleştirilerek 1 dk 12000 rpm’de santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrasında geri kazanım tüplerinde saflaştırılmış nükleik asit bulunmaktadır. Bu sebeple Column Type D tüpler atıldı.
- Saflaştırılmış DNA bir sonraki aşamaya kadar -20 °C’de saklandı.



Şekil 8: Agaroz jel pürifikasyonunun şematik özeti

3.2.6 Pürifikasyon Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi

Agaroz jel pürifikasyonu sonrasında saflaştırılmış DNA'ların non-spesifik bağlanmalardan arındırıldığından emin olmak için yukarıda anlatılan Agaroz Jel Elektroforezi protokolü her bir örnek için tekrar edildi. Jel UV transilluminator altında görüntülenen agaroz jellerin her bir kuyucuğunda, ilgili bölgede (~400 bç) tek bant olduğu görüldü (Şekil 9).



Şekil 9: Jelden kazanımı yapılan bazı ampliconların Jel UV transilluminator altındaki tek bant görüntüleri

3.2.7 Sanger Dideoksi Döngü Dizileme Protokolü

Pürifiye edilmiş DNA örnekleri Sanger dideoksi döngü dizileme protokolünün uygulanması için hizmet alımı kapsamında Bursa Uludağ Üniversitesi dışından bir firmaya gönderildi. Firmaya örneklerle birlikte Forward ve Reverse primerler de gönderildi. Amplifikasyon protokolünde kullanılan primerler Sanger dideoksi döngü dizileme protokolünde de kullanıldı. Tek yönlü okuma yapıldı.

3.2.8 Biyoinformatik Analiz

Çalışmanın biyoinformatik analizlerini yapmak için MEGA X v11 programı ve *National Center for Biotechnology Information* (NCBI)'ın veri tabanı dahilinde olan BLAST programı kullanıldı. Elde edilen dizilerin elektroforegram verileri MEGA X v11 programı kullanılarak BLAST programına aktarıldı. BLAST programında yer alan n-BLAST parametresi seçilerek referans dizilerle (EK: Referans Diziler) karşılaştırıldı. RV örneklerinin tür ve alt tipleri belirlendi. Tür ve alt tipleri belirlenen RV örneklerinin her biri için fasta dosyaları hazırlandı. DNA dizilerini içeren bu dosyalar MEGA X v11 programı dahilinde olan MUSCLE (*Multiple Sequence Comparison by Log-Expectation*) algoritması kullanılarak hizalandı. Hizalanan diziler MEGA formatına aktarıldıktan sonra ağaçlar çizildi. Filogenetik ağaç çizimleri için Neighbor-Joining algoritması kullanıldı. Bootstrap değeri 1000, değiştirme modeli

metodu Kimura 2 parametresi olarak seçildi (Nei, & Kumar, 2000; Saitou, & Nei,1987; Tamura, Stecher, & Kumar, 2021).

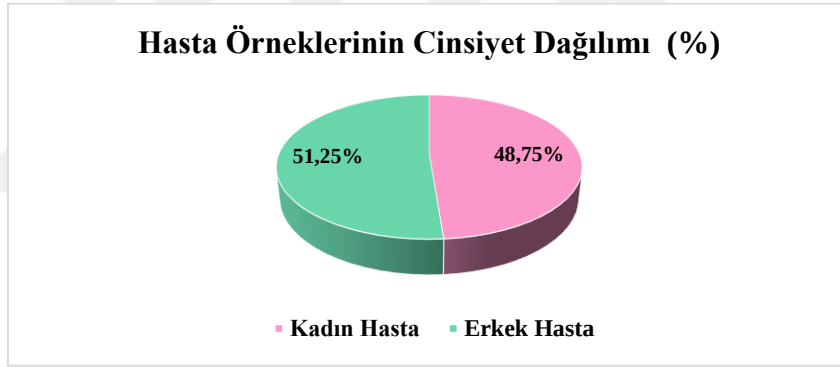
3.2.9 İstatistiksel Analiz

Çalışmanın istatistiksel analizini yapmak için IBM SPSS Statistics v22 (Inc, Chicago, IL, USA) programı kullanıldı. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkileri araştırmak amacıyla yapılan analizlerde kategorik verilere uygunluğu, araştırma sonuçlarındaki anlamlı örüntülerin ve eşitsizliklerin değerlendirilmesine olanak sağlaması nedeniyle ki-kare testi seçildi. Normal dağılım gösteren gruplar arasındaki nicel değişiklikleri değerlendirmek için bağımsız iki örneklem T-Testi seçildi. Değişkenler arasında anlamlı ilişkilerin veya farklılıkların varlığını belirlemek için istatistiksel anlamlılık seviyesi $p=0,05$ olarak seçildi. Bu değerin altındaki p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

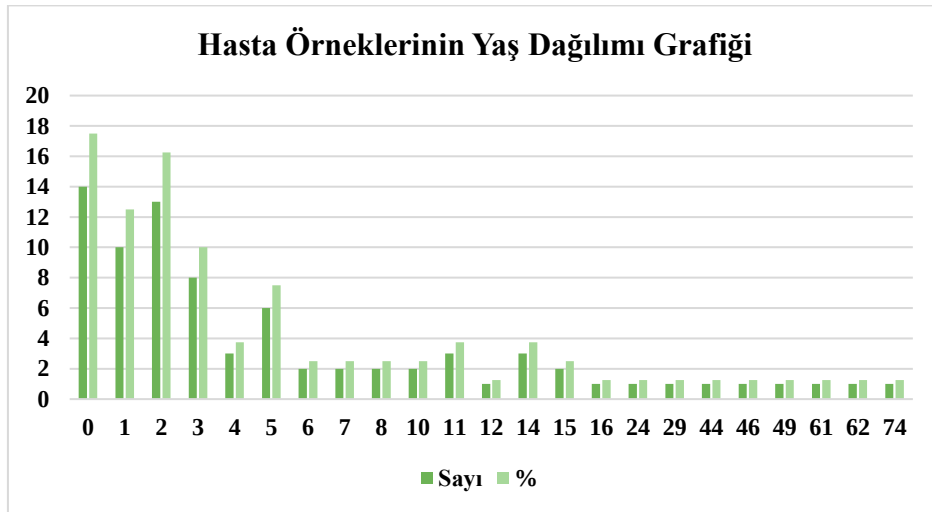
4. BULGULAR

4.1 Hastalara Ait Demografik Bilgiler

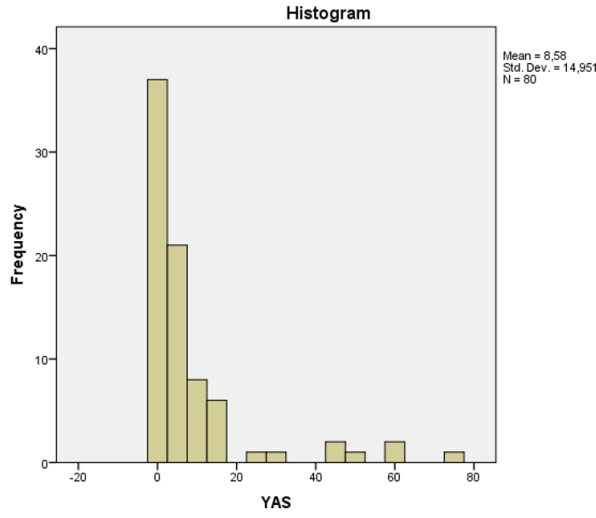
Bu çalışmada, Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı PCR laboratuvarına gönderilen nazofaringeal sürüntü örneklerinden 22.10.2021-13.12.2022 tarihleri arasında RV pozitifliği saptanan 80 adet hasta örneği kullanıldı. Çalışmada kullanılan hasta örneklerinin 39'u (%48,75) kadın, 41'i (%51,25) erkekti (Şekil 10). Çalışmada kullanılan hasta örneklerinin yaşları 0 ile 74 arasında değişmekteydi. 80 hastanın 37'si (%46,25) 0-2 yaş aralığındaydı. Çalışmada kullanılan hasta örneklerinin yaş ortalaması $8,58 \pm 14,95$ 'di (Şekil 11 ve Şekil 12). Örneklerin 8'i yetişkin 72'si çocuk hastaydı.



Şekil 10: Hasta örneklerinin cinsiyet dağılımı grafiği



Şekil 11: Hasta örneklerinin yaş dağılımı sütun grafiği

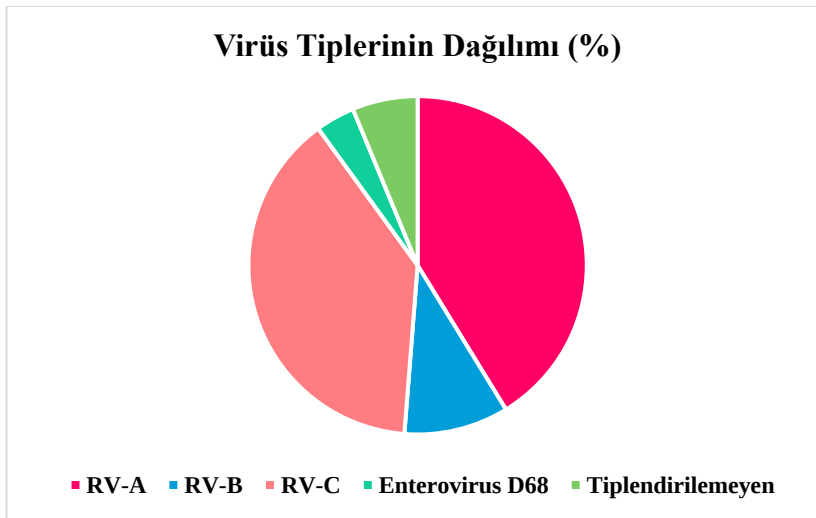


Yaş	Sayı	%
0	14	17,5
1	10	12,5
2	13	16,25
3	8	10
4	3	3,75
5	6	7,5
6	2	2,5
7	2	2,5
8	2	2,5
10	2	2,5
11	3	3,75
12	1	1,25
14	3	3,75
15	2	2,5
16	1	1,25
24	1	1,25
29	1	1,25
44	1	1,25
46	1	1,25
49	1	1,25
61	1	1,25
62	1	1,25
74	1	1,25

Şekil 12: Hasta örneklerinin yaş dağılımı ve histogram grafiği

4.2 RV'nin Biyoinformatik Analiz Sonuçları

Çalışılan 80 adet hasta örneğinin 33'ü (%41,25) RV-A, 8'i (%10) RV-B, 31'i (%38,75) RV-C, 3'ü (%3,75) EV-D68 olarak değerlendirildi. Örneklerin 5'i (%6,25) tiplendirilemedi. RV-A ve RV-C'nin RV-B'den daha yaygın olduğu tespit edildi ($p < 0,001$). RV-A ve RV-C yaygınlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p = 0,86$).



Şekil 13: Hasta örneklerinden tespit edilen virüs tiplerinin dağılımları

4.2.1 RV Alt Tip Dağılımları

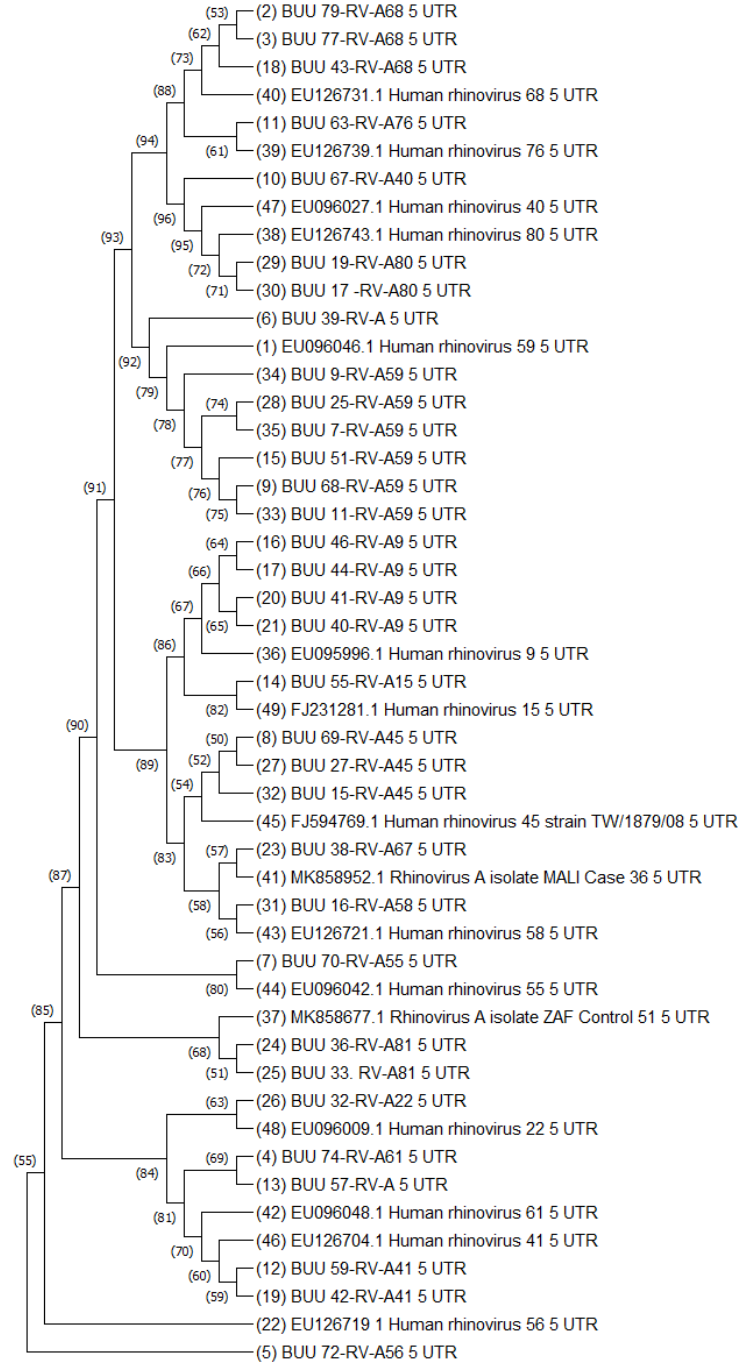
Rhinovirus A örneklerinin alt tip dağılımları; 2 adet A, 4 adet A9, 1 adet A15, 1 adet A22, 1 adet A40, 2 adet A41, 3 adet A45, 1 adet A55, 1 adet A56, 1 adet A58, 6 adet A59, 1 adet A61, 1 adet A67, 3 adet A68, 1 adet A76, 2 adet A80, 2 adet A81 olarak belirlendi.

Rhinovirus B örneklerinin alt tip dağılımları; 2 adet B48, 3 adet B84, 3 adet B92 olarak belirlendi.

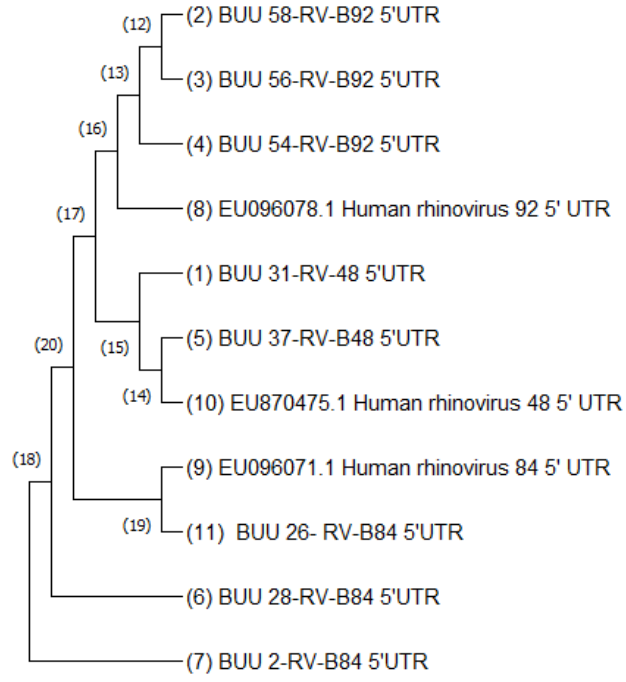
Rhinovirus C örneklerinin alt tip dağılımları; 3 adet C, 4 adet C3, 3 adet C4, 1 adet C5, 1 adet C9, 5 adet C11, 1 adet C15, 2 adet C19, 1 adet C26, 1 adet C28, 6 adet C35, 2 adet C44, 1 adet C50 olarak belirlendi.

4.2.2 Filogenetik Ağaçlar

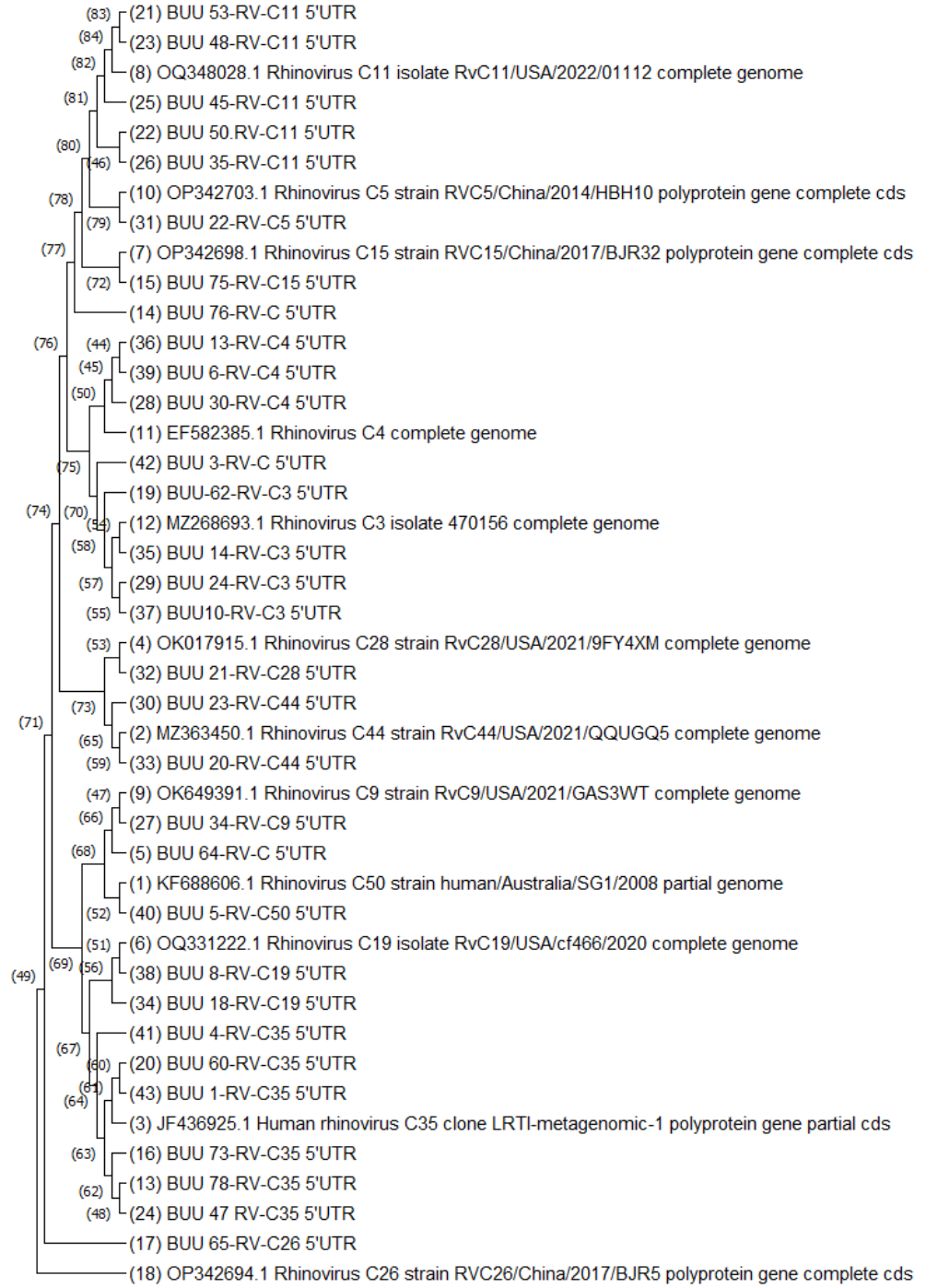
Rhinovirus A, RV-B, RV-C türlerinin her biri için geleneksel-dikdörtgen modeli seçilerek filogenetik ağaç çizildi.



Şekil 14: MEGA 11 programında Neighbor-joining metodu kullanılarak elde edilen, RV-A dizileriyle oluşturulmuş filogenetik ağaç.



Şekil 15: MEGA 11 programında Neighbor-joining metodu kullanılarak elde edilen, RV-B dizileriyle oluşturulmuş filogenetik ağaç.



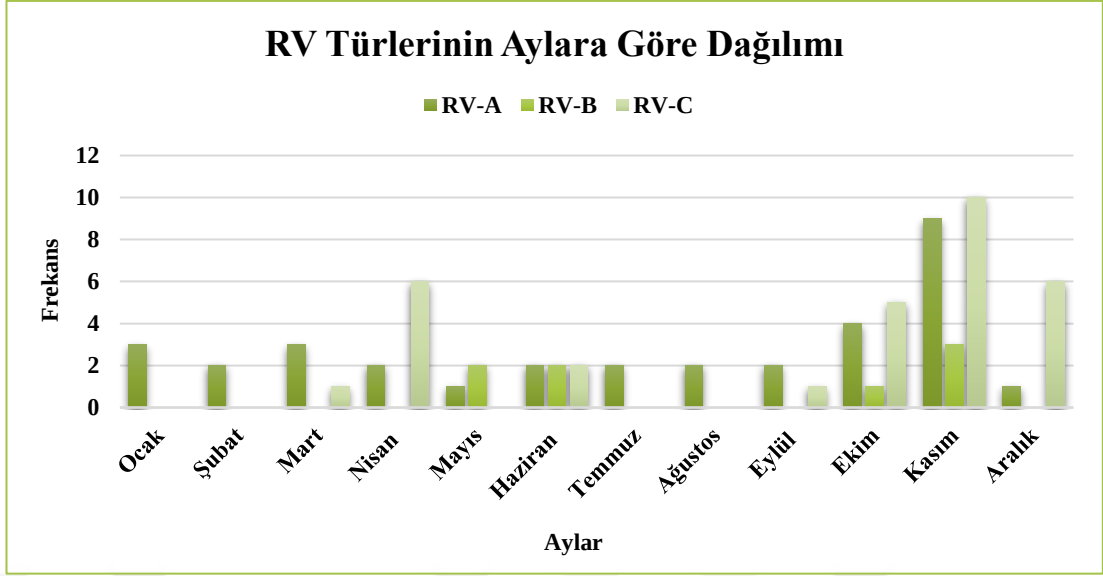
Şekil 16: MEGA 11 programında Neighbor-joining metodu kullanılarak elde edilen, RV-C dizileriyle oluşturulmuş filogenetik ağaç.

4.3 RV'nin Yıllara ve Mevsimlere Göre Dağılımı

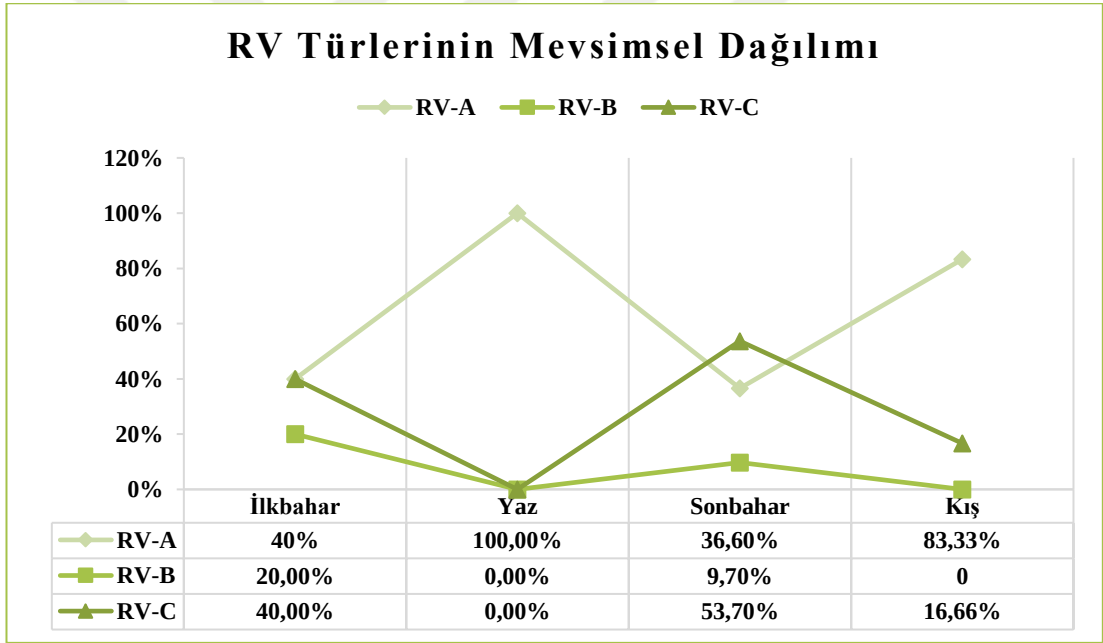
Çalışmada kullanılan hasta örneklerinin dahil edildiği tarih aralığına göre RV pozitifliği açısından incelendiğinde RV'nin tür ayrımı gözetmeksizin yıl boyu ve dört mevsim saptandığı belirlendi. Dağılıma bakıldığında RV'nin en çok Ekim-Aralık ayları arasında, en yüksek oranda ise Kasım ayında saptandığı belirlendi (Şekil 17).

Türler içindeki dağılıma bakıldığında RV-A, yıl boyu ve dört mevsim görülmekle birlikte sonbahar aylarında daha sık saptandı. Fakat RV-A'nın mevsimlere göre dağılımı incelendiğinde anlamlı bir fark bulunamadı ($p=1$). Sonbaharda RV-A'nın RV-B'den daha yaygın olduğu tespit edildi ($p=0,0041$). RV-B, diğer türlere oranla görülme sıklığının düşük olmasıyla birlikte sadece ilkbahar ve sonbahar aylarında saptandı. RV-C'nin yaz ayları hariç tüm aylarda saptandığı belirlendi. En sık sonbaharda, ikinci sırada ilkbaharda ve en düşük oranda ise kış aylarında saptandı. Sonbaharda RV-C'nin RV-B'den daha yaygın olduğu görüldü ($p<0,001$). RV-C'nin diğer mevsimlere kıyasla sonbaharda daha yaygın olduğu tespit edildi ($p<0,001$). Sonbaharda RV-A ve RV-C arasındaki dağılıma bakıldığında anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0,27$). Dört mevsime göre karşılaştırıldığında RV-A ve RV-C arasında anlamlı bir ilişki olduğu tespit edildi ($p=0,03$).

Mevsimlere göre yaş ortalamaları karşılaştırıldığında, sonbaharda yaş ortalaması $13,40 \pm 18,97$, diğer mevsimlerde yaş ortalaması $1,99 \pm 1,73$ olarak hesaplandı. Sonbaharda yaş ortalamasının daha yüksek olduğu tespit edildi ($p=0,0012$).



Şekil 17: RV türlerinin aylara göre dağılımı sütun grafiği

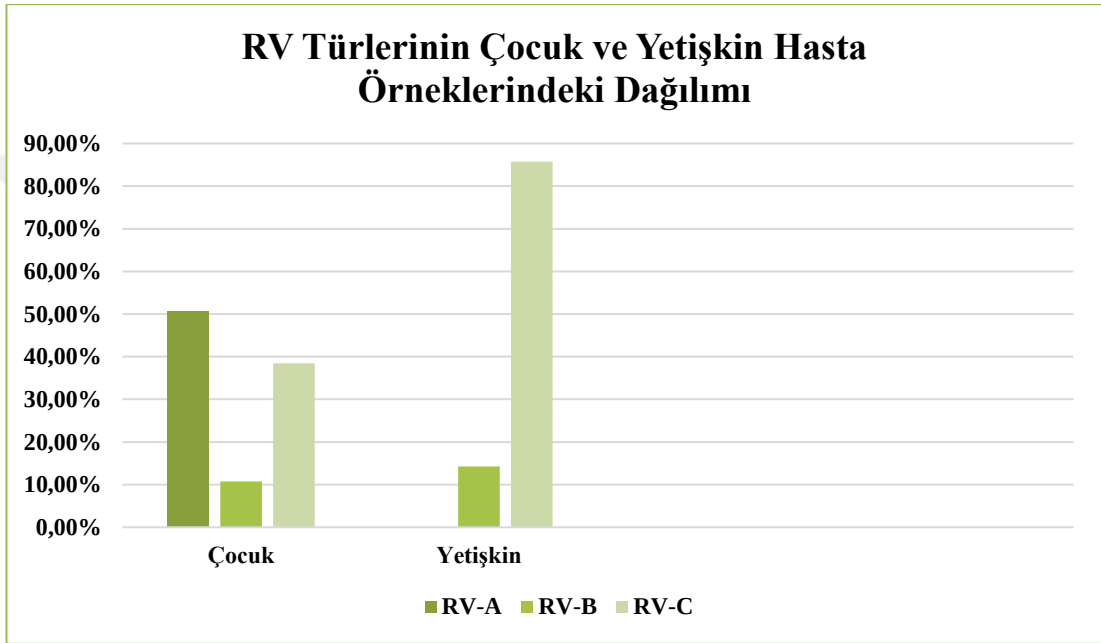


Şekil 18: RV türlerinin mevsimsel dağılımı grafiği

4.4 RV'nin Yaş ve Cinsiyete Göre Dağılımı

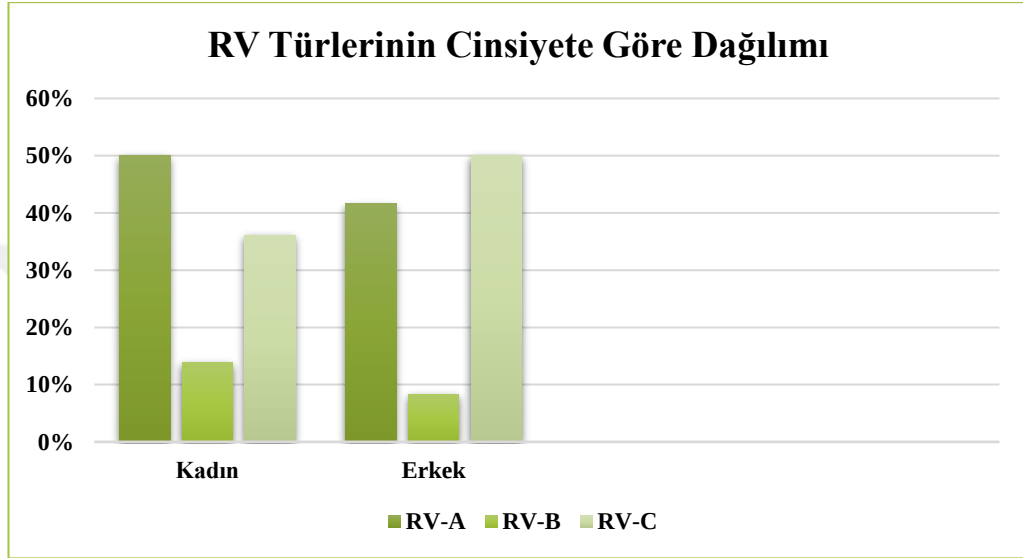
Hasta örneklerinin RV sonuçları çocuk ve yetişkin kategorisinde değerlendirildiğinde 65'i (%90,3) çocuk, 7'si (%9,7) yetişkindi. RV-B ile enfekte hastaların sayılarının azlığı sebebiyle RV-A ve RV-C türleri ile çocuk (0-17) ve yetişkin (18-74) hastalar arasındaki ilişki incelendiğinde türler ve yaş grupları arasında anlamlı bir ilişki olduğu tespit edildi ($p=0,008$). Çocuk hasta örnekleri içerisinde 33'ü

(%50,77) RV-A ve 0-15 yaş aralığında, 7'si (%10,77) RV-B ve 0-49 yaş aralığında, 25'i (%38,46) RV-C ve 0-74 yaş aralığında olarak belirlendi. Yetişkin hasta örneklerinin ise 1'i (%14,29) RV-B, 6'sı (%85,71) RV-C olarak belirlendi (Şekil 19). Yaş ortalamaları: RV-A için $3,66 \pm 4,09$; RV-B için $9,65 \pm 16,13$; RV-C için $13,69 \pm 20,93$ 'dü. RV-A ve RV-C yaş ortalamalarına göre karşılaştırıldığında RV-C'nin daha ileri yaşta enfeksiyona sebep olduğu görüldü ($p=0,0066$). 3 tür arasında RV-A'nın daha küçük yaşlarda görüldüğü tespit edildi ($p=0,0097$).



Şekil 19: RV türlerinin çocuk ve yetişkin hasta örneklerindeki dağılımı

Hasta örneklerinin RV sonuçları cinsiyet kategorisinde değerlendirildiğinde örneklerin 36'sı (%50) kadın, 36'sı (%50) erkekti. Kadın hasta örneklerinin 18'i (%50) RV-A, 5'i (%13,9) RV-B, 13'ü (%36,1) RV-C olarak belirlendi. Erkek hasta örneklerinin 15'i (%41,7) RV-A, 3'ü (%8,3) RV-B, 18'i (%50) RV-C olarak belirlendi (Şekil 20). Türler ve cinsiyetler arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p=0,87$).



Şekil 20: RV türlerinin cinsiyete göre dağılımı sütun grafiği

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Rhinovirus tespiti ve karakterizasyonu için uygulanan laboratuvar yöntemleri hücre kültürü tabanlı virolojik yöntemleri, moleküler tabanlı yöntemleri ve serolojik tabanlı yöntemleri kapsamaktadır. RV'lerin bugün bilinen 170'ten fazla alt tipinin olması ve her geçen gün bu sayının artması, genomunun 3D bölgesinden ifade edilen RdRp'nin hata okuma aktivitesinin olmaması ile ilişkili olarak mutasyonların oldukça sık gerçekleştiği varsayımıyla ilişkilendirilmektedir. Bu durum yüksek genetik çeşitliliğe sebep olurken RV'ler arasında ortak bir antijenin varlığını engellemektedir (Palmenberg ve ark., 2010). Ortak antijene sahip olmayan RV'ler, serolojik tabanlı yöntemlerin rutin tanıda kullanımını mümkün kılmamaktadır (Kainulainen ve ark., 2019). *Picornaviridae* familyasında yer alan RV ve EV'lerin önceki yıllarda asit değişkenlik testleri ile ayırt edildiği bildirilmiştir. Solunum yolu enfeksiyonlarının tanısında bir zamanlar altın standart olarak kabul edilen kültür tabanlı virolojik yöntemlerin, moleküler tabanlı teşhis teknolojilerinin gelişimiyle birlikte duysarsız, zahmetli ve zaman alıcı olduğu anlaşılmıştır (Dagher, Donninger, Hutchinson, Ghildyal, & Bardin, 2004). Moleküler yöntemlerin dikkat çekici gelişimiyle birlikte önemi artan RV'lerin son keşfedilen türü olan RV-C uzun süre kültürlenememiştir. RV-C'nin 2006 yılındaki keşfine rağmen 2011'e dek kültürlenememiş olması moleküler yöntemlerin viroloji dünyasındaki yerini bir kez daha vurgulamıştır (Bochkov ve ark., 2011). Çoğunlukla üst solunum yolları enfeksiyonları ile ilişkilendirilen RV'lerin, okul çağındaki çocuk ve gençlerin devamsızlıklarına, çalışan bireylerin iş hayatında verimsizliklere sebep olarak dünya çapında sosyoekonomik açıdan yüke sebep olduğu bilinmektedir. Artan çalışmalar RV'leri yalnızca üst solunum yolu enfeksiyonlarıyla değil alt solunum yolu enfeksiyonlarıyla ilgili olarak bağışıklığı baskılanmış ve yaşlı bireylerde pnömoniye; pediatrik popülasyonlarda ciddi bronşiyolite ve kronik akciğer hastalıklarının alevlenmeleriyle ilişkilendirmiştir. Dikkat çeken bu durum RV epidemiyolojisine yönelik araştırmaların önemini artırmaktadır (Adam ve ark., 2021; Demirkan, Kırdar, Ceylan, Yenigün, Kurt Ömürlü, 2017; Esneau, Duff, & Bartlett, 2022).

Bu çalışmada, Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı PCR laboratuvarına 22.10.2021-13.12.2022 tarihleri arasında tanı için gönderilen nazofaringeal sürüntü örneklerinde

multipleks PCR kullanılarak RV pozitifliği saptanan örnekler moleküler yöntemler kullanılarak tiplendirildi. Türler ve alt tipler, RV genomunun 5'UTR bölgesini hedefleyerek tasarlanan primerler kullanılarak tespit edildi. 5'UTR RT-PCR yönteminin, VP4-VP2 PCR'den daha duyarlı olduğu ve Nested PCR veya çok sayıda primer çiftine ihtiyaç duymadığı gösterilmiştir. Çalışma tasarımı kolaylaştıran bu yöntem, maliyet ve zaman tasarrufu sağlarken kontaminasyon riskini en aza indirir (Kiang ve ark., 2008). Bununla birlikte çeşitli gen bölgelerini hedefleyen primerler kullanılarak tespit edilen türleri doğrulamanın gerekliliği de vurgulanmıştır. VP4-VP2 gen bölgesini hedefleyen primerlerin kullanıldığı çalışmalarda tanımlanan bazı RV-A türlerinin, 5'UTR hedefli primerler kullanılarak tiplendirildiğinde CA alt tipinde kategorize edildiği bildirilmiştir. Göz önünde bulundurulması gereken bu durum 5'UTR hedefli primerlerin yanında VP4-VP2 hedefli primerlerin de dahil edildiği çalışmalarla RV-C tiplendirmesi yapmak gerektiğini vurgulamaktadır (Arakawa ve ark., 2012; Jiang ve ark., 2022; Savolainen-Kopra ve ark., 2009).

Rhinovirus pozitif 80 adet örneğin dahil edildiği bu çalışmada, üç RV türünün dolaşımında olduğu görüldü. Popülasyondaki türlerin çoğunluğunu (%41,25; N=33) RV-A oluşturmakla birlikte RV-C (%38,75; N=31) ile benzerdi. RV-A ile RV-C yaygınlığı arasında istatistiksel bir fark tespit edilmedi ($p=0,86$). RV-B (%10; N= 8) önemli ölçüde düşük oranda tespit edildi. RV-A ve RV-C'nin RV-B'den daha sık görüldüğü istatistiksel olarak da gösterildi ($p<0,001$). Bu sonuçlar RV-A'yı en sık tespit edilen tür ve RV-B'nin dolaşımının sınırlı olduğunu bildiren diğer moleküler epidemiyolojik çalışmalarla tutarlıdır (Jiang, 2022; Marcone ve ark., 2014). RV-A ve RV-C enfeksiyonlarının sıklıkla RV-B enfeksiyonlarından daha yaygın olduğu bildirilmektedir (Adam ve ark., 2021; van der Linden ve ark., 2016). Bu çalışmada, veri tabanında yer alan referans dizilerle karşılaştırıldığında yeni bir tür olarak bildirilebilecek düzeyde çeşitlilik gösteren dizilere sahip bir alt tip tespit edilmedi. Bu çalışma ve benzer çalışmaların aksine RV-C'nin baskın tür olduğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (Li ve ark., 2021; Zheng ve ark., 2018). Bu iki türün baskınlıklarının dönüşümlü olarak değiştiği bildirilmiştir. Çalışılan popülasyonların farklılığı, toplanan örneklerin gösterdiği coğrafi dağılım, iklim koşulları ve çalışmanın kapsadığı süre gibi çeşitli faktörler bu farklılığı açıklayabilir (Esneau ve ark., 2022). Bu çalışmaya benzer ülkemizde yapılan iki çalışma bulunmaktadır. Bunlardan ilki

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde gerçekleştirilmiştir. 32 yetişkin ve 33 çocuk hastanın dahil edildiği çalışmada tiplendirilen örneklerin oranları şu şekilde bildirilmiştir: %43,07 RV-A, %10,76 RV-B ve %43,07 RV-C ile birlikte %1,53 EV-D68 ve %1,53 EV-C (Demirkan, 2016). Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi'nde yapılan diğer çalışmaya dahil edilen 82 örneğin tiplendirme sonuçları, %42,7 RV-A, %14,6 RV-B ve %42,7 RV-C olarak bildirilmiştir (Güney, 2017). Her iki çalışmada da RV-B literatürle tutarlı olarak diğer türlere oranla düşük dolaşımdadır. Bu çalışmanın aksine RV-A ve RV-C her iki çalışmada da eş baskın olarak tespit edilmiştir. Pandemi öncesi ülkemizde yapılan bu iki çalışmadan elde edilen verilerle çalışmamız verileri karşılaştırıldığında RV alt tiplerinde belirgin bir değişim olmadığı gözlemlendi.

Bu çalışmada, örnekler oldukça küçük bir coğrafi bölgeden ve kısıtlı zaman aralığında elde edilmiş olmasına ve çalışmanın sınırlı örneklem büyüklüğüne rağmen çok sayıda alt tip tespit edildi. Bu durum çok sayıda alt tipin eş zamanlı dolaşımını bildiren önceki çalışmalarla tutarlıdır (L'Huillier ve ark., 2015; van der Linden ve ark., 2016). Tespit edilen üç tür içinde baskın olan alt tipler şu şekildedir: Baskın RV-A alt tipleri A59, A9; RV-B alt tipleri B84, B92; RV-C alt tipleri C35, C11 ve C3. RV-A için 16, RV-B için 3, RV-C için 12 farklı alt tip olmak üzere toplam 31 farklı alt tip tespit edildi. Tespit edilen alt tiplerin diğer çalışmalarda bildirilenlerden farklı olmasının birçok sebebi olabilir. Hastane ortamlarında tespit edilemeyen salgınlar veya sınırlı bir coğrafi bölgede ortaya çıkan alt tipler gibi faktörler belirli alt tiplerin tespitinde rol oynayabilir (Jacobs ve ark., 2013; Vandini ve ark., 2019). Bazı hasta gruplarını, RV alt tiplerinin oluşturduğu enfeksiyonlara karşı daha duyarlı hale getiren, alt tipe karşı geliştirilmiş spesifik antikorları indükleyen humoral bağışık yanıtın gelişimi, geçici bağışıklık ile ilişkili olduğunu düşündürür. Buna bağlı olarak farklı RV alt tiplerinin yol açtığı yüksek enfeksiyon oranı önceden var olan bağışıklık ile ilişkilendirilebilir (Makris, & Johnston, 2018).

Örneklerde RV'lere ek olarak az sayıda (%3,75; N=3) EV dizisi tespit edildi. EV'lerin tümü solunum yolu enfeksiyonlarıyla ilişkili EV'lerden biri olan EV-D68 idi. Bu durum, evrimsel olarak korunmuş 5'UTR bölgesinin RV-EV arasındaki çapraz reaktivitesini açıklamaktadır. (McAllister ve ark., 2015). EV-D68 enfeksiyonlarının

görülmesi dikkat çekici olup, RV/EV ayırımı dizi analizi yöntemi ile yapılabilmektedir.

Diğer solunum yolu etkenlerinin aksine RV'ler, dünya çapında, yıl boyu ve dört mevsimde de tespit edilerek dikkat çekmektedir. RV'ler, farklı antijenik özelliklere sahip çok sayıda alt tipinin bulunmasına neden olan kapsamlı genetik çeşitlilik sergilemektedir. Bu durum RV'lerin bağışık yanıttan kaçmalarına, bulaşıcılıklarını sürdürmelerine ve dolayısıyla sürekli dolaşımda olmalarına olanak vermektedir (Kainulainen ve ark., 2019; Sansone ve ark., 2013). Pandemi döneminde diğer solunum yolu virüsleri baskılanması ve sıklığının azalmasına karşın RV'ler pandemiden etkilenmeyen ve COVID-19'dan sonra en yaygın olarak görülen solunum yolu viral etkeni olarak dikkat çekmiştir (Agca ve ark., 2021).

Çalışmanın kapsadığı yaklaşık 15 aylık dönemde RV'nin sonbahar ve kış aylarında sıklıkla rastlanmakla birlikte mevsimsel değişikliklerden bağımsız olarak yıl boyu tutarlı bir şekilde tespit edildi. Önceki çalışmalar da RV'nin yıl boyu dolaştığını bildirmişlerdir (Jiang, 2022; van der Linden ve ark., 2016). Sonbahar ve kış aylarında zirve yaptığını bildiren çalışmalar olmakla birlikte (Zhao ve ark., 2018) genellikle ilkbahar ve sonbahar aylarında enfeksiyonun zirve yaptığını bildiren çalışmalar da vardır (Civljak ve ark., 2019; Lee ve ark., 2012). Çalışmadaki türlerin mevsimsel dağılım modları analiz edildiğinde RV türleri için farklı eğilimler tespit edildi. En sık Ekim-Aralık ayları arasında saptanan RV'ler en yüksek insidansı Kasım ayında gösterdi. Bu bulgular sonbahar aylarında RV enfeksiyonlarının yüksek prevalansını bildiren önceki çalışmalarla tutarlıdır (Jiang, 2022; Lau ve ark., 2009; Zheng ve ark., 2018). Mevsimsel dağılım modlarını etkileyen faktörler hem viral hem de enfekte bireyi içerebilir. Hava sıcaklıklarındaki düşüşle birlikte değişken hava koşulları, nem seviyesindeki azalma gibi etkenler RV bulaşına ortam hazırlayarak virüsün varlığını sürdürmesine katkıda bulunuyor olabilir.

İnsidansı dört mevsime yayılmış olmasına rağmen RV-A sonbaharda daha sık tespit edildi. Bu durum RV-A'nın yıl boyu dolaştığını ve istatistiksel olarak anlamlı olmamakla ($p=1$) birlikte kısmi bir mevsimsellik ortaya koyduğunu göstermektedir. RV-C'nin mevsimsel eğilimine bakıldığında sonbaharda daha sık görüldüğü tespit edildi ($p<0,001$). Daha önce bildirilenlere benzer olan bu mevsimsel mod, RV-A ve RV-C'nin yayılma paternlerini etkileyebilecek daha soğuk ve kuru koşulları tercih

edebileceğini düşündürmektedir (Marccone ve ark., 2014; van der Linden ve ark., 2016; Zhao ve ark., 2018). Bu verilere ek olarak sonbahardaki yüksek yaş ortalaması ($p=0,0012$) dikkat çekicidir. Bu durum belirli yaş gruplarındaki bireylerin RV enfeksiyonlarına karşı sonbaharda daha duyarlı olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışma, tespit edilen RV türleri ile hastaların yaş dağılımı arasında ilişki olduğunu ortaya koymaktadır. Hasta örneklerinin çoğunluğunu çocuk yaş grubundaki bireylerin oluşturması pediatrik popülasyonlarda RV enfeksiyonlarının önemli yükünü vurgular (Jacobs ve ark., 2013). Özellikle çocuk ve yetişkin hasta gruplarında ayırım yapılarak RV-A ve RV-C alt tipleri ve yaş grupları arasındaki ilişkiyi anlamak için yapılan istatistiksel analiz anlamlı bir ilişki olduğunu göstermektedir ($p=0,008$). Bu durum RV-A ve RV-C dağılımının farklı yaş gruplarında değiştiğini ortaya koymaktadır. Ayrıca RV-A ve RV-C ile enfekte hastaların yaş ortalamaları karşılaştırıldığında anlamlı farklar gözlemlendi ($p=0,0066$). RV-C enfeksiyonlarının daha geç yaşta meydana geldiği görüldü ve bu durum RV-C enfeksiyonlarının başlangıcında bir gecikme olduğunu göstermektedir. Buna karşın RV-A'nın daha erken yaşlarda görüldüğü tespit edildi ($p=0,0097$). Bu durum RV-A'nın, bireyleri yaşamın erken dönemlerinde enfekte etme olasılığının daha yüksek olduğunu düşündürmektedir. RV türlerinin prevalansının yaştan etkilenebileceğini düşündüren çalışmalar vardır. Veriler özellikle RV-C'nin erken çocukluk dönemlerinde ve RV-A'nın ise daha ileri yaşlarda enfeksiyonla alakalı olabileceğini düşündürmektedir (Bizzintino ve ark., 2011; Zlateva ve ark., 2020). Viral enfeksiyonlara karşı bağışık yanıt hem doğal hem de edinilmiş bağışıklık sistemlerinde dikkat çekici değişikliklerle çocukluk ve ergenlik boyunca gelişir. Bağışıklık sistemindeki yaşa bağlı farklılıkların ve kaçınma stratejilerinin farklı RV türleri üzerinde seçici baskılar uygulaması olağandır. RV-A ve RV-C bağışık yanıtı kaçınmak için farklı stratejiler geliştirmiş olabilir (Choi ve ark., 2021; Makris ve ark., 2018). Türlerin yol açtığı enfeksiyonların yaşa bağlı duyarlılığını aydınlatmak için ileri immünolojik çalışmalar gereklidir. Bu bulgular RV enfeksiyonlarında belirleyici bir faktör olarak yaşın önemini vurgular ve farklı yaş gruplarında enfeksiyonun kontrolünü amaçlayan halk sağlığı eylem planlarına yönelik içgörüler sağlamaktadır.

Bu çalışmada tespit edilen RV türleri arasındaki cinsiyet dağılımı analizi, önceki çalışmalarda bildirildiği gibi iki değişken arasında anlamlı bir ilişki olmadığını

gösterdi ($p=0,87$). Bu bulgular, çalışılan hasta grubunda türlerin yol açtığı enfeksiyon prevalansı söz konusu olduğunda cinsiyet yanlılığı olmadığını göstermektedir (Li ve ark., 2021; Zeng ve ark., 2014).

Bu çalışmada 5 adet hasta örneği tiplendirilememiştir. Bu duruma, ekstrakte edilen RNA'nın kalitesi, düşük RNA konsantrasyonu, RT-PCR sonrasında uygulanan pürifikasyon işlemine rağmen örneklerde devam eden kirlilik, dizileme reaksiyonu sırasında meydana gelen istenmeyen durumlar vb. çeşitli teknik sorunlardan kaynaklanabilir. Bu faktörler eksik veya belirsiz okumalara yol açarak örneklerde belirli tür veya alt tiplerin atanmasını güçleştirebilir. Bununla birlikte yüksek genetik çeşitlilik gösteren RV'ler, özellikle yeni alt tiplerin sürekli keşfi düşünüldüğünde veri tabanlarında halihazırda yer alan referans dizilerin bu çeşitliliği temsil edememesi olasıdır.

Rhinoviruslar üzerine yapılan bu çalışmadan elde edilen verilere rağmen bulguların geçerliliğini ve güvenilirliğini etkileyebilecek olan içsel sınırlamaları bildirmek önemlidir. İlk olarak bu çalışma, daha önce toplanan hasta örneklerine ve ilişkili verilere dayanan retrospektif bir çalışmadır. Laboratuvar protokolleri, örneklerin mevcudiyeti veya klinik endikasyonlara bağlı olarak belirli örnekler hariç tutulabilir. Diğer bir önemli sınırlama küçük örneklem büyüklüğüdür. Analizlerin istatistiksel gücünü sınırlayan bu durum hata riskini artırabilir. Kapsamlı klinik verilerin olmaması bu çalışmayı sınırlayan faktörlerdendir. Semptom süresi ve şiddeti, komorbiditeler ve tedavi planları gibi klinik bilgiler, RV türlerinin yol açtığı klinik etki ve sonuçları ilişkilendirerek daha iyi anlaşılmasını sağlayabilir. RV türlerinin dağılımını etkileyebilecek olan coğrafi alanın sınırlı olması ise alt tip çeşitliliğinin ve prevalansının yansıtılamama olasılığını düşündürmektedir (Adam ve ark., 2021; van der Linden ve ark., 2016).

Bu çalışma, Güney Marmara bölgesinde yer alan üçüncü basamak bir hastane olan Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yürütülen, ülkemizde COVID-19 pandemisi devam ederken RV tiplendirmesi yapan, dolaşımını gösteren ve Güney Marmara Bölgesi'nde RV alt tipleri ilk kez tanımlayan çalışmadır. RV-A için 16, RV-B için 3, RV-C için 12 farklı alt tip olmak üzere toplam 31 farklı alt tip tespit edildi. RV-A, dört mevsimde de tespit edildi. RV-C enfeksiyonları sıklıkla sonbaharda meydana geldi ($p<0,05$). RV-B yalnızca ilkbahar

ve sonbaharda tespit edildi. RV-A enfeksiyonlarının daha erken ($p<0,05$), RV-C enfeksiyonlarının ise daha geç yaşlarda görüldüğü tespit edildi ($p<0,05$). RV-A özellikle iki yaş altı çocuklarda sık görülürken, RV-C'nin okul çağı çocuklarda ve erişkin yaş grubunda görüldüğü tespit edildi. RV alt tiplerinin ve dağılımının, pandemi öncesi ülkemizde yapılan çalışmalarla benzerlik gösterdiği ve pandemiden etkilenmediği tespit edildi. Sonuçlar, moleküler yöntemlerle nazofaringeal sürüntü örneklerinde RV türlerinin dağılımı hakkında bilgi sağlayarak mevcut moleküler epidemiyolojik çalışmalara katkıda bulunmaktadır ve RV enfeksiyonlarının dinamiklerini ve insan sağlığı üzerindeki etkisini aydınlatmayı amaçlayan ileri çalışmalar için bir temel sağlamaktadır. Gelecekteki araştırma çabaları, RV enfeksiyonlarının genetik çeşitliliği ve moleküler epidemiyolojisinin daha kapsamlı anlaşılmasını sağlayarak RV tiplendirmesinin doğruluğunu ve şeffaflığını iyileştirmek için gelişmiş dizileme teknolojilerini dahil etmeye ve referans veri tabanlarını genişletmeye odaklanmalıdır.

6.KAYNAKLAR

- Aab, A., Wirz, O., van de Veen, W., Söllner, S., Stanic, B., Rückert, B., ... Akdis, M. (2017). Human rhinoviruses enter and induce proliferation of B lymphocytes. *Allergy*, 72(2), 232–243. <https://doi.org/10.1111/all.12931>
- Adam, D. C., Chen, X., Scotch, M., MacIntyre, C. R., Dwyer, D., & Kok, J. (2021). The Molecular Epidemiology and Clinical Phylogenetics of Rhinoviruses Among Paediatric Cases in Sydney, Australia. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*, 110, 69–74. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.06.046>
- Agca, H., Akalin, H., Saglik, I., Hacimustafaoglu, M., Celebi, S., & Ener, B. (2021). Changing epidemiology of influenza and other respiratory viruses in the first year of COVID-19 pandemic. *Journal of infection and public health*, 14(9), 1186–1190. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.08.004>
- Allan, G. M., & Arroll, B. (2014). Prevention and treatment of the common cold: making sense of the evidence. *CMAJ: Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne*, 186(3), 190–199. <https://doi.org/10.1503/cmaj.121442>
- Amineva, S. P., Aminev, A. G., Gern, J. E., & Palmenberg, A. C. (2011). Comparison of rhinovirus A infection in human primary epithelial and HeLa cells. *The Journal of general virology*, 92(Pt 11), 2549–2557. <https://doi.org/10.1099/vir.0.031302-0>
- Andries, K., Dewindt, B., Snoeks, J., Wouters, L., Moereels, H., Lewi, P. J., & Janssen, P. A. (1990). Two groups of rhinoviruses revealed by a panel of antiviral compounds present sequence divergence and differential pathogenicity. *Journal of virology*, 64(3), 1117–1123. <https://doi.org/10.1128/JVI.64.3.1117-1123.1990>
- Arakawa, M., Okamoto-Nakagawa, R., Toda, S., Tsukagoshi, H., Kobayashi, M., Ryo, ... Kimura, H. (2012). Molecular epidemiological study of human rhinovirus species A, B and C from patients with acute respiratory illnesses in Japan. *Journal of medical microbiology*, 61(Pt 3), 410–419. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.035006-0>
- Arruda, E., Crump, C. E., Rollins, B. S., Ohlin, A., & Hayden, F. G. (1996). Comparative susceptibilities of human embryonic fibroblasts and HeLa cells for isolation of human rhinoviruses. *Journal of clinical microbiology*, 34(5), 1277–1279. <https://doi.org/10.1128/jcm.34.5.1277-1279.1996>
- Baillie, V. L., Moore, D. P., Mathunjwa, A., Morailane, P., Simões, E. A. F., & Madhi, S. A. (2019). Molecular Subtyping of Human Rhinovirus in Children from Three Sub-Saharan African Countries. *Journal of clinical microbiology*, 57(9), e00723-19. <https://doi.org/10.1128/JCM.00723-19>
- Bartlett, N., Wark, P., & Knight, D. (2019). *Rhinovirus Infections: Rethinking the Impact on Human Health and Disease* (1st ed.). Academic Press.
- Behbehani, A. M., & Lee, L. H. (1964). Growth, Plaque Production, And Cationic Stabilization Of Rhinovirus Type 1 (Echovirus 28). *Journal of bacteriology*, 88(6), 1608–1611. <https://doi.org/10.1128/jb.88.6.1608-1611.1964>
- Bizzintino, J., Lee, W. M., Laing, I. A., Vang, F., Pappas, T., Zhang, G., ... Le Souëf, P. N. (2011). Association between human rhinovirus C and severity of acute

- asthma in children. *The European respiratory journal*, 37(5), 1037–1042. <https://doi.org/10.1183/09031936.00092410>
- Blaas D. (2016). Viral entry pathways: the example of common cold viruses. Wege des Viruseintritts: am Beispiel der Erkältungsviren. *Wiener medizinische Wochenschrift (1946)*, 166(7-8), 211–226. <https://doi.org/10.1007/s10354-016-0461-2>
- Bochkov, Y. A., Palmenberg, A. C., Lee, W. M., Rathe, J. A., Amineva, S. P., Sun, X., ... Gern, J. E. (2011). Molecular modeling, organ culture and reverse genetics for a newly identified human rhinovirus C. *Nature medicine*, 17(5), 627–632. <https://doi.org/10.1038/nm.2358>
- Bochkov, Y. A., Watters, K., Ashraf, S., Griggs, T. F., Devries, M. K., Jackson, D. J., ... Gern, J. E. (2015). Cadherin-related family member 3, a childhood asthma susceptibility gene product, mediates rhinovirus C binding and replication. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(17), 5485–5490. <https://doi.org/10.1073/pnas.1421178112>
- Bryant, N., & Muehling, L. M. (2022). T-cell responses in asthma exacerbations. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*, 129(6), 709–718. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2022.07.027>
- Cafferkey, J., Coultas, J. A., & Mallia, P. (2020). Human rhinovirus infection and COPD: role in exacerbations and potential for therapeutic targets. *Expert review of respiratory medicine*, 14(8), 777–789. <https://doi.org/10.1080/17476348.2020.1764354>
- Casanova, V., Sousa, F. H., Stevens, C., & Barlow, P. G. (2018). Antiviral therapeutic approaches for human rhinovirus infections. *Future virology*, 13(7), 505–518. <https://doi.org/10.2217/fvl-2018-0016>
- Choi, T., Devries, M., Bacharier, L. B., Busse, W., Camargo, C. A., Jr, Cohen, R., ... Bochkov, Y. A. (2021). Enhanced Neutralizing Antibody Responses to Rhinovirus C and Age-Dependent Patterns of Infection. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 203(7), 822–830. <https://doi.org/10.1164/rccm.202010-3753OC>
- Chow, E. J., Casto, A. M., Roychoudhury, P., Han, P. D., Xie, H., Pfau, B., ... Chu, H. Y. (2022). The Clinical and Genomic Epidemiology of Rhinovirus in Homeless Shelters-King County, Washington. *The Journal of infectious diseases*, 226(Suppl 3), S304–S314. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiac239>
- Chow, E. J., Uyeki, T. M., & Chu, H. Y. (2023). The effects of the COVID-19 pandemic on community respiratory virus activity. *Nature reviews. Microbiology*, 21(3), 195–210. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00807-9>
- Civljak, R., Tot, T., Falsey, A. R., Huljev, E., Vranes, J., & Ljubic-Sternak, S. (2019). Viral pathogens associated with acute respiratory illness in hospitalized adults and elderly from Zagreb, Croatia, 2016 to 2018. *Journal of medical virology*, 91(7), 1202–1209. <https://doi.org/10.1002/jmv.25437>
- Cohen, C., Walaza, S., Moyes, J., Groome, M., Tempia, S., Pretorius, M., ... Madhi, S. A. (2015). Epidemiology of viral-associated acute lower respiratory tract infection among children <5 years of age in a high HIV prevalence setting, South Africa, 2009-2012. *The Pediatric infectious disease journal*, 34(1), 66–72. <https://doi.org/10.1097/INF.0000000000000478>

- Current ICTV Taxonomy Release, (2022). Erişim adresi: <https://ictv.global/taxonomy>
- Dagher, H., Donninger, H., Hutchinson, P., Ghildyal, R., & Bardin, P. (2004). Rhinovirus detection: comparison of real-time and conventional PCR. *Journal of virological methods*, 117(2), 113–121. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2004.01.003>
- de Almeida, M. B., Zerbinati, R. M., Tateno, A. F., Oliveira, C. M., Romão, R. M., Rodrigues, J. C., ... da Silva Filho, L. V. (2010). Rhinovirus C and respiratory exacerbations in children with cystic fibrosis. *Emerging infectious diseases*, 16(6), 996–999. <https://doi.org/10.3201/eid1606.100063>
- De Clercq, E., & Li, G. (2016). Approved Antiviral Drugs over the Past 50 Years. *Clinical microbiology reviews*, 29(3), 695–747. <https://doi.org/10.1128/CMR.00102-15>
- Dee, K., Goldfarb, D. M., Haney, J., Amat, J. A. R., Herder, V., Stewart, M., ... Murcia, P. R. (2021). Human Rhinovirus Infection Blocks Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Replication Within the Respiratory Epithelium: Implications for COVID-19 Epidemiology. *The Journal of infectious diseases*, 224(1), 31–38. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiab147>
- DeGeorge, K. C., Ring, D. J., & Dalrymple, S. N. (2019). Treatment of the Common Cold. *American family physician*, 100(5), 281–289.
- Demirkan, N. E. (2016). *Akut solunum yolu enfeksiyonlarında rinovirusların genotiplendirilmesi* [Uzmanlık tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi].
- Demirkan, E., Kırdar, S., Ceylan, E., Yenigün, A., & Kurt Ömürlü, İ. (2017). Akut solunum yolu enfeksiyonlu çocuk ve erişkin hastalarda rinovirüs genotiplerinin belirlenmesi [Genotypes of rhinoviruses in children and adults patients with acute respiratory tract infections]. *Mikrobiyoloji bulteni*, 51(4), 350–360. <https://doi.org/10.5578/mb.61820>
- Djukanović, R., Harrison, T., Johnston, S. L., Gabbay, F., Wark, P., Thomson, N. C., ... INTERCIA Study Group (2014). The effect of inhaled IFN- β on worsening of asthma symptoms caused by viral infections. A randomized trial. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 190(2), 145–154. <https://doi.org/10.1164/rccm.201312-2235OC>
- Duechler, M., Skern, T., Sommergruber, W., Neubauer, C., Gruendler, P., Fogy, I., ... Kuechler, E. (1987). Evolutionary relationships within the human rhinovirus genus: comparison of serotypes 89, 2, and 14. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 84(9), 2605–2609. <https://doi.org/10.1073/pnas.84.9.2605>
- Edwards, M. R., Ritchie, A. I., & Johnston, S. L. (2019). Exacerbations of chronic respiratory diseases. *Rhinovirus Infections*, 137–168. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816417-4.00006-8>
- Elabbadi, A., Pichon, J., Visseaux, B., Schnuriger, A., Bouadma, L., Philippot, Q., ... Voiriot, G. (2020). Respiratory virus-associated infections in HIV-infected adults admitted to the intensive care unit for acute respiratory failure: a 6-year bicenter retrospective study (*HIV-VIR study*). *Annals of intensive care*, 10, 123. <https://doi.org/10.1186/s13613-020-00738-9>
- Esneau, C., Bartlett, N., and Bochkov, Y. A. (2019). Rhinovirus Infections. Cambridge: Academic Press, 1–23.

- Esneau, C., Duff, A. C., & Bartlett, N. W. (2022). Understanding Rhinovirus Circulation and Impact on Illness. *Viruses*, 14(1), 141. <https://doi.org/10.3390/v14010141>
- Foxman, E. F., Storer, J. A., Fitzgerald, M. E., Wasik, B. R., Hou, L., Zhao, H., ... Iwasaki, A. (2015). Temperature-dependent innate defense against the common cold virus limits viral replication at warm temperature in mouse airway cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(3), 827–832. <https://doi.org/10.1073/pnas.1411030112>
- Fry, A. M., Lu, X., Olsen, S. J., Chittaganpitch, M., Sawatwong, P., Chantira, S., ... Erdman, D. (2011). Human rhinovirus infections in rural Thailand: epidemiological evidence for rhinovirus as both pathogen and bystander. *PloS one*, 6(3), e17780. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017780>
- Fuchs, R., & Blaas, D. (2010). Uncoating of human rhinoviruses. *Reviews in medical virology*, 20(5), 281–297. <https://doi.org/10.1002/rmv.654>
- George, S. N., Garcha, D. S., Mackay, A. J., Patel, A. R., Singh, R., Sapsford, R. J., ... Wedzicha, J. A. (2014). Human rhinovirus infection during naturally occurring COPD exacerbations. *The European respiratory journal*, 44(1), 87–96. <https://doi.org/10.1183/09031936.00223113>
- Gerber, K., Wimmer, E., & Paul, A. V. (2001). Biochemical and genetic studies of the initiation of human rhinovirus 2 RNA replication: identification of a cis-replicating element in the coding sequence of 2A(pro). *Journal of virology*, 75(22), 10979–10990. <https://doi.org/10.1128/JVI.75.22.10979-10990.2001>
- Gern, J. E., Vrtis, R., Grindle, K. A., Swenson, C., & Busse, W. W. (2000). Relationship of upper and lower airway cytokines to outcome of experimental rhinovirus infection. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 162(6), 2226–2231. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.162.6.2003019>
- Giardina, F. A. M., Piralla, A., Ferrari, G., Zavaglio, F., Cassaniti, I., & Baldanti, F. (2022). Molecular Epidemiology of Rhinovirus/Enterovirus and Their Role on Cause Severe and Prolonged Infection in Hospitalized Patients. *Microorganisms*, 10(4), 755. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040755>
- Goffard, A., Lambert, V., Salleron, J., Herwegh, S., Engelmann, I., Pinel, C., ... Delhaes, L. (2014). Virus and cystic fibrosis: rhinoviruses are associated with exacerbations in adult patients. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 60(2), 147–153. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2014.02.005>
- Guan, L., Zhao, L. Q., Zhou, H. Y., Nie, K., Li, X. N., Zhang, D., ... Ma, X. J. (2016). Reverse transcription genome exponential amplification reaction assay for rapid and universal detection of human rhinoviruses. *Archives of virology*, 161(7), 1891–1898. <https://doi.org/10.1007/s00705-016-2858-z>
- Güney, H. N. (2017). *Solunum yolu örneklerinde rhinovirusların genotiplendirilmesi* [Uzmanlık tezi, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi].
- Hadfield, A. T., Lee, W. m, Zhao, R., Oliveira, M. A., Minor, I., Rueckert, R. R., & Rossmann, M. G. (1997). The refined structure of human rhinovirus 16 at 2.15 Å resolution: implications for the viral life cycle. *Structure (London, England : 1993)*, 5(3), 427–441. [https://doi.org/10.1016/s0969-2126\(97\)00199-8](https://doi.org/10.1016/s0969-2126(97)00199-8)
- Hai, leT., Bich, V. T., Ngai, leK., Diep, N. T., Phuc, P. H., Hung, V. P., Taylor, W. R., Horby, P., Liem, N. T., & Wertheim, H. F. (2012). Fatal respiratory infections

- associated with rhinovirus outbreak, Vietnam. *Emerging infectious diseases*, 18(11), 1886–1888. <https://doi.org/10.3201/eid1811.120607>
- Hallmann-Mikołajczak A. (2004). Papyrus Ebersa. Księga wiedzy medycznej egipcjan z XVI w P.N.E [Ebers Papyrus. The book of medical knowledge of the 16th century B.C. Egyptians]. *Archiwum historii i filozofii medycyny*, 67(1), 5–14.
- Hamparian, V. V., Colonno, R. J., Cooney, M. K., Dick, E. C., Gwaltney, J. M., Jr, Hughes, J. H., Jordan, W. S., Jr, Kapikian, A. Z., Mogabgab, W. J., & Monto, A. (1987). A collaborative report: rhinoviruses--extension of the numbering system from 89 to 100. *Virology*, 159(1), 191–192. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(87\)90367-9](https://doi.org/10.1016/0042-6822(87)90367-9)
- Haranaga, S., Kinjo, T., Tateyama, M., & Fujita, J. (2014). Rhinovirus pneumonia in a patient infected with HIV. *Internal medicine (Tokyo, Japan)*, 53(17), 2027–2028. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.53.2827>
- Harris, J. M., 2nd, & Gwaltney, J. M., Jr (1996). Incubation periods of experimental rhinovirus infection and illness. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 23(6), 1287–1290. <https://doi.org/10.1093/clinids/23.6.1287>
- Hatchwell, L., Collison, A., Girkin, J., Parsons, K., Li, J., Zhang, J., Phipps, S., Knight, D., Bartlett, N. W., Johnston, S. L., Foster, P. S., Wark, P. A., & Mattes, J. (2015). Toll-like receptor 7 governs interferon and inflammatory responses to rhinovirus and is suppressed by IL-5-induced lung eosinophilia. *Thorax*, 70(9), 854–861. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2014-205465>
- Heid, C. A., Stevens, J., Livak, K. J., & Williams, P. M. (1996). Real time quantitative PCR. *Genome research*, 6(10), 986–994. <https://doi.org/10.1101/gr.6.10.986>
- Howley, P. M., Knipe, D. M., & Whelan, S. P. J. (2020). *Fields Virology: Emerging Viruses* (7th ed.). LWW.
- Hung, I. F., Zhang, A. J., To, K. K., Chan, J. F., Zhu, S. H., Zhang, R., ... Yuen, K. Y. (2017). Unexpectedly Higher Morbidity and Mortality of Hospitalized Elderly Patients Associated with Rhinovirus Compared with Influenza Virus Respiratory Tract Infection. *International journal of molecular sciences*, 18(2), 259. <https://doi.org/10.3390/ijms18020259>
- Hung, M., Gibbs, C. S., & Tsiang, M. (2002). Biochemical characterization of rhinovirus RNA-dependent RNA polymerase. *Antiviral research*, 56(2), 99–114. [https://doi.org/10.1016/s0166-3542\(02\)00101-8](https://doi.org/10.1016/s0166-3542(02)00101-8)
- Hyypiä, T., Puhakka, T., Ruuskanen, O., Mäkelä, M., Arola, A., & Arstila, P. (1998). Molecular diagnosis of human rhinovirus infections: comparison with virus isolation. *Journal of clinical microbiology*, 36(7), 2081–2083. <https://doi.org/10.1128/JCM.36.7.2081-2083.1998>
- Igarashi, Y., Skoner, D. P., Doyle, W. J., White, M. V., Fireman, P., & Kaliner, M. A. (1993). Analysis of nasal secretions during experimental rhinovirus upper respiratory infections. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 92(5), 722–731. [https://doi.org/10.1016/0091-6749\(93\)90016-9](https://doi.org/10.1016/0091-6749(93)90016-9)
- Ishiko, H., Miura, R., Shimada, Y., Hayashi, A., Nakajima, H., Yamazaki, S., & Takeda, N. (2002). Human rhinovirus 87 identified as human enterovirus 68 by VP4-based molecular diagnosis. *Intervirology*, 45(3), 136–141. <https://doi.org/10.1159/000065866>
- Jackson, D. J., Makrinioti, H., Rana, B. M., Shamji, B. W., Trujillo-Torralbo, M. B., Footitt, J., ... Johnston, S. L. (2014). IL-33-dependent type 2 inflammation

- during rhinovirus-induced asthma exacerbations in vivo. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 190(12), 1373–1382. <https://doi.org/10.1164/rccm.201406-1039OC>
- Jacobs, S. E., Lamson, D. M., Soave, R., Guzman, B. H., Shore, T. B., Ritchie, E. K., ... Walsh, T. J. (2015). Clinical and molecular epidemiology of human rhinovirus infections in patients with hematologic malignancy. *Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 71, 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2015.07.309>
- Jacobs, S. E., Lamson, D. M., St George, K., & Walsh, T. J. (2013). Human rhinoviruses. *Clinical microbiology reviews*, 26(1), 135–162. <https://doi.org/10.1128/CMR.00077-12>
- Jamieson, K. C., Warner, S. M., Leigh, R., & Proud, D. (2015). Rhinovirus in the Pathogenesis and Clinical Course of Asthma. *Chest*, 148(6), 1508–1516. <https://doi.org/10.1378/chest.15-1335>
- Jiang H, Yang T, Yang C, Lu Y, Yi Z, Zhang Q, Wang W. Molecular epidemiology and clinical characterization of human rhinoviruses circulating in Shanghai, 2012-2020. *Arch Virol*. 2022 Apr;167(4):1111-1123. doi: 10.1007/s00705-022-05405-x. Epub 2022 Mar 18. PMID: 35303167; PMCID: PMC8931777.
- Jorgensen, J. H., & Pfaller, M. A. (2015). *Manual of clinical microbiology* (11th ed., pp. 1551-1564). ASM Press. <https://doi.org/10.1128/9781555817381.ch89>
- Kainulainen, V., Elf, S., Susi, P., Mäki, M., Pitkäranta, A., Koskinen, J. O., ... Eboigbodin, K. E. (2019). Detection of human rhinoviruses by reverse transcription strand invasion based amplification method (RT-SIBA). *Journal of virological methods*, 263, 75–80. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2018.10.015>
- Kapikian, A. Z., Conant, R. M., Hamparian, V. V., Chanock, R. M., Dick, E. C., Gwaltney, J. M., ... Tyrrell, D. A. J. (1971). A collaborative report: Rhinoviruses—Extension of the numbering system. *Virology*, 43(2), 524–526. doi:10.1016/0042-6822(71)90329-1
- Katpally, U., Fu, T. M., Freed, D. C., Casimiro, D. R., & Smith, T. J. (2009). Antibodies to the buried N terminus of rhinovirus VP4 exhibit cross-serotypic neutralization. *Journal of virology*, 83(14), 7040–7048. <https://doi.org/10.1128/JVI.00557-09>
- Kennedy, J. L., Turner, R. B., Braciale, T., Heymann, P. W., & Borish, L. (2012). Pathogenesis of rhinovirus infection. *Current opinion in virology*, 2(3), 287–293. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2012.03.008>
- Khan, A. G., Pichler, J., Rosemann, A., & Blaas, D. (2007). Human rhinovirus type 54 infection via heparan sulfate is less efficient and strictly dependent on low endosomal pH. *Journal of virology*, 81(9), 4625–4632. <https://doi.org/10.1128/JVI.02160-06>
- Kiang, D., Kalra, I., Yagi, S., Louie, J. K., Boushey, H., Boothby, J., & Schnurr, D. P. (2008). Assay for 5' noncoding region analysis of all human rhinovirus prototype strains. *Journal of clinical microbiology*, 46(11), 3736–3745. <https://doi.org/10.1128/JCM.00674-08>
- Kim, J. H., Jang, J. Y., & Jang, Y. J. (2021). Human rhinovirus serotypes induces different immune responses. *Virology journal*, 18(1), 232. <https://doi.org/10.1186/s12985-021-01701-1>

- Kirchberger, S., Majdic, O., & Stockl, J. (2007). Modulation of the immune system by human rhinoviruses. *International archives of allergy and immunology*, 142(1), 1–10. <https://doi.org/10.1159/000095993>
- Kling, S., Donninger, H., Williams, Z., Vermeulen, J., Weinberg, E., Latiff, K., ... Bardin, P. (2005). Persistence of rhinovirus RNA after asthma exacerbation in children. *Clinical and experimental allergy: journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 35(5), 672–678. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2005.02244.x>
- Korpi-Steiner, N. L., Valkenaar, S. M., Bates, M. E., Evans, M. D., Gern, J. E., & Bertics, P. J. (2010). Human monocytic cells direct the robust release of CXCL10 by bronchial epithelial cells during rhinovirus infection. *Clinical and experimental allergy: journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 40(8), 1203–1213. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2010.03546.x>
- Krammer, S., Yang, Z., Mitl nder, H., Grund, J. C., Trump, S., Mittler, S., ... Finotto, S. (2022). Rhinovirus Suppresses TGF- -GARP Presentation by Peripheral NK Cells. *Cells*, 12(1), 129. <https://doi.org/10.3390/cells12010129>
- Laine, P., Savolainen, C., Blomqvist, S., & Hovi, T. (2005). Phylogenetic analysis of human rhinovirus capsid protein VP1 and 2A protease coding sequences confirms shared genus-like relationships with human enteroviruses. *The Journal of general virology*, 86(Pt 3), 697–706. <https://doi.org/10.1099/vir.0.80445-0>
- Lamson, D., Renwick, N., Kapoor, V., Liu, Z., Palacios, G., Ju, J., ... Lipkin, W. I. (2006). MassTag polymerase-chain-reaction detection of respiratory pathogens, including a new rhinovirus genotype, that caused influenza-like illness in New York State during 2004-2005. *The Journal of infectious diseases*, 194(10), 1398–1402. <https://doi.org/10.1086/508551>
- Landry, J. J., Pyl, P. T., Rausch, T., Zichner, T., Tekkedil, M. M., St tz, A. M., ... Steinmetz, L. M. (2013). The genomic and transcriptomic landscape of a HeLa cell line. *G3 (Bethesda, Md.)*, 3(8), 1213–1224. <https://doi.org/10.1534/g3.113.005777>
- Lau, C., Wang, X., Song, L., North, M., Wiehler, S., Proud, D., & Chow, C. W. (2008). Syk associates with clathrin and mediates phosphatidylinositol 3-kinase activation during human rhinovirus internalization. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 180(2), 870–880. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.180.2.870>
- Lau, S. K., Yip, C. C., Lin, A. W., Lee, R. A., So, L. Y., Lau, Y. L., ... Yuen, K. Y. (2009). Clinical and molecular epidemiology of human rhinovirus C in children and adults in Hong Kong reveals a possible distinct human rhinovirus C subgroup. *The Journal of infectious diseases*, 200(7), 1096–1103. <https://doi.org/10.1086/605697>
- Lee, W. M., Kiesner, C., Pappas, T., Lee, I., Grindle, K., Jartti, T., ... Gern, J. E. (2007). A diverse group of previously unrecognized human rhinoviruses are common causes of respiratory illnesses in infants. *PloS one*, 2(10), e966. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000966>
- Lee, W. M., Lemanske, R. F., Jr, Evans, M. D., Vang, F., Pappas, T., Gangnon, R., ... Gern, J. E. (2012). Human rhinovirus species and season of infection determine

- illness severity. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 186(9), 886–891. <https://doi.org/10.1164/rccm.201202-0330OC>
- Leotte, J., Trombetta, H., Faggion, H. Z., Almeida, B. M., Nogueira, M. B., Vidal, L. R., & Raboni, S. M. (2017). Impact and seasonality of human rhinovirus infection in hospitalized patients for two consecutive years. *Jornal de pediatria*, 93(3), 294–300. <https://doi.org/10.1016/j.jped.2016.07.004>
- L'Huillier, A. G., Kaiser, L., Petty, T. J., Kilowoko, M., Kyungu, E., Hongoa, P., ... Tapparel, C. (2015). Molecular Epidemiology of Human Rhinoviruses and Enteroviruses Highlights Their Diversity in Sub-Saharan Africa. *Viruses*, 7(12), 6412–6423. <https://doi.org/10.3390/v7122948>
- Li, W., Yu, B., Zhou, J., Wang, Y., Xue, B., Pan, J., ... Li, H. (2021). Genetic diversity and epidemiology of human rhinovirus among children with severe acute respiratory tract infection in Guangzhou, China. *Virology journal*, 18(1), 174. <https://doi.org/10.1186/s12985-021-01645-6>
- Lopes, G. P., Amorim, Í. P. S., Melo, B. O., Maramaldo, C. E. C., Bomfim, M. R. Q., Lima Neto, L. G., ... Falcai, A. (2020). Identification and seasonality of rhinovirus and respiratory syncytial virus in asthmatic children in tropical climate. *Bioscience reports*, 40(9), BSR20200634. <https://doi.org/10.1042/BSR20200634>
- Lu, Q. B., Wo, Y., Wang, L. Y., Wang, H. Y., Huang, D. D., Zhang, X. A., ... Cao, W. C. (2014). Molecular epidemiology of human rhinovirus in children with acute respiratory diseases in Chongqing, China. *Scientific reports*, 4, 6686. <https://doi.org/10.1038/srep06686>
- Lu, X., Holloway, B., Dare, R. K., Kuypers, J., Yagi, S., Williams, J. V., ... Erdman, D. D. (2008). Real-time reverse transcription-PCR assay for comprehensive detection of human rhinoviruses. *Journal of clinical microbiology*, 46(2), 533–539. <https://doi.org/10.1128/JCM.01739-07>
- Mahony, J. B., Petrich, A., & Smieja, M. (2011). Molecular diagnosis of respiratory virus infections. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, 48(5-6), 217–249. <https://doi.org/10.3109/10408363.2011.640976>
- Mahony, J., Chong, S., Merante, F., Yaghoubian, S., Sinha, T., Lisle, C., & Janeczko, R. (2007). Development of a respiratory virus panel test for detection of twenty human respiratory viruses by use of multiplex PCR and a fluid microbead-based assay. *Journal of clinical microbiology*, 45(9), 2965–2970. <https://doi.org/10.1128/JCM.02436-06>
- Makris, S., & Johnston, S. (2018). Recent advances in understanding rhinovirus immunity. *F1000Research*, 7, F1000 Faculty Rev-1537. <https://doi.org/10.12688/f1000research.15337.1>
- Mallia, P., Message, S. D., Gielen, V., Contoli, M., Gray, K., Keadze, T., ... Johnston, S. L. (2011). Experimental rhinovirus infection as a human model of chronic obstructive pulmonary disease exacerbation. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 183(6), 734–742. <https://doi.org/10.1164/rccm.201006-0833OC>
- Marcone, D. N., Culasso, A., Carballal, G., Campos, R., & Echavarría, M. (2014). Genetic diversity and clinical impact of human rhinoviruses in hospitalized and outpatient children with acute respiratory infection, Argentina. *Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 61(4), 558–564. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2014.10.006>

- Martínez-Espinoza, I., & Guerrero-Plata, A. (2023). Current Landscape of IFN- λ : Induction, Inhibition, and Potential Clinical Applications to Treat Respiratory Viral Infections. *ImmunoHorizons*, 7(4), 265–272. <https://doi.org/10.4049/immunohorizons.2200010>
- McAllister, S. C., Schleiss, M. R., Arbefeville, S., Steiner, M. E., Hanson, R. S., Pollock, C., & Ferrieri, P. (2015). Epidemic 2014 enterovirus D68 cross-reacts with human rhinovirus on a respiratory molecular diagnostic platform. *PloS one*, 10(3), e0118529. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118529>
- McIntyre, C. L., Knowles, N. J., & Simmonds, P. (2013). Proposals for the classification of human rhinovirus species A, B and C into genotypically assigned types. *The Journal of general virology*, 94(Pt 8), 1791–1806. <https://doi.org/10.1099/vir.0.053686-0>
- McKnight K. L. (2003). The human rhinovirus internal cis-acting replication element (cre) exhibits disparate properties among serotypes. *Archives of virology*, 148(12), 2397–2418. <https://doi.org/10.1007/s00705-003-0177-7>
- McLean G. R. (2014). Developing a vaccine for human rhinoviruses. *Journal of vaccines & immunization*, 2(3), 16–20. <https://doi.org/10.14312/2053-1273.2014-3>
- McLean G. R. (2020). Vaccine strategies to induce broadly protective immunity to rhinoviruses. *Human vaccines & immunotherapeutics*, 16(3), 684–686. <https://doi.org/10.1080/21645515.2019.1661207>
- Miller, E. K., Khuri-Bulos, N., Williams, J. V., Shehabi, A. A., Faouri, S., Al Jundi, I., ... Halasa, N. B. (2009). Human rhinovirus C associated with wheezing in hospitalised children in the Middle East. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 46(1), 85–89. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2009.06.007>
- Morikawa, S., Kohdera, U., Hosaka, T., Ishii, K., Akagawa, S., Hiroi, S., & Kase, T. (2015). Seasonal variations of respiratory viruses and etiology of human rhinovirus infection in children. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 73, 14–19. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2015.10.001>
- Moriyama, M., Hugentobler, W. J., & Iwasaki, A. (2020). Seasonality of Respiratory Viral Infections. *Annual review of virology*, 7(1), 83–101. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-012420-022445>
- Mosser, A. G., Brockman-Schneider, R., Amineva, S., Burchell, L., Sedgwick, J. B., Busse, W. W., & Gern, J. E. (2002). Similar frequency of rhinovirus-infectible cells in upper and lower airway epithelium. *The Journal of infectious diseases*, 185(6), 734–743. <https://doi.org/10.1086/339339>
- Muehling, L. M., Mai, D. T., Kwok, W. W., Heymann, P. W., Pomés, A., & Woodfolk, J. A. (2016). Circulating Memory CD4⁺ T Cells Target Conserved Epitopes of Rhinovirus Capsid Proteins and Respond Rapidly to Experimental Infection in Humans. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 197(8), 3214–3224. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1600663>
- Nei M. and Kumar S. (2000). *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York.
- Neugebauer, F., Bergs, S., Liebert, U. G., & Hönemann, M. (2022). Human Rhinoviruses in Pediatric Patients in a Tertiary Care Hospital in Germany:

- Molecular Epidemiology and Clinical Significance. *Viruses*, 14(8), 1829. <https://doi.org/10.3390/v14081829>
- Niespodziana, K., Cabauatan, C. R., Pazderova, P., Vacal, P. C., Wortmann, J., Keller, W., ... Valenta, R. (2022). Identification of Epitopes on Rhinovirus 89 Capsid Proteins Capable of Inducing Neutralizing Antibodies. *International journal of molecular sciences*, 23(9), 5113. <https://doi.org/10.3390/ijms23095113>
- Olsen, S. J., Azziz-Baumgartner, E., Budd, A. P., Brammer, L., Sullivan, S., Pineda, R. F., ... Fry, A. M. (2020). Decreased Influenza Activity During the COVID-19 Pandemic- United States, Australia, Chile, and South Africa, 2020. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, 69(37), 1305–1309. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6937a6>
- Olsen, S. J., Winn, A. K., Budd, A. P., Prill, M. M., Steel, J., Midgley, C. M., ... Silk, B. J. (2021). Changes in Influenza and Other Respiratory Virus Activity During the COVID-19 Pandemic- United States, 2020-2021. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, 70(29), 1013–1019. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm7029a1>
- Palmenberg, A. C., Rathe, J. A., & Liggett, S. B. (2010). Analysis of the complete genome sequences of human rhinovirus. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 125(6), 1190–1201. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.04.010>
- Palmenberg, A. C., Spiro, D., Kuzmickas, R., Wang, S., Djikeng, A., Rathe, J. A., ... Liggett, S. B. (2009). Sequencing and analyses of all known human rhinovirus genomes reveal structure and evolution. *Science (New York, N.Y.)*, 324(5923), 55–59. <https://doi.org/10.1126/science.1165557>
- Pan, C. Y., Yagi, S., Padilla, T., Fei Fan Ng, T., Marine, R. L., Nix, W. A., & Wadford, D. A. (2018). Genome Sequences of Rhinovirus Genotype C56 Detected in Three Patients with Acute Respiratory Illness, California, 2016 to 2017. *Microbiology resource announcements*, 7(7), e00982-18. <https://doi.org/10.1128/MRA.00982-18>
- Papadopoulos, N. G., Sanderson, G., Hunter, J., & Johnston, S. L. (1999). Rhinoviruses replicate effectively at lower airway temperatures. *Journal of medical virology*, 58(1), 100–104. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9071\(199905\)58:1<100::aid-jmv16>3.0.co;2-d](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9071(199905)58:1<100::aid-jmv16>3.0.co;2-d)
- Papi, A., & Johnston, S. L. (1999). Rhinovirus infection induces expression of its own receptor intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) via increased NF-kappaB-mediated transcription. *The Journal of biological chemistry*, 274(14), 9707–9720. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.14.9707>
- Paul, A. V., van Boom, J. H., Filippov, D., & Wimmer, E. (1998). Protein-primed RNA synthesis by purified poliovirus RNA polymerase. *Nature*, 393(6682), 280–284. <https://doi.org/10.1038/30529>
- Peaper, D. R., & Landry, M. L. (2014). Laboratory diagnosis of viral infection. *Handbook of clinical neurology*, 123, 123–147. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53488-0.00005-5>
- Pelon, W., Mogabgab, W. J., Phillips, I. A., & Pierce, W. E. (1957). A cytopathogenic agent isolated from naval recruits with mild respiratory illnesses. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)*, 94(2), 262–267. <https://doi.org/10.3181/00379727-94-22915>

- Peltola, V., Waris, M., Osterback, R., Susi, P., Hyypiä, T., & Ruuskanen, O. (2008). Clinical effects of rhinovirus infections. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 43(4), 411–414. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2008.08.014>
- Pierangeli, A., Scagnolari, C., Selvaggi, C., Verzaro, S., Spina, M. T., Bresciani, E., ... Bertazzoni, G. (2011). Rhinovirus frequently detected in elderly adults attending an emergency department. *Journal of medical virology*, 83(11), 2043–2047. <https://doi.org/10.1002/jmv.22205>
- Piralla, A., Rovida, F., Campanini, G., Rognoni, V., Marchi, A., Locatelli, F., & Gerna, G. (2009). Clinical severity and molecular typing of human rhinovirus C strains during a fall outbreak affecting hospitalized patients. *Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 45(4), 311–317. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2009.04.016>
- Price, R. H. M., Graham, C., & Ramalingam, S. (2019). Association between viral seasonality and meteorological factors. *Scientific reports*, 9(1), 929. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37481-y>
- Price, W. H. (1956). The isolation of a new virus associated with respiratory clinical disease in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 42(12), 892–896. <https://doi.org/10.1073/pnas.42.12.892>
- Pritchard, A. L., Carroll, M. L., Burel, J. G., White, O. J., Phipps, S., & Upham, J. W. (2012). Innate IFNs and plasmacytoid dendritic cells constrain Th2 cytokine responses to rhinovirus: a regulatory mechanism with relevance to asthma. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 188(12), 5898–5905. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1103507>
- Ramazani, E., Emami, S. A., Tayarani-Najaran, N., Sahebkar, A., & Tayarani-Najaran, Z. (2021). Antiviral Plants in View of Avicenna's The Canon of Medicine and Modern Medicine Against Common Cold. *Advances in experimental medicine and biology*, 1328, 99–121. https://doi.org/10.1007/978-3-030-73234-9_7
- Ratjen, F., & Döring, G. (2003). Cystic fibrosis. *Lancet (London, England)*, 361(9358), 681–689. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)12567-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)12567-6)
- Rhinoviruses: Common Colds | CDC. (2023). Erişim adresi: <https://www.cdc.gov/ncird/rhinoviruses-common-cold.html>
- Rihkanen, H., Carpén, O., Roivainen, M., Vaheri, A., & Pitkäranta, A. (2004). Rhinovirus in adenoid tissue. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*, 68(7), 903–908. <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2004.02.005>
- Royston, L., & Tapparel, C. (2016). Rhinoviruses and Respiratory Enteroviruses: Not as Simple as ABC. *Viruses*, 8(1), 16. <https://doi.org/10.3390/v8010016>
- Saito, T., & Gale, M., Jr (2008). Differential recognition of double-stranded RNA by RIG-I-like receptors in antiviral immunity. *The Journal of experimental medicine*, 205(7), 1523–1527. <https://doi.org/10.1084/jem.20081210>
- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular biology and evolution*, 4(4), 406–425. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454>
- Sansone, M., Andersson, M., Brittain-Long, R., Andersson, L. M., Olofsson, S., Westin, J., & Lindh, M. (2013). Rhinovirus infections in western Sweden: a four-year molecular epidemiology study comparing local and globally appearing

- types. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 32(7), 947–954. <https://doi.org/10.1007/s10096-013-1832-x>
- Savolainen, C., Laine, P., Mulders, M. N., & Hovi, T. (2004). Sequence analysis of human rhinoviruses in the RNA-dependent RNA polymerase coding region reveals large within-species variation. *The Journal of general virology*, 85(Pt 8), 2271–2277. <https://doi.org/10.1099/vir.0.79897-0>
- Savolainen-Kopra, C., Blomqvist, S., Smura, T., Roivainen, M., Hovi, T., Kiang, D., ... Schnurr, D. P. (2009). 5' noncoding region alone does not unequivocally determine genetic type of human rhinovirus strains. *Journal of clinical microbiology*, 47(4), 1278–1280. <https://doi.org/10.1128/JCM.02130-08>
- Savolainen-Kopra, C., Korpela, T., Simonen-Tikka, M. L., Amiryousefi, A., Ziegler, T., Roivainen, M., & Hovi, T. (2012). Single treatment with ethanol hand rub is ineffective against human rhinovirus--hand washing with soap and water removes the virus efficiently. *Journal of medical virology*, 84(3), 543–547. <https://doi.org/10.1002/jmv.23222>
- Schieble, J. H., Fox, V. L., & Lennette, E. H. (1967). A probable new human picornavirus associated with respiratory diseases. *American journal of epidemiology*, 85(2), 297–310. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a120693>
- Slater, L., Bartlett, N. W., Haas, J. J., Zhu, J., Message, S. D., Walton, R. P., Sykes, A., Dahdaleh, S., Clarke, D. L., Belvisi, M. G., Kon, O. M., Fujita, T., Jeffery, P. K., Johnston, S. L., & Edwards, M. R. (2010). Co-ordinated role of TLR3, RIG-I and MDA5 in the innate response to rhinovirus in bronchial epithelium. *PLoS pathogens*, 6(11), e1001178. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001178>
- Stelzer-Braid, S., Liu, N., Doumit, M., D'Cunha, R., Belessis, Y., Jaffe, A., & Rawlinson, W. D. (2017). Association of rhinovirus with exacerbations in young children affected by cystic fibrosis: Preliminary data. *Journal of medical virology*, 89(8), 1494–1497. <https://doi.org/10.1002/jmv.24794>
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular biology and evolution*, 38(7), 3022–3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Tan, K. S., Ong, H. H., Yan, Y., Liu, J., Li, C., Ong, Y. K., Thong, K. T., Choi, H. W., Wang, D. Y., & Chow, V. T. (2018). In Vitro Model of Fully Differentiated Human Nasal Epithelial Cells Infected With Rhinovirus Reveals Epithelium-Initiated Immune Responses. *The Journal of infectious diseases*, 217(6), 906–915. <https://doi.org/10.1093/infdis/jix640>
- Tempia, S., Walaza, S., Bhiman, J. N., McMorrow, M. L., Moyes, J., Mkhencele, T., Meiring, S., Quan, V., Bishop, K., McAnerney, J. M., von Gottberg, A., Wolter, N., Du Plessis, M., Treurnicht, F. K., Hellferscee, O., Dawood, H., Naby, F., Variava, E., Siwele, C., Baute, N., ... Cohen, C. (2021). Decline of influenza and respiratory syncytial virus detection in facility-based surveillance during the COVID-19 pandemic, South Africa, January to October 2020. *Euro surveillance: bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*, 26(29), 2001600. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2021.26.29.2001600>
- Tijmsma, A., Franco, D., Tucker, S., Hilgenfeld, R., Froeyen, M., Leyssen, P., & Neyts, J. (2014). The capsid binder Vapendavir and the novel protease inhibitor SG85

- inhibit enterovirus 71 replication. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 58(11), 6990–6992. <https://doi.org/10.1128/AAC.03328-14>
- To, K. K., Lau, S. K., Chan, K. H., Mok, K. Y., Luk, H. K., Yip, C. C., Ma, Y. K., Sinn, L. H., Lam, S. H., Ngai, C. W., Hung, I. F., Chan, K. H., & Yuen, K. Y. (2016). Pulmonary and extrapulmonary complications of human rhinovirus infection in critically ill patients. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 77, 85–91. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2016.02.014>
- Torgersen, H., Skern, T., & Blaas, D. (1989). Typing of human rhinoviruses based on sequence variations in the 5' non-coding region. *The Journal of general virology*, 70 (Pt 11), 3111–3116. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-70-11-3111>
- Touabi, L., Aflatouni, F., & McLean, G. R. (2021). Mechanisms of Rhinovirus Neutralisation by Antibodies. *Viruses*, 13(3), 360. <https://doi.org/10.3390/v13030360>
- Triantafilou, K., Vakakis, E., Richer, E. A., Evans, G. L., Villiers, J. P., & Triantafilou, M. (2011). Human rhinovirus recognition in non-immune cells is mediated by Toll-like receptors and MDA-5, which trigger a synergetic pro-inflammatory immune response. *Virulence*, 2(1), 22–29. <https://doi.org/10.4161/viru.2.1.13807>
- Turner R. B. (2001). The treatment of rhinovirus infections: progress and potential. *Antiviral research*, 49(1), 1–14. [https://doi.org/10.1016/s0166-3542\(00\)00135-2](https://doi.org/10.1016/s0166-3542(00)00135-2)
- Turner R. B. (2007). Rhinovirus: more than just a common cold virus. *The Journal of infectious diseases*, 195(6), 765–766. <https://doi.org/10.1086/511829>
- Tyrrell, D. A. J., & Fielder, M. (2002). *Cold wars: The fight against the common cold* (1st ed., pp. 9-168). New York, Oxford University Press.
- Uncapher, C. R., DeWitt, C. M., & Colonno, R. J. (1991). The major and minor group receptor families contain all but one human rhinovirus serotype. *Virology*, 180(2), 814–817. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(91\)90098-v](https://doi.org/10.1016/0042-6822(91)90098-v)
- Valiente, L., López-Argüello, S., Rodríguez-Huete, A., Valbuena, A., & Mateu, M. G. (2022). Molecular Determinants of Human Rhinovirus Infection, Assembly, and Conformational Stability at Capsid Protein Interfaces. *Journal of virology*, 96(23), e0084022. <https://doi.org/10.1128/jvi.00840-22>
- van der Linden, L., Bruning, A. H., Thomas, X. V., Minnaar, R. P., Rebers, S. P., Schinkel, J., de Jong, M. D., Pajkrt, D., & Wolthers, K. C. (2016). A molecular epidemiological perspective of rhinovirus types circulating in Amsterdam from 2007 to 2012. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 22(12), 1002.e9–1002.e14. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.08.007>
- van der Linden, L., Wolthers, K. C., & van Kuppeveld, F. J. (2015). Replication and Inhibitors of Enteroviruses and Parechoviruses. *Viruses*, 7(8), 4529–4562. <https://doi.org/10.3390/v7082832>
- Vandini, S., Biagi, C., Fischer, M., & Lanari, M. (2019). Impact of Rhinovirus Infections in Children. *Viruses*, 11(6), 521. <https://doi.org/10.3390/v11060521>

- Varela, F. H., Sartor, I. T. S., Polese-Bonatto, M., Azevedo, T. R., Kern, L. B., Fazolo, T., de David, C. N., Zavaglia, G. O., Fernandes, I. R., Krauser, J. R. M., Stein, R. T., & Scotta, M. C. (2022). Rhinovirus as the main co-circulating virus during the COVID-19 pandemic in children. *Jornal de pediatria*, 98(6), 579–586. <https://doi.org/10.1016/j.jpmed.2022.03.003>
- Wark, P. A., Bucchieri, F., Johnston, S. L., Gibson, P. G., Hamilton, L., Mimica, J., Zummo, G., Holgate, S. T., Attia, J., Thakkestian, A., & Davies, D. E. (2007). IFN-gamma-induced protein 10 is a novel biomarker of rhinovirus-induced asthma exacerbations. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 120(3), 586–593. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2007.04.046>
- Wat, D., Gelder, C., Hibbitts, S., Cafferty, F., Bowler, I., Pierrepont, M., Evans, R., & Doull, I. (2008). The role of respiratory viruses in cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis: official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 7(4), 320–328. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2007.12.002>
- Watson, J. D., & Crick, F. H. (1953). Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171(4356), 737–738. <https://doi.org/10.1038/171737a0>
- Whiteman, S. C., Bianco, A., Knight, R. A., & Spiteri, M. A. (2003). Human rhinovirus selectively modulates membranous and soluble forms of its intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) receptor to promote epithelial cell infectivity. *The Journal of biological chemistry*, 278(14), 11954–11961. <https://doi.org/10.1074/jbc.M205329200>
- Wilkinson, T. M. A., Hurst, J. R., Perera, W. R., Wilks, M., Donaldson, G. C., & Wedzicha, J. A. (2006). Effect of interactions between lower airway bacterial and rhinoviral infection in exacerbations of COPD. *Chest*, 129(2), 317–324. <https://doi.org/10.1378/chest.129.2.317>
- Winther, B. (2011). Rhinovirus infections in the upper airway. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 8(1), 79–89. <https://doi.org/10.1513/pats.201006-039RN>
- Winther, B., Arruda, E., Witek, T. J., Marlin, S. D., Tsianco, M. M., Innes, D. J., & Hayden, F. G. (2002). Expression of ICAM-1 in nasal epithelium and levels of soluble ICAM-1 in nasal lavage fluid during human experimental rhinovirus infection. *Archives of otolaryngology--head & neck surgery*, 128(2), 131–136. <https://doi.org/10.1001/archotol.128.2.131>
- Winther, B., Greve, J. M., Gwaltney, J. M., Jr, Innes, D. J., Eastham, J. R., McClelland, A., & Hendley, J. O. (1997). Surface expression of intercellular adhesion molecule 1 on epithelial cells in the human adenoid. *The Journal of infectious diseases*, 176(2), 523–525. <https://doi.org/10.1086/517280>
- Winther, B., Gwaltney, J. M., Jr, Mygind, N., Turner, R. B., & Hendley, J. O. (1986). Sites of rhinovirus recovery after point inoculation of the upper airway. *JAMA*, 256(13), 1763–1767.
- Winther, B., McCue, K., Ashe, K., Rubino, J. R., & Hendley, J. O. (2007). Environmental contamination with rhinovirus and transfer to fingers of healthy individuals by daily life activity. *Journal of medical virology*, 79(10), 1606–1610. <https://doi.org/10.1002/jmv.20956>
- Wisdom, A., Leitch, E. C., Gaunt, E., Harvala, H., & Simmonds, P. (2009). Screening respiratory samples for detection of human rhinoviruses (HRVs) and enteroviruses: comprehensive VP4-VP2 typing reveals high incidence and

- genetic diversity of HRV species C. *Journal of clinical microbiology*, 47(12), 3958–3967. <https://doi.org/10.1128/JCM.00993-09>
- Yang, Y., Rijnbrand, R., McKnight, K. L., Wimmer, E., Paul, A., Martin, A., & Lemon, S. M. (2002). Sequence requirements for viral RNA replication and VPg uridylylation directed by the internal cis-acting replication element (cre) of human rhinovirus type 14. *Journal of virology*, 76(15), 7485–7494. <https://doi.org/10.1128/jvi.76.15.7485-7494.2002>
- Yuta, A., Doyle, W. J., Gaumond, E., Ali, M., Tamarkin, L., Baraniuk, J. N., Van Deusen, M., Cohen, S., & Skoner, D. P. (1998). Rhinovirus infection induces mucus hypersecretion. *The American journal of physiology*, 274(6), L1017–L1023. <https://doi.org/10.1152/ajplung.1998.274.6.L1017>
- Zeng, S. Z., Xiao, N. G., Xie, Z. P., Xie, G. C., Zhong, L. L., Wang, J., Huang, H., Zhang, B., & Duan, Z. J. (2014). Prevalence of human rhinovirus in children admitted to hospital with acute lower respiratory tract infections in Changsha, China. *Journal of medical virology*, 86(11), 1983–1989. <https://doi.org/10.1002/jmv.23861>
- Zhao, Y., Shen, J., Wu, B., Liu, G., Lu, R., & Tan, W. (2018). Genotypic Diversity and Epidemiology of Human Rhinovirus Among Children With Severe Acute Respiratory Tract Infection in Shanghai, 2013-2015. *Frontiers in microbiology*, 9, 1836. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01836>
- Zheng, S. Y., Wang, L. L., Ren, L., Luo, J., Liao, W., & Liu, E. M. (2018). Epidemiological analysis and follow-up of human rhinovirus infection in children with asthma exacerbation. *Journal of medical virology*, 90(2), 219–228. <https://doi.org/10.1002/jmv.24850>
- Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Li, X., Yang, B., Song, J., Zhao, X., Huang, B., Shi, W., Lu, R., Niu, P., Zhan, F., Ma, X., Wang, D., Xu, W., Wu, G., Gao, G. F., Tan, W., & China Novel Coronavirus Investigating and Research Team (2020). A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *The New England journal of medicine*, 382(8), 727–733. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017>
- Zitzmann, C., Dächert, C., Schmid, B., van der Schaar, H., van Hemert, M., Perelson, A. S., van Kuppeveld, F. J. M., Bartenschlager, R., Binder, M., & Kaderali, L. (2023). Mathematical modeling of plus-strand RNA virus replication to identify broad-spectrum antiviral treatment strategies. *PLoS computational biology*, 19(4), e1010423. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1010423>
- Zlateva, K. T., van Rijn, A. L., Simmonds, P., Coenjaerts, F. E. J., van Loon, A. M., Verheij, T. J. M., de Vries, J. J. C., Little, P., Butler, C. C., van Zwet, E. W., Goossens, H., Ieven, M., Claas, E. C. J., & GRACE Study Group (2020). Molecular epidemiology and clinical impact of rhinovirus infections in adults during three epidemic seasons in 11 European countries (2007-2010). *Thorax*, 75(10), 882–890. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2019-214317>

7. SİMGE ve KISALTMALAR

µl: Mikrolitre
µg: Mikrogram
µmol: Mikromol
mM: Milimolar
ml: Mililitre
nm: Nanometre
kDa: Kilodalton
kb: Kilobaz
bç: Baz çifti
°C: Santigrat (Celcius) derece
ABD: Amerika Birleşik Devletleri
ASYE: Akut Solunum Yolu Enfeksiyonu
BAL: Bronkoalveoler Lavaj
BAP: Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
CDHR-3: Cadherin Related Family Member-3, Cadherin İlişkili Aile Üyesi-3
cDNA: complementer DNA
COVID-19: Coronavirus Disease 2019
Cre: cis-etkili element
DNA: Deoksiribo nükleik asit
dNTP: Deoksinükleotit Trifosfat
dsRNA: double stranded, çift sarmal RNA
EV: Enterovirus
HBEC: Normal Primer İnsan Bronşiyal Epitel Hücreleri
HIV: Human Immunodeficiency Virus
ICAM-1: Intraselüler Adezyon Molekülü-1
ICTV: International Committee on Taxonomy of Viruses, Uluslararası Virus Taksonomi Komitesi
IFN: Interferon
IgG: Immunoglobulin G
IL: Interlokin
IP: Interferon Promoter
IRES: International Ribozomal Entery Site
KF: Kistik Fibroz
KOAH: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
LDLR: Düşük Dansiteli Lipoprotein Reseptör
LGP: Laboratory of Genetics and Physiology, Genetik ve Fizyoloji Laboratuvarı
MCP: Molecular Chaperone Protein, Moleküler Şaperon Proteini
MDA-5: Melanoma Farklılaşma-İlişkili Protein 5
MÖ: Milattan Önce
mRNA: Messenger, Mesajcı RNA
NF-κB: Nuclear Factor kappa B
NIAID: National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Ulusal Alerji ve Bulaşıcı Hastalıklar Enstitüsü
NK: Natural Killer
NOD: Nükleotid Bağlayıcı Oligomerizasyon Alanı
ORF: Open Reading Frame, Açık Okuma Çerçevesi

PAMP: Patojenle İlişkili Moleküler Paternler
PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PRR: Patojen Tanıma Reseptörleri
RANTES: Regulated upon Activation, Normal T-cell Expressed, and Secreted, Aktivasyon üzerine Düzenlenen, Normal T-hücresi Eksprese Edilen ve Salgılanan
RdRp: RNA'ya bağımlı RNA polimeraz
RFLP: Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
RIG: Retinoik Asitle İndüklenebilir Gen
RLR: RIG-I benzeri reseptörler
RNA: Ribonükleik asit
r-PCR: Real-Time PCR
RSV: Respiratuar Sinsityal Virüs
RT-PCR: Reverse Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RT-SIBA: Ters Transkripsiyon İpliği İnvazyon Tabanlı Amplifikasyon
RV: Rhinovirus
SARS-CoV-2: Şiddetli Akut Solunum Yolu Sendromu Koronavirüs 2
ssRNA: single stranded, tek sarmal RNA
TGF: Transforme Edici Büyüme Faktörü
TLR: Toll Benzeri Reseptör
TNF: Tümör Nekroz Faktör
UTR: Untranslated Region, Translasyona Uğramayan Bölge
VP: Viral Protein
VPg: Viral Priming Protein
VTM: Viral Taşıma Ortamı
WGS: Whole Genome Sequencing, Tüm Genom Dizileme
WHO: World Health Organization, Dünya Sağlık Örgütü

8.EKLER

EK1

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Solunum Yolu Örneklerinden Saptanan Rhinovirusların Moleküler Yöntemlerle Tiplendirilmesi: Retrospektif Bir Çalışma
-----------------------	---

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 2011-KAEK-26
	AÇIK ADRESİ	Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Rektörlük Binası Kat. I Görükle Kampüsü Nilüfer/ Bursa
	TELEFON	0.224. 295 00 20
	FAKS	0.224. 295 00 29
	E-POSTA	uukaek@uludag.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç.Dr.Harun Ağca (Proje yürütücüsü)
	SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
	YARDIMCI ARAŞTIRMACININ UNVANI/ADI/SOYADI	Yüksek lisans öğrencisi Beyza Tuner
	YARDIMCI ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
	DESTEKLEYİCİ	Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Retrospektif araştırma
	ARAŞTIRMANIN YAPILIŞ AMACI	Yüksek lisans tez çalışması
	ARAŞTIRMANIN BAŞLAMA TARİHİ/ SÜRESİ	04.04.2022 / 12 ay
	GÖNÜLLÜ/DOSYA SAYISI	80
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒ ÇOK MERKEZLİ ☐ ULUSAL ☒ ULUSLARARASI ☐

DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Dili
	GİRİŞİMSİZ OLMAYAN ARAŞTIRMALAR İÇİN BAŞVURU FORMU	26.01.2022	Türkçe

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama
	ARAŞTIRMA BÜTÇE FORMU	☒ Tarih:26.01.2022
	ARAŞTIRICILAR İÇİN TAAHHÜTNAMİ FORMU	☒ Tarih:26.01.2022
	PROSPEKTİF ÖZELLİKLI GİRİŞİMSİZ OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMA TAAHHÜTNAMESİ	☐
	IKU klavuzunun okunduğuna dair taahhütnamı	☐
	SONUÇ ÖZET RAPORU	☐
	DİĞER:	☒ Araştırma ilk başvuru ön yazısı (Tarih:26.01.2022), hasta listesi, sorumlu araştırmacı özgeçmişi, tüm araştırmacılar tarafından imzalanmış Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi, literatür

ASLI GİBİDİR.

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Solunum Yolu Örneklerinden Saptanan Rhinovirusların Moleküler Yöntemlerle Tiplendirilmesi: Retrospektif Bir Çalışma					
KARAR BİLGİLERİ		Karar No: 2022-4/15		Tarih: 23 Şubat 2022			
Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gereke, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelendi. 1-Araştırmanın başvurusu dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinin uygun olduğuna, 2-Araştırmanın başlama tarihinin bildirilmesi ve araştırma tamamlandığında özet bir sonuç raporunun hazırlanarak kurulumuza iletilmesine, 3-Araştırma protokolünde ve başvuru formunda yapılacak tüm değişiklikler için Etik Kuruldan izin alınması gerektiğinin sorumlu araştırmacılara iletilmesine toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.							
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU							
ÇALIŞMA ESASI		İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, Iyl Klinik Uygulamalar Kılavuzu					
BAŞKANIN UNVANI/ADI SOYADI		Prof.Dr.Mustafa HACIMUSTAFAOĞLU					
ÜYELER							
Ünvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile İlgili	Katılım *	İmza	
Prof.Dr.Mustafa HACIMUSTAFAOĞLU Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Bursa UÜ.Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐		
Prof.Dr.Elif BAŞAĞAN MOĞOL Başkan Yardımcısı	Anesteziyoloji	Bursa UÜ.Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐		
Prof.Dr.M.Serap YILMAZ Üye	Farmakoloji	Bursa UÜ.Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐		
Prof.Dr.Hüseyin ÖZKAN Üye	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Bursa UÜ.Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD Yenidoğan BD	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒		
Prof.Dr.Hüseyin ARI Üye	Kardiyoloji	Bursa Yüksek İhtisas EAH Kardiyoloji Kliniği	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐		
Doç.Dr.Alpazat TÖRKKAN Üye	Halk Sağlığı	Bursa UÜ. Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐		
Doç.Dr.Kağan HUYSAI Üye	Biyokimya	Bursa Yüksek İhtisas EAH Biyokimya	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐		
Doç.Dr.Özcan ÖZ GÜL Üye	İç Hastalıkları Endokr.ve Metab.	BÜÜ.Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD Endokrinoloji ve Metabolizma BD	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐		
Doktor Öğretim Üyesi Engin SAĞDİLEK Üye	Biyofizik	Bursa UÜ.Tıp Fakültesi Biyofizik AD	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐		
Doktor Öğretim Üyesi Senar ERER KAYA Üye	Tıp Tarihi ve Etik	Bursa UÜ.Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Etik AD.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐		
Av. Ahmet BAYRAM	Hukuk	Bursa UÜ.Rektörlüğü Hukuk Bürosu	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐		
Tolga MUHTAR Üye	Sağlık meseleği menasib olmayan üye	Serbesti Meslek	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐		

*Toplantıda Bulunma

ASLI GİBİDİR.



Referans Diziler. NCBI GenBank veritabanı kullanılarak elde edilmiştir.

EK2

>EU095996.1 Human rhinovirus 9 5' UTR

TGGGTTGTTCCCACTCAGATCTCCACGTGGAGTAGTACACTATTATTAC
GGTAATCTTGTACGCCAGTTTTATAATCCCCTTACCCAAGTAACTTAGAA
GATAAACACAAAGACCAATAGGAGATGATCATCCAGATCATCATAGGTC
AAGCACTTCTGTTTCCCCGGTCAAGGTTGATATGCTCTAACAGGGCAAAA
ACAGCTGAGATCGTTATCCGCAAAGCGCCTACGCAAAGCCTAGTAACTAT
CTGGAAGTTGCTTGGTTGGTCGCTCCGCCATATCCCATGGTAGACCTGGC
AGATGAGGCTAGAAATTCCCCACTGGTGACAGTGTCTAGCCTGCGTGGC
TGCCTGCACACCCTCTGGGTGTGAAACCAAGTAATGGACAGGGTGTGAA
GAGCCCCGTGTGCTCGCTTTGAGTCCTCCGGCCCCCTGAATGTGGCTAACCC
TTAACCTGTCAGCTAGGGCACACAATCCAGTGTGTATCTAGTCGTAATGA
GCAATTGCGGGATGGGACCAACTACTTTGGGTGTCCGTGTTTCTTGTTTTT
CTTTTATGTTTGCTTATGGTGACAATATATAGTAATATATGTTGGCAT

>FJ231281.1 Human rhinovirus 15 5' UTR

TATCCGCAAAGTGCCTACGCAAAGCCTAGTAATGCTTTCGAAGTCATTTG
GTTGGTCGCTCCGCTGTAACCCACAGTAGACCTGGCAGATGAGGCTAGA
AACTCCCCACTGGCGACAGTGTCTAGCCTGCGTGGCTGCCTGCACACCC
TTTGGGTGTGAAGCCAAATTACGGACAAGGTGTGAAGAGCCCCGTGTGC
TCACTTTGAGTCCTCCGGCCCCCTGAATGTGGCTAACCTTAACCCTGCAGC
TAGAGTGCACAATCCAGTGTATTTCTAGTCGTAATGAGCAATTGCGGGAT
GGGACA

>EU096009.1 Human rhinovirus 22 5' UTR

CCCCACCAGATCACCCAAGTGGTGTAGTGCTCTGTTATTTTCGGTAACCT
TGCACGCCAGTTTTATCACCCCTTCCCCACGTAACCTTAGAAGCTTTTAAAC
ACAGACCAATAGGGAGCGACAAACCAGTCGTGAAAGGTCAAGCACTTCT
GTTTCCCCGGTCAATGTTGATATGCTCCTCCAGGGCAAAAACAACAGCGA
TCGTTACCCGCAAGATGCCTACGCAAAGCTTAGTAATATCTTCGAAGATA
CTTGGTTGGTCGCTCATGTGCAACCCACGATTAGACCTGGCAGATGAGG
CTAGAAATTCCCCACTGGCGACAGTGTCTAGCCTGCGTGGCTGCCTGCA
CACCTAACGGGTGTGAAGCCAGTATTGGACAAGGTGTGAAGAGCCCC
GTGTGCTCATCTTGAGTCCTCCGGCCCCCTGAATGCGGCTAACCTTAAACC
TGCAGCCATTGCTCACAATCCAGTGAGTCTATGGTCGTAATGAGCAATTG
CGGGATGGGACCGACTACTTTGGGTGTCCGTGTTTCTCTTTTTTCCTTATA
TTTGAGCTTATGGTGACAAAATATAGTGATATATATG

>EU096027.1 Human rhinovirus 40 5' UTR

TGGGTTGTTCCCCCCTGGATTTCCTACATGGAAGTTGTACTCTGTTATTC
CGGTAACCTTGTACGCCAGTTTTATATCCCCCCCCATTGTAACCTTAGAAGT
TATGCATACAGACCAATAGGTGGTGATCCTCCAGATCACTAACGGTCAAG
CACTTCTGTTTCCCCGGTTTGAATTGATACGCTCCAACAGGGCGAAAACA
GTTTAAATCGTTATCCGCAAAGTGCCTACGCAAAGCCTAGTAGCACTTTA
GAAAATCTATGGTTGGTCGTTTCAGCTATACCCCTAGTGGACCTGGCAGA
TGAGGCTAGAAGTACCCCACTGGCGACAGTGTCTAGCCTGCGTGGCTGC

CTGCACACCCTTATGGGTGTGAAGCCATATATTTGACAAGGTGTGAAGAG
CCCCGTGTGCTCACTTTGAGTCCTCCGGCCCCCTGAATGTGGCTAACCTTA
ACCCTGCAGCTAGTGCAATCCAACATGTTGCTAGTCGTAATGAGCA
ATTGCGGGATGGGACCACTACTTTGGGTGTCCGTGTTTCACTTTTTCCTT
TTAATTTGCTTATGGGGACAATATATATATAACATATATATTGGCATCA

>EU126704.1 Human rhinovirus 41 5' UTR

CCCCGGTTCAGATTGATATGCTCCAACAGGGCAAAAACAACCTGGATCGT
TATCCGCAAGATGCCTACGCAGAACCTAGTATCACACTGGAAGATTCTCG
GTTGGTCGCTCAGTTACAACCCAGTAACAGACCTGGCAGATGAGGCTA
GAAATTCCCCACTGGCGACAGTGTTCTAGCCTGCGTGGCTGCCTGCACAC
CCGTTTGGGTGTGAAGCCTAGAATTGGACAGGGTGCGAAGAGTCGAGTG
TGCTCATCTTGAGTCCTCCGGCCCCCTGAATGCGGCTAA

>FJ594769.1 Human rhinovirus 45 strain TW/1879/08 5' UTR

TTCAAGCACTTCTGTTTCCCCGGTCAATCTGGATATGCTTTACCAAAGGC
AAAAACCGGAGCGATCGTTATCCGCAAGGTGCCTACGGGAAACCTAGTA
GCACTCTCTATTTGATCTGGTTAGTTGTTTCAGCCGTTAAACCCAAGCGGT
AAACCTGGCAGATGAGGCTGGAAAATCCCCACCAGCGATGGTGTTCCAG
CCTGCGTGGCTGCCTGCACACCCGAAAGGGTGTGAAGCCTTTTCAAAGAC
AGGGTGCGAAGAGTCTACTGTGCTCACCTTGATTCCTCCGGCCCCCTGAAT
GTGGCTAATCCTAACCCCGCAGCTGTAGTGTGCAATCCAGCACATTTGCA
GTCGTAACGGGTAACTGCGGGATGGAACCACTACTTTGGGTGTCCGTGA

>EU096042.1 Human rhinovirus 55 5' UTR

TTTTATCACCTTCCCCCATGTAACCTTAGAAGATGTACACTCAGACCAAT
AGGTGATAATCCTCCAGATTATCTAAGGTCAAGCACTTCTGTTTCCCCGG
TCTAAACTGATATGCTCCAACAGGGCAAAAACAGTGCAGATCGTTATCCG
CAGGATGCCTACGCAAAGTCTAGTAACCCCTTTGAAGATATTTGGTTGGT
CGCTCCACTATTCCCATAGTAGACCTGGCAGATGAGGCTAGAAATTCCC
CACTGGTGACAGTGTTCTAGCCTGCGTGGCTGCCTGCACACCCTATTGGG
TGTGAAGCCAAATATTGGACAAGGTGTGAAGAGCCCCGTGTGCTCATCCT
GAGTCCTCCGGCCCCCTGAATGTGGCTAACCTTAACCCTGCAGCTAGTGCA
TGCAATCCAGCATGTAGCTAGTCGTAATGAGCAATTGCGGGATGGGACC
AACTACTTTGGGTGTCCGTGTTTCACTTTTACCTTATATTTGCTTATGGT
GACAATATATATTGCATATATATTGGCATCA

>EU126719.1 Human rhinovirus 56 5' UTR

CCCCGGTCAAAGTTGATATGCTCTCCCCAGGGCAAAAACAATTGAGATCG
TTATCCGCAATGTGCCTACGCAAAGCCTAGTAATATCTTAGATGATATAT
GGTTGGTCGCTCCGCCATTTCCCATGGTAGACCTGGCAGATGAGGCTAGA
AACTCCCCACTAGCGACAGTGTTCTAGCCTGCGTGGCTGCCTGCGCACTC
TCTGAGTGCGAAGCCATATATTTGACAAGGTGTGAAGAGCCCCGTGTGCT
CACATTGAATCCTCCGGCCCCCTGAATGTGGCTAA

>EU126721.1 Human rhinovirus 58 5' UTR

CCCCGGTCAATGAGGATATGCTTTTCCCAAGGCAAAAACCTTAGAGATCG
TTATCCCCACATTGCCTACACAGAACCTAGTATCACCTTTGATGTATTTAG
ACTGGTCGCTCCCTGCAAACCCAGCAGTAGACCTGGCAGATGAGGCTGG
ACGTTCCCCACTGGCGACAGTGGTCCAGCCTGCGTGGCTGCCTGCCCACC
CATTTGGGTGGGAAGCCTAACTATTGACATGGTGTGAAGAGCCGCGTGTG
CTCAATGTGCCTCCTCCGGCCCCTGAATGTGGCTAA

>EU096046.1 Human rhinovirus 59 5' UTR

TTTTATAACCCCTCCCCTTTGTAACCTTAGAAGATGTAAACACAGACCAAT
AGGTGGTAACTAACCAAGTTACTAAAGGTCAAGCACTTCTGTTTCCCCGG
CTGATATTGATATGCTCCACCAGGGCAAAAACAATAGAAGTCGTTATCCG
CAAAGTGCCTACGCAAAGCCTAGTAACACTTTGAATTGTTTATGGTTGGT
CGCTCAGCTATTCCCCCTAGTAGACCTGGCAGATGAGGCTAGAAATACCC
CACTGGTAACAGTGTCTAGCCTGCGTGGCTGCCTGCGCACCCCTCCGGG
TGCGAAGCCATACACATGACAAGGTGCGAAGAGCCCCGTGTGCTCACTTT
GAATCCTCCGGCTCCTGAATGTGGCTAACCTTAAACCTGCAGCCAGTGCA
CATAAGCCAATGTGTATCTGGTCGTAATGAGTAATTGCGGGATGGGACCA
ACTACTTTGGATGTCCGTGTTTCTTGTTTTCTTAATTTTGCTTATGGTGA
CAATATATAGATAATATATATTGGCAT

>EU096048.1 Human rhinovirus 61 5' UTR

TTTAAACTGGGTCTGGGTGTTTCCACCCAGACCACCCATGTGGTGTTG
TACACTGTTATTCCGGTAACTTTGTACGCCAGTTTTGAACTCCCCTACCCC
TTTTGTAACCTAGAAAGCTAAACACATCGACCAATAGCAGGCAATCACCCA
GATTGCTTATGGTCAAGTACTTCTGTTTCCCCGGTCTCCTCTGATATGCTC
TACCAGGGCAAAAACAGAGTAGATCGTTATCCGCAAGATGCCTACGCAA
CGCCTAGTAACACTTTGAAGTGTTTTTGGTTGGTCGCTCAGTTACAACCC
AGTAATAGACCTGGCAGATGAGGCTAGATATCCCCCACTGGCGACAGTG
ATCTAGCCTGCGTGGCTGCCTGCACACCCTTTATGGGTGTGAAGCCAAAC
ATATGACAAGGTGCGAAGAGCCACGTGTGCTCATCTTGAGTCCTCCGGCC
CCTGAATGCGGCTAACCTCAACCCTGCAGCCATTGCTCACAAGCCAGTGG
GTATGTGGTCGTAATGAGAAATTGCGGGACGGGACCGACTACTTTGGGT
GTCCGTGTTTCACTTTTTTACCTTATTTTGCTTATGGTGACAATATATATA
CAGATATATATTGAC

>MK858952.1 Rhinovirus A isolate MALI_Case_36 5' UTR

TCAAGCACTTCTGTTTCCCCGGTCGATGAGGATATGCTTTACCCAAGGCA
AAAACCTTAGAGATCGTTATCCACACACTGCCTACACAGAGCCTAGTATC
ACTTTTGATGTAATTAGGTTGGTCGCTCCCTGCAAACCCAGCAGTAGACC
TGGCAGATGAGGCTGGACATTCCCCACTGGCGACAGTGGTCCAGCCTGC
GTGGCTGCCTGCTCACCTATTGGGTGAGAAGCCTACTTATTGACAAGGT
GTGAAGAGCCGCGTGTGCTCAGTGTGCTTCTCCGGCCCCTGAATGTGGC
TAACCTTAACCCTGCAGCCGCTGCCATAATCCAATGGGTCTACGGTCGT
AACGCGCAAGTGCGGGATGGGACCAACTACTTTGGGTGTCCGTGA

>EU126731.1 Human rhinovirus 68 5' UTR

CCCCGGTTAGAATTGATATGCTCCAACAGGGCAAAAACAATTTTGATCGT
TATCCGCAAGGCAACTACGCAAAGCCTAGTACCATTTTTGATGATGTGTG
GTTGGTCGCTCCACTGTGAACCCGACAGTAGACCTGGCAGATGAGGCTA
GGAATCCCCACTGGTAACAGTGTTCTAGCCTGCGTGGCTGCCTGCGTAC
CCTTTTGCGGGTACGAAGCCATACATTTGACAAGGTGTGAAGAGCCCCGT
GTGCTTGCCTTGAGTCCTCCGGCCCCTGAATGTGGCTAA

>EU126739.1 Human rhinovirus 76 5' UTR

CCCCGGCCAAAGTTGATATGCTCCAACAGGGCAAAAACAGCTGCGGTGCG
TTATCCGCAAAACAACTACGCAAAGCCTAGTACCACCTTCTAGAGCATGT
GGCTGGTCGCTCCACTATAAACCCAATAGTAGACCTGGCAGATGAGGCT
AGGAGCTCCTCACTGGTAACAGTGTCCTAGCCTGCGTGGCTGCCTGCGCA
CCCTGACAGGTGCGAAGCCAAATGTTTGACAAGGTGTGAAGAGCCCCGT
GTGCTTGTTTTGAGTCCTCCGGCCCCTGAATGTGGCTAA

>EU126743.1 Human rhinovirus 80 5' UTR

CCCCGGTCAAAATTGATATGCTCCACCAGGGCAAAAACAGTTTTGATCGT
TATCCGCAAAAGTGCCTACGCAAAGCTTAGTAACACTTTGAAGAATGTGTG
GTTGGTCGTTCCGCTATTCCCCATAGTAGACCTGGCAGATGAGGCTAGAA
AATCCCCACTGGTGACAGTGTTCTAGCCTGCGTGGCTGCCTGCGCACCTC
TTTGAGGTGCGAAGCCATTCTTTGACAAGGTGTGAAGAGCCCCGTGTGC
TCACTTTGAGCCCTCCGGCCCCTGAATGTGGCTAA

>MK858677.1 Rhinovirus A isolate ZAF_Control_51 5' UTR

TGTTTCCCCGGTCAAGGTTGATATGCTCCACAAGGGCAAAAACAACCAA
GATCGTTATCCGCAAGATGCCTACGCAAAGCCTAGTAATGCTTTTGAAGA
TACCTGGTTGGTCGCTCAGCTGTGTACCCGACAGTAGACCTGGCAGATGA
GGCTAGAAGTACCCCTCTGGCGACAGAGTTCTAGCCTGCGTGGCTGCCTG
CACACCCTTTTTGGGTGTGAAGCCAAGTATTGGACAAGGTGTGAAGAGCC
CCGTGTGCTCATCTTGAATCCTCCGGCCCCTGAATGTGGCTAACCTTAAA
CCTGCAGCCAGTGCACACAAACCAAGTGTGTAGCTGGTCGTAACGAGCAA
TTGCGGGATGGGACCAACTACTTTGGGTGTCCGTG

>EU870475.1 Human rhinovirus 48 5' UTR

ATCTAGCTACGGTAACTTTGTACGCCTGTTTCTCCTCAACCCTCCCCTACC
CGTTTATATATCTCAGGTAACCTAGTAAGATATCATTACCGCACAAATAGG
GACCGNTTGTAACCAGCAACGGTCAGTGCAAGCACTTCTGTTTCCCCGGA
GCGGAGTATAGACGGCCACTGCTGTCAAAAGCTCTTAACCGTTACCCGCC
AGTTAACTACACAACAGCTAGTAACATCTTGTTGTTCTTAGGGCGTTTGA
TCAGGTGAGTTTACCCCCTCACTAGTCTGGTCGATGAGGCTGAGAAATCC
CCACGGGTGACCGTGTCTCAGCCTGCGTGGCGGCCAGCCCAGCTTATGC
TGGGACGCCTTAAGTATGACATGGTGTGAAGACTCGCGTGTGCTTAGCTG
TGAGTCCTCCGGCCCCTGAATGCGGCTAACCTAAAACCCCGGAGCCTTGA
GGCACAATCCAGTGCCCGCGAGGTGCTAACGAGAAATTCTGGRACGGGA
CCGACTACTTTGGGTGTCCGTGTGCTAGATC

>EU096071.1 Human rhinovirus 84 5' UTR

GCCGCCCTCCCCCTTTTATTACCACATTTGTGGTCGCTGCAACGTTAGAA
GATTTTAAAGTAGTGCAATAGGAAGCATCACAAACAGTGGTGTTATGCAC
AAACACTTCTGTTTCCCCGGAGCGAGGTATAGACGGTCCCCACTGTCAAA
AGCCTTTAACCGTTATCCGCCAACCAACTACGAGACAGCTAGTAATGCCC
TGTTCTCCTGCAAGGCGTTCGATCAGACAGATTTCCCCTCTGTTAGTCTGG
TCGATGAGGCTAGAAGTACCCACAGGTAAGTGTGTTCTAGCCTGCGTGG
CGGCCAGCCCAGCTTCTGCTGGGACGCCTTTCAAGAGACATGGTGTGAAG
ACTCAATTGTGCTTGGTTGTGAGTCCTCCGGCCCCCTGAATGCGGCTAACC
TTAAACCCGGATCCATGCTATGCAAACAGCATAGTTATGGTCGTAATGG
GCAACTCTGGGATGGGACCGACTACTTTGGGTGTCCGTGTTTCCATTTTAA
CTTTTGTGTCATTTATGGTTACAATTAA

>EU096078.1 Human rhinovirus 92 5' UTR

TTTCCCCCTCTTGTACCCGCCCTTCAAGCTCCTTGCCCAAGTAACGTTAGA
AGTTTGAACATTGGTACAATAGGAAGCATCACATCCAGTGGTGACTGTA
CAAACACTTCTGTTGCCCGGAGCGAGGTATAGATGGTCCCCACCGTCAA
AAGCCTTTAACCGTTATCCGCCAATCAACTACGTAATGGCTAGTAGCACC
TTGGATTTAAGTTGGCGTTCGATCAGGTGGTAACCCCCACTAGTTTGGTC
GATGAGGCTAGGAATTCCCCACGGGTGACCGTGTCTAGCCTGCGTGGCG
GCCAACCCAGCATCCGCTGGGACGCCAATTTAATGACATGGTGTGAAGA
CCTGCATGTGCTTGATTGTGAGTCCTCCGGCCCCCTGAATGCGGCTAACCC
TAACCCCGGAGCCTTGCAGCACAATCCAGTGTTGTTAAGGTCGTAATGAG
CAATTCTGGGATGGGACCGACTACTTTGGGTGTCCGTGTTTCTTATTTTC
TTGAATTTTCTTATGGTCACAGCATATATACATTATATACTGTGAT

>MZ268693.1 Rhinovirus C3 isolate 470156, complete genome

GCAGTGGTCTTGTATTACGGTACATTTCCATACCAGTTTTATACACCCAC
CCCGAACTCATAGAAGTTTGTACACAATGACCAATAGGCGGTGGCCAT
CCAGGTCATAATGGTCAAGCACTTCTGTTTCCCCGGCACCTTGTATAC
GCTTCACCCGAGGCGAAAAACGAGGTCGTCGTTATCCGCAAAGTGCCTA
CGAAAAGCCTAGTAACACTTTGAAAACCTATGGTTGGTCGCTCAGCTGTT
CACCCAACAGTAGACCTGGCAGATGAGGCTAGACACTCCCCACCAGCGA
TGGTGGTCTAGCCTGCGTGGCTGCCTGCACACCCTACCGGGTGTGAAGCC
AGAAAGTGGACAAGGTGTGAAGAGCCTATTGTGCTCACTTTGAGTCCTCC
GGCCCCCTGAATGTGGCTAACCCTAACCCCGTAGCTGTTGCATGTAATCCA
ACATGTATGCAGTCGTAATGGGCAACTATGGGATGGGACCAACTACTTTG
GGTGTCCGTGTTTCCTGTTTTACTTTTTCAATTGCTTATGGTGACAATTGTAT
CTGATACACTTGTTACC

>EF582385.1 Rhinovirus C4, complete genome

CCCACCCGAGCTGCCCATGTGGCGTGGTGCTCTTGTATCCCGGTACACTT
GCACGCCAGTTTGCCTCTCCTTACCCCGTAACATATCTAGAAGAATGTGC
ATAACGGACCAATAGGTGGTGGCAACCCATGCCACTGACGGTCAAGTAC
TTCTGTTTCCCCGGTGTGATGTGGAATAGACTCTCTCAGGGTTGAAGCCA
TAAGCATCGTTATCCGCTACGTGCCTACGCAAAACCTAGTAGCATTTTGA
AGCTTACTTGGTTGGCCGCTCAGCCACTAACCCGTGGTAGGCCTGGCAGA
TGAGGCTGGGCGCACCCCACTGGCGACAGTGGCCCAGCCTGCGTGGCTG

CCTGCCCCTCTTTGAGGGGAAGCCATTTAAGTGACAAGGTGTGAAGAGTC
TCGTGTGCTCCACGTAGAAATCCTTCCGGCCCCCTGAATGTGGCTAATCCTA
ACCCCGCAGCTATTGCACACAATCCAGTGTGTTGATAGTCGTAATGGGCA
ACTGTGGGATGGAACCAACTACTTTGGGTGTCCGTGTTTCCTGTTTTCTTT
AAATACTTGCTTATGGTGACAAATAGTGTATACTGTTTGACACC

>OP342703.1 Rhinovirus C5 strain RVC5/China/2014/HBH10 polyprotein gene,
complete cds

AAACTGGGTACAGGTTGTTCCACCTGTACCACCCAAGTGGTGTAGTGCT
CTTGATTTTCGGTACATTTGCACGCCAGTTTGCCACCCCTACCCCTTATGT
AACTTAGAAGCTTACACAAAGACCAATAGGCGGTGGTAAATCCATACCA
CTAACGGTCAAATACTTCTGTTTCCCCGGCATATGAGGAATAGGCTCCAA
AAGGGCTGAAGCCACTAGTGTGCTTATCCGCATTGGTACTACGCAAAGCC
TAGTATCAGCCTGAAAATTCCTTGGTTGGTCGCTCGGCCAGTTATCCCAC
TGGTAGACCTGGCAGATGAGGCAGGACTTACCCCACTGGCGACAGTGGT
CCTGCCTGCGTGGCTGCCTGCACACCCCTATGGGGTGTGAAGCCTAGGAA
CAGACAGGGTGTGAAGAGCCCCGTGTGCTACCAATGAGTCCTCCGGCCC
CTGAATGCGGCTAATCTTACCCCGCAGCTGTTGCACACAATCCAGTGTGT
ATGCAGTCGTAATGAGCAATTGTGGGATGGAACCGACTACTTTGGGTGTC
CGTGTTTCCTTGTTTTCCTTTTATTTGCTTATGGTGACAATATTGATATTAT
CAGTGTTGTCATC

>OK649391.1 Rhinovirus C9 strain RvC9/USA/2021/GAS3WT, complete genome
TTAAACAGCCGTGTGGTTGTACCCACCACCGGGCACATTGTGCGTGGTA
CACTGGAATTACGGTTCCTTTGTACGCCTGTTTCCCTCCCCGCTTTCCTTC
TTTCTTCACTTCTTGATCGTAACATAATTAGAAGCATGACACACAGTCCA
ATAGGAGGCGGTTAATCCATAACCGTCACGGACAAGCACTTCTGTTCCCC
CGGATGTGTGAATAGGCTTCCACCGAGGCTGAAGCTGTAGCATTTCGTTAT
CCGCACACGTACTACGCGAAACTAGTAACACCTTGATTGGTGGTGTGGT
GTTTCACTCAGCGCTACCCAGCGTAGATCAGGGCAATGGGGCTACGGA
AACCCACCGGCGACGGTGTGCTAGCCCGCGTGGTGCCCTGCCAGATCC
TTGTGATCTGGGACACCATATCATTGACAGGGTGTGAAGATTCTAGTGTG
CTACGTGTGAGTCCTCCGGCCCCCTGAATGTGGCTAACCTTAACCCCGCAG
CTATGGTGTGCAAACCAGCACATTCGTAGTCGTAATGGGCAACTGTGGGA
CGGGACCAACTACTTTGGGTGTCCGTGTTTCCTTTTATTCTTATAATTTTC
CCTATGGTTACAGGCTTATGGTTATAAGTTTGTAATC

>OQ348028.1 Rhinovirus C11 isolate RvC11/USA/2022/01112, complete genome
GTAGTGCTCTTGTATCTCGGTACATTTGCACGCCAGTTTGCCACCCCTCCC
CTCTTATGTAACCTAGAAGATTACACAGAGACCAATAGGCGGTGGTAAAT
CCATACCACTAACGGTCAAACACTTCTGTTTCCCCGGCATGCGAGGAATA
GGCTCCAAAAGGGCTGAAGCCACTAGTGTGCTTATCCGCATTGGTACTAC
GCAAAGCCTAGTATCACCTGAAAATTCCTTGGCTGGTCGCTCCACCAGA
TACCCCACTGGTAGACCTGGCAGATGAGGCAGGACTCGCCCCACTGGTG
ACAGTGGTCTGCCTGCGTGGCTGCCTGCACACCCCTCTCGGGGTGTGAA
GCCAGGAACAGACAGGGTGTGAAGAGCCCCGTGTGCTACCGATGAGTC
CTCCGGCCCCCTGAATGCGGCTAATCTTACCCACAGCTGTTGCGCGCAAG
CCAGCGTGTATGCAGTCGTAATGAGCAATTGTGGGATGGAACCGACTACT

TTGGGTGTCCGTGTTTCTTTTTATTCTTATTATTTGCTTATGGTGACAATAT
TGATATTATCAGTGTTGTCATC

>OP342698.1 Rhinovirus C15 strain RVC15/China/2017/BJR32 polyprotein gene,
complete cds

TTAAAACTGGGTATAGGTTGTTCCACCTGTACCACCCACGCGGTGTAGT
GCTCCTGTATTCCGGTACACTTGCACGCCAGTTTGCCCTCCCCCCCCCTTC
CTGTAACGTAGAAGTTATATAAACAGACCAATAGGGGATGGCGAACCAC
GCCGTTCAAGGTCAAGCACTTCTGTTTCCCCGGCATGCGAGGAATAGACC
CTCCAAGGGTTGAAGCCACAAGTGTCGTTACCCGCATTGGTACTACACA
GAGCCTAGTATCGCTTTAGAACTTGTTGGTTGGTCGTTACGCCATTTCCC
ATGGTAGACCTGGCAGATGAGGCAAGAGGCTCCCCACTGGTAACAGTGT
TCTTGCTGCGTGGCTGCCTGCACACCCTAATGGGTGTGAAGCCAATAAG
TGGACAGGGTGTGAAGAGCCGCGTGTGCTACCAATGAGTCCTCCGGCCC
CTGAATGCGGCTAATCCAACCCACAGCTATGGCGTGCAATCCAGCATGT
GCGTAGTCGTAATGAGTAATTGTGGGACGGAACCGACTACTTTGGGTGTC
CGTGTTTCCTTTATTTTCTTATATCTTGCCTATGGTGACAATATTAAGTATT
AATATTGCTACC

>OQ331222.1 Rhinovirus C19 isolate RvC19/USA/cf466/2020, complete genome
ACANTGCGATCTTGGTCGCTTTGTATGCCTGTTTTTACCACCCACCCCAAC
TTTACTGTCTTCTTCACTTCACAAGTAACATAGAAGCATGTACATGATGC
CCAGTAGGATAACGTCTCAACCAGAGGCGTTAAGGGCAAGCACTTCTGTT
TCCCCGGATGTGTGAATAGGCTTCACCCGAGGCTGAACTGTAGCATTTCG
TTACCCGCATGACTACTACGCGACTGCTAGTAGCATTCTGTGTGACATGT
GGGGTTTCGCTCAGCAGAGACCCAGTCTGTAGATCAGGGTAATGAGGCT
ACACAACCCCCACTGGCGACAGTGGTGTAGCCTGCGTGGTGCCCTGCCCG
AGGCTCGTCCTCGGGACCCTCCATGTTAGACAGGGTGTGAAGACACTAGT
GTGCTAGTCATGAGTCCTCCGGCCCCCTGAATGCGGCTAATCTTAAACCTG
CAGCCATCGCATGCATGCCAGCATGTAGGTGGTCGTAATGAGTAATTGCG
GGATGGAACCGACTACTTTGGGTGTCCGTGTTTCCCTTTTTTACATTTGTG
TGTCTCTTATGGTTACATCATTGGTGTAATC

>OP342694.1 Rhinovirus C26 strain RVC26/China/2017/BJR5 polyprotein gene,
complete cds

TTAAACAGCCGTGTGGTTGTTCCACACCGGACACACTGTGTGTTGTG
CACTGGAATCTCGGTTCTTTGCATGCCTGTTTTATAACCCCTTCCCCTTT
ACTTTCTATCATTCTTTTCTTCCAAGTAACCTAGAAGCTAAACAACAGTCC
AATAGGAAGTGACCAATCCATGGTCACTAAGGACAAGCACTTCTGTTTCC
CCGGATGCGTGAATAGACTCTAAAAGGGTTGAAGCTGTAGCATTCGTTAT
CCGCACTTGTACTACGCGATGGCTAGTATCATCCTACTCTTTCCATTGGCG
TTTCGCTCAGCGTGGTATCCCCCAGTAGATCAGGGCAATGAGGCTACAT
GTACCCACACCGGCGACGGTGATGTAGCCTGCGTGGTGCCCCGCCTGGGTC
TTGTACCCAGGACGCCATAGGTCAGACAGGGTGTGAAGACTTGAGTGTG
CTACAAGTGAGTCCTCCGGCCCCCTGAATGCGGCTAATCCTAACCCGCAG
CTATCGTACGCAATCCAGCGTATTGGTAGTCGTAATGAGCAATTGTGGGA
TGGAACCGACTACTTTGGGTGTCCGTGTTTCTTTATTTCTTGACATGTTG
CTTATGGTCACAAGTTTATGATTATAAATTTGTGATC

>OK017915.1 Rhinovirus C28 strain RvC28/USA/2021/9FY4XM, complete genome
TCTACGGACGTTGTACTCTTGTATTCCGGTACATTTGTACGCCAGTTTTTC
CTTCCCCACCCCATTTGTAACATATAGAAGCTGGAACATACAGGCGAACA
GGATGCCAACAAATCCATGTTGGTTCACGCCAAGCACTTCTGTTTCCCCGG
CATTAGAGTGTTAAGCTTCTCGCGAGGCTGAAGCTTGATATGTCGTTATC
CGCACAATTACTAAGCAGAGCCTAGTACCTCCCTGCTCTTTATATTGGCT
GGTTCGTTCCATCAGTAACCCCTGATAGACCTGGCAGATGGGGCTGGAAAT
TCCCCACTGGCGACAGTGTTCCAGCCCCGCGTGGCTGCCTGTCCCCCTTCT
TGGGGGAAAGCCATTATACAGACAAGGTGTGAAGAGCCGCGTTTGCTAA
TTGTGAGTCCTCCGGCCCCCTGAATGCGGCTAATCCAACCCACAGCTACT
GCATGGAAACCACCATGTGGGTAGTCGTAACGGGCAACTGTGGGACGGA
ACCGACTACTTTGGGTGTCCGTGTTTCCTTTTATATTTTACTTTATCTCATG
GTGACAACATATAGTAATAAATATATGTTGTAAACC

>JF436925.1 Human rhinovirus C35 clone LRTI-metagenomic-1 polyprotein gene,
partial cds
AGCTCTGCAGATATCTCCCCGGACGTGTGAATAGGCCCTACCAGGGCTGA
AGCTGTAGCGTTCGTTATCCGCATGCCTACTGCGCAAAGGTTAGTAATA
ACTAGATACTTAGTGTTTTCGCTCAGCAGTACCCCACTGTAGATCAGG
GTAATGAGGCTACGCATCCCCCACTGGCGACAGTGGCGTAGCCTGCGTG
GTGCCCTGCCCAGGTTTATACCTGGGACACCACTATTTGGACAGGGTGTG
AAGGCCAGCGTGCCTAGGCATGAGTCCTCCGGCCCCCTGAATGCGGCTA
ATCCTAACCCTGCAGCCATTGCATGCAAACCAGCATGTTGGTGGTCGTAA
TGAGCAATTGCGGGATGGAACCGACTACTTTGGGTGTCCGTGTTTCTTGT
TTTTCCATTAAATTGTCTTATGGTTACAAGTTTGTGCAACAAATTTGTGACC

>MZ363450.1 Rhinovirus C44 strain RvC44/USA/2021/QQUQ5, complete
genome
CCACACTGTCTACGGACGTAGTACTCTTGTATTTTCGGTACACTTGTACGCC
AGTTTGCTACCCTCCCCAAACGTAACAATAGAAGTCAAATGCACCATGGC
CAATAGGAGGCAACACACCACGTTGTCTACGGTCAAGCACTTCTGTTACC
CCGGCATGAAGGGTGTTAAGTCTTCCCCAAGACCGAAGCCTTGACTGTCTG
TTACCCGCACAACTACTGGACAAAGCCTAGTAATACCTGACGATATAGTG
TGGTTGGTCGCTCCACCAGTGAACCCCTGGTAGACCTGGCAGATGAGGCT
GGAGTTTCCCCACTGGTAACAGTGTTCCAGCCTGCGTGGCTGCCTGCTC
CCTCACGGGAGAAGCCATTCTATTGACAAGGTGTGAAGAGCCCCGTACG
CTAGTTGTGAGTCCTCCGGCCCCCTGAATGCGGCTAATCCAACCCTGCAGC
CATTGCATGGAAGCCACCATGTGGATGGTCGTAATGAGTAATTGCGGGA
CGGAACCGACTACTTTGGGTGTCCGTGTTTCCTGTTTTACCTTTTAACTGC
TTATGGTGACAATATACGTATAAGATATATTGTTTACC

>KF688606.1 Rhinovirus C50 strain human/Australia/SG1/2008, partial genome
TTCCCCGGACGTGTGAATAGGCTCCACCAGGGGCTGAAGCTGTAGCGTTC
GTTACCCGCACTGCTACTACGCAAGGGTTAGTATCTAACTGAAAACATTG
TGGAGTTTCGCTCAGCAGAACCCCACTGTAGATCGGGGTAATGGGGCTAC
ACAACCCCCACCGGCGACGGTGGTGTAGCCCCGCGTGGTGCCCCGCCTGA
GGCTTGTGCCTCAGGACGCCACAATGTTGACAGGGTGAGAAGGCCTACG
TGTGCTAGCAGTGAGTCCTCCGGCCTCTGAATGCGGCTAATCCTAACCCC
ATAGCCATCACACACAATCCAGTGTGCAGGTGGTCGTAACGGGGTAACTAT
GGGATGGAACCGACTACTTTGAGTGTCCGTGTTTCCTATTTTACCTTTACA
TGTCTTATGGTCACAATATAGTGTATACATATTGTGATC



9.TEŞEKKÜR

Yüksek lisans sürecini tamamlamamda bana her aşamada destek olan, bilgi ve deneyimlerini cömertçe paylaşan, çalışmalarımı sabırla yönlendiren, akademik ve mesleki gelişimime önemli katkıları olan değerli danışmanım Prof. Dr. Harun AĞCA'ya,

Eğitimim süresince bana destek veren, bilgi ve deneyimlerini paylaşan, yapıcı eleştirileriyle katkıda bulunan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Beyza ENER'e, Prof. Dr. Cüneyt ÖZAKIN'a, Doç. Dr. Melda PAYASLIOĞLU'na, Doç. Dr. İmran SAĞLIK'a, Doç. Dr. Oktay ALVER'e, Doç. Dr. Nazmiye Ülkü TÜZEMEN'e teşekkürlerimi sunarım.

Elektroforez adımlarını gerçekleştirirken yardımlarını esirgemeyen tüm İmmünoloji Anabilim Dalı akademisyenlerine, çalışanlarına ve öğrencilerine,

Karşılaştığım sorunları çözmemde büyük emeği olan, kendisinden çok şey öğrendiğim Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Öğrencisi Havva TEZCAN ÜNLÜ'ye,

Çalışmam süresince bana her zaman yardımcı olan, akademik ve kişisel gelişimime katkıda bulunan, zor zamanlarımda destek veren değerli sınıf arkadaşım Biyolog Bekir AKCA'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Bana her zaman güvenen ve destekleyen sevgili dostum Matematik Öğretmeni Ayşe ÇABUK'a,

Hayatım boyunca arkamda olan ve beni destekleyen, çalışmalarımı takip ve takdir eden, zor zamanlarımda yanımda duran ve sabrını hiç kaybetmeyen canım annem Serpil TUNER'e ve canım babam Ahmet TUNER'e, ilham kaynağım canımın içi kardeşim Berna TUNER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Sunulan bu tez çalışması, TYL-2022-1056-BAP numarası kapsamında Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından desteklenmiştir.

Beyza TUNER
Bursa, 2023

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı: Beyza TUNER

Eğitim

Bursa Uludağ Üniversitesi | Yüksek Lisans

2020-2023

Tıbbi Mikrobiyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı

Yıldız Teknik Üniversitesi | Lisans

2016-2020

Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

Bursa Atatürk Anadolu Lisesi | Lise

2011-2015

İş Tecrübesi

Tarım ve Orman Bakanlığı | Yaz Dönemi Stajyeri

Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü

2018/07–2018/08

Seminer ve Konferanslar

World Health Organization| Introduction To Covid-19: Methods For Detection, Prevention, Response And Control | 2021

World Health Organization| Introduction To Infection Prevention And Control (Ipc) | 2021

World Health Organization| Basic Microbiology | 2020

World Health Organization|Standard Precautions: Environmental Cleaning & Disinfection | 2020

İstanbul Medeniyet Üniversitesi | IEEE Student Branch-Biomedical Conference, Organization Committee Participation Certificate | 2020

Yıldız Teknik Üniversitesi Biyoteknoloji ve Genetik Kulübü | Genetik Günleri | 2019

Uludağ Üniversitesi | Nöropsikiyatri ve Genetik Ulusal Öğrenci Sempozyumu | 2018

Marmara Üniversitesi Kimya ve Sektör Kulübü | Adli Bilimlerde Kimya Semineri | 2017

Sertifikalar

Hücre Kültürü Eğitimi | TÜSEB 2022

Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası | BUÜ 2021

Diksiyon Sertifikası | MEB 2017

Gönüllü Çalışma Denevimi ve Liderlik

Yıldız Teknik Üniversitesi Biyoteknoloji ve Genetik Kulübü Üyeliği | 2016-2017

YTÜ Okçuluk | 2018-2019

AŞHANE | 2019

LÖSEV Gönüllüsü, TEMA Vakfı Gönüllüsü

Bursa Atatürk Anadolu Lisesi Afak Dergisi-Yazar | 2014