



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ



**ALT SOLUNUM YOLU ENFEKSİYONU ŞÜPHELİ HASTALARDA
ENFEKSİYON ETKENLERİNİN MULTİPLEKS-PCR
YÖNTEMİYLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. İbrahim AYHAN
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Yasemin BAYRAM

VAN-2023

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**ALT SOLUNUM YOLU ENFEKSİYONU ŞÜPHELİ HASTALARDA
ENFEKSİYON ETKENLERİNİN MULTİPLEKS-PCR
YÖNTEMİYLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. İbrahim AYHAN
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Yasemin BAYRAM

VAN-2023

Bu çalışma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP) tarafından TTU-2022-9970 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

ETİK BEYAN

T.C.

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI' NA

Uzmanlık tezi olarak hazırlayıp sunduğum “*Alt solunum yolu enfeksiyonu şüpheli hastalarda enfeksiyon etkenlerinin multipleks-PCR yöntemiyle değerlendirilmesi*” başlıklı tezim; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Bu tezdeki bütün bilgiler akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak hazırlanıp, bu kural ve ilkeler gereği, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yapılmış ve kaynak gösterilmiştir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Adı Soyadı: Araş. Gör. Dr. İbrahim AYHAN

Tarih:

İmza:

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım tez danışmanım ve Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Yasemin BAYRAM' a; asistanlık sürecimde neşeli ve yardımsever tavrı ile huzurlu bir ortamda çalışmamızı sağlayan, şu an maddeten yanımızda olmayıp, manen yanımızda kendini hissettiren eskimez Hocam Sayın Prof. Dr. Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU' na; tüm asistanlığım süresince gerek ahlakıyla gerekse de engin bilgi ve tecrübesiyle bana örnek ve yol gösterici olan, her konuda bana ağabeylik yapan Sayın Prof. Dr. Mehmet PARLAK' a; güzel ahlakı ve çalışkan kişiliğiyle hepimize örnek olan, tez sürecimin her evresinde desteğini hiç esirgemeyen kıymetli hocam sayın Dr. Öğr. Gör. Ayşe ÖZKAÇMAZ' a;

Tezimi projeye destekleyen Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne;

Asistanlığım boyunca benimle çalışan, her türlü desteklerini benden esirgemeyen, çalışma ortamımızı neşeli ve huzurlu bir ortama çeviren değerli tüm ASİSTAN ARKADAŞLARIMA, PCR çalışmalarımı beraber yaptığım Kenan GÖL olmak üzere birlikte çalışmaktan zevk duyduğum, özveri ile çalışan tüm mikrobiyoloji laboratuvarı TEKNİSYEN VE PERSONELİNE;

Dünya ve ahiretimin saadet vesilesi olan, dualarını sürekli hissettiğim ANNEM ve BABAM' a; her konuda sabırla bana destek veren, bana dünyada cennet huzuru tattıran refikayı hayatım ve neşe kaynağım olan EŞİM ve ÇOCUKLARIM' a canı gönülden teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|------|
| ETİK BEYAN..... | II |
| TEŞEKKÜR..... | III |
| İÇİNDEKİLER | IV |
| KISALTMALAR..... | VI |
| TABLolar DİZİNİ | VII |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | VIII |
| ÖZET | IX |
| ABSTRACT..... | X |
| GİRİŞ VE AMAÇ..... | 1 |
| 1. GENEL BİLGİLER | 3 |
| 1.1. Alt Solunum Yolu Enfeksiyonları..... | 3 |
| 1.1.1. Trakeobronşit..... | 3 |
| 1.1.2. Bronşiyolit | 3 |
| 1.1.3. Pnömoni | 4 |
| 1.2. Akut Alt Solunum Yolu Enfeksiyonlarına Neden Olan Viral Etkenler..... | 5 |
| 1.2.1. İnfluenza Virüsleri | 5 |
| 1.2.2. Parainfluenza virüsleri | 6 |
| 1.2.3. Respiratuvar Sinsityal Virüsleri (RSV) | 8 |
| 1.2.4. Koronavirüsleri | 9 |
| 1.2.5. İnsan Metapnömovirüsleri (HMPV)..... | 12 |
| 1.2.6. Adenovirüsler..... | 13 |
| 1.2.7. Enterovirüsler ve Rinovirüsler..... | 14 |
| 1.2.8. Bokavirüs | 15 |
| 1.3. Akut ASYE'ye Neden Olan Atipik Bakteriyel Etkenler..... | 16 |
| 1.3.1. Bordetella pertussis..... | 16 |
| 1.3.2. Bordetella parapertussis | 19 |
| 1.3.3. Mycoplasma pneumoniae | 20 |
| 1.4. Moleküler yöntemler | 21 |
| 1.4.1. Hibridizasyon yöntemleri | 22 |
| 1.4.2. Amplifikasyon yöntemleri | 22 |

| | |
|--|----|
| 2. GEREÇ VE YÖNTEM..... | 26 |
| 2.1. Hasta Seçimi ve Verilerin Toplanması | 26 |
| 2.2. Etik Kurul Onayı | 26 |
| 2.3. Örneklerin Alınması..... | 26 |
| 2.3.1. Balgam | 26 |
| 2.3.2. Trakeal Aspirat | 27 |
| 2.3.4. BAL (Bronş Yıkama Sıvısı) | 27 |
| 2.4. Multipleks PCR Yöntemi..... | 27 |
| 2.4.1. Kullanılan Kit ve Cihazın Özellikleri | 27 |
| 2.4.2. Yöntemin Esasları..... | 28 |
| 2.4.3. Kit İçeriği..... | 28 |
| 2.4.5. HS12a Analiz Prosedürü..... | 31 |
| 2.4.6. Kalite Kontrol Protokolü | 31 |
| 2.4.7. Sonuçların Yorumlanması | 34 |
| 3. BULGULAR..... | 36 |
| 4. TARTIŞMA VE SONUÇ | 42 |
| KAYNAKLAR | 52 |
| ÖZGEÇMİŞ | 61 |
| EKLER..... | 62 |
| EK 1. Tez Orijinallik Raporu | 62 |
| EK 2. Etik Kurulu Raporu..... | 63 |

KISALTMALAR

| | | |
|-------------------|---|---|
| ABD | : | Amerika Birleşik Devletleri |
| ASYE | : | Alt Solunum Yolu Enfeksiyonu |
| BAL | : | Bronkoalveolar lavaj |
| CDC | : | Centers for Disease Control and Prevention |
| CoV | : | Korona virüsler |
| COVID-19 | : | Coronavirüs Disease-19 |
| CV | : | Coxsackievirus |
| DFA | : | Direkt floresan antikor |
| DM | : | Diyabetes Mellitus |
| DNA | : | Deoksiribo Nükleik Asit |
| ETA | : | Endotrakeal Aspirasyon |
| EV | : | Enterovirüsler |
| HAdV | : | İnsan Adenovirüsü |
| HIV | : | Human Immunodeficiency Virus |
| HKP | : | Hastane Kökenli Pnömoni |
| HMPV | : | İnsan metapnömovirüsü |
| HN | : | Hemaglütinin-Nöraminidaz |
| HPIV | : | İnsan parainfluenza virüsü |
| HT | : | Hipertansiyon |
| İKK | : | İntrakranial Kanama |
| KAH | : | Koroner Arter Hastalığı |
| KBH | : | Kronik Böbrek Hastalığı |
| KOAH | : | Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı |
| MERS-CoV | : | Orta Doğu Solunum Sendromu Corona Virüsü |
| m-PCR | : | Çoklu Polimeraz Zincir Reaksiyonu |
| PCR | : | Polymerase Chain Reaction |
| PCT | : | Prokalsitonin |
| PV | : | Poliovirüs |
| RNA | : | Ribonükleik Asit |
| RSV | : | Respiratuar Sinsiyal Virüs |
| RT-PCR | : | Real Time Polymerase Chain Reaction |
| RV | : | Rinovirüsler |
| SARS-CoV | : | Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüsü |
| SARS-CoV 2 | : | Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüsü 2 |
| SVO | : | Serebrovasküler Olay |
| TKP | : | Toplum Kökenli Pnömoni |
| TND | : | Türk Neonatoloji Derneği |
| ÜSYE | : | Üst Solunum Yolu Enfeksiyonu |
| VİP | : | Ventilatör İlişkili Pnömoni |
| WHO | : | World Health Organization |
| YBÜ | : | Yoğun Bakım Ünitesi |

TABLolar DİZİNİ

| | |
|--|----|
| Tablo 1. Kit ile saptanan virüs tipleri | 28 |
| Tablo 2. Manuel solunum kiti tarafından sağlanan reaktifler | 29 |
| Tablo 3. Otomatik solunum kiti tarafından sağlanan reaktifler | 30 |
| Tablo 4. PCR programı | 31 |
| Tablo 5. Solunum Kiti kontrol noktaları | 32 |
| Tablo 6. Hastaların demografik özellikleri | 36 |
| Tablo 7. Hastalardan alınan klinik numunelerin dağılımı | 36 |
| Tablo 8. Hastaların bölümlere göre dağılımı | 37 |
| Tablo 9. Hastaların klinik özellikleri | 38 |
| Tablo 10. Hastaların laboratuvar bulguları | 40 |
| Tablo 11. Pozitif çıkan hastaların yaşları ve servis bilgileri | 41 |
| Tablo 12. Çalışmalarda saptanan etken oranları tablosu | 49 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Şekil 1. Sonuç yorumlama çip görünümü..... | 34 |
| Şekil 2. SARS-CoV 2 için pozitif örnek görüntüsü..... | 35 |



ÖZET

Ayhan İ. Alt solunum yolu enfeksiyonu şüpheli hastalarda enfeksiyon etkenlerinin multipleks-PCR yöntemiyle değerlendirilmesi. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, Van, 2023.

Alt solunum yolu enfeksiyonları (ASYE), tüm yaş gruplarında önemli morbidite ve mortalite nedenidir. ASYE'ye bağlı mortalite ve morbidite oranlarını azaltmak için izlenecek en iyi yaklaşım, tanının erken konulması ve ampirik tedaviler yerine spesifik tedavinin başlanmasıdır. Çalışmada, hastanemizde çeşitli nedenlerle yatan hastalardan alt solunum yolu enfeksiyonu şüphesiyle laboratuvarımıza gönderilen solunum sistemi örneklerinde, 11 farklı viral ve bakteriyel etkenin multipleks-PCR yöntemi ile sıklığının belirlenmesi ve tanıda bu etkenlerin atlanma durumunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

Kasım 2021 - Kasım 2022 tarihleri arasında, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi servis ve yoğunbakım ünitelerinde yatan 50 hasta dâhil edilmiştir. Bu hastalardan alt solunum yolu enfeksiyonu şüphesi ile laboratuvarımıza gönderilen balgam, bronkoalveolar lavaj ve trakeal aspirat gibi alt solunum yolu örnekleri işleme alınmıştır. Akut solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan patojenlerin tanımlanması için Solunum Doğrudan Akış Çipi (Vitro Master Diagnostica, İspanya) kiti kullanılmıştır.

Yaşları 2-89 arasında değişen 50 hastadan, toplam 36 (%72) balgam, 11 (%22) BAL ve 3 (%6) trakeal aspirat örneği gönderilmiştir. Hastaların 37'si (%74) erkek ve 13'ü (%26) kadınlardan oluşmaktadır. Hastaların 25'i (%50) yoğun bakımda takip edilmekteydi. Toplam 50 hastanın 4'ünde (%8) araştırılan etkenlerden birisi tespit edilmiştir. Toplam dört hastada saptanan etkenler; Coronavirus SARS-CoV-2, Adenovirüs, Human Coronavirus HKU1 ve Bocavirus olarak bulunmuştur.

Pozitiflik oranlarımız literatürde bildirilen birçok çalışmaya göre düşük bulunmuştur. ASYE tanılı hasta gruplarında ve kullanılan kitin etken saptama profilinin yüksekliğine göre de pozitiflik oranı artış gösterebilecektir. Çalışma sonucuna göre hastalarda tanıda viral etkenlerin atlanabileceği ve bu gibi tanı testlerinin rutin kullanımının yarar sağlayacağı düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Alt solunum yolu enfeksiyonu, PCR, virüs, bakteri

ABSTRACT

Ayhan I. Evaluation of infection agents by multiplex-PCR method in patients with lower respiratory infection. Van Yüzüncü Yıl University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Medical Expertise Thesis, Van, 2023.

Lower respiratory tract infections (LRTI) are important causes of morbidity and mortality in all age groups. Best approaches to reduce mortality and morbidity rates due to LRTI; early diagnosis and giving specific treatment instead of empirical treatments. In this study, we aimed to determine the frequency of 11 different viral and bacterial agents by multiplex-PCR method in respiratory system samples in which sent to our laboratory with suspicion of lower respiratory tract infection from patients in our hospital.

A total of 50 hospitalized patients were included the study in the service and intensive care units of Van Yüzüncü Yıl University Dursun Odabaş Medical Center between November 2021 and November 2022. Lower respiratory tract samples such as sputum, bronchoalveolar lavage and tracheal aspirate were sent to our laboratory with the suspicion of lower respiratory tract infection. The Respiratory Direct Flow Chip (Vitro Master Diagnostica, Spain) was used to identify pathogens causing acute respiratory infections.

A total of 36 (72%) sputum, 11 (22%) BAL and 3 (6%) tracheal aspirates were sent from 50 patients who aged between 2-89 years. The patients consisted of 37 (74%) men and 13 (26%) women. Twenty-five (50%) of the patients were being followed up in the intensive care unit. At least one of the causative agents was identified in 4 (8%) of a total of 50 patients. The causative agents detected in a total of four patients are Coronavirus SARS-CoV-2, Adenovirus, Human Coronavirus HKU1 and Bocavirus.

Our positivity rates were found to be lower than many studies reported in the literature. The positivity rate will increase when the study was performed in patient with LRTI and using kits with a high agent detection count. According to the results of the study, it was thought that viral agents could be missed in the diagnosis of the disease and the routine use of this diagnostic tests would be beneficial.

Key Words: Lower respiratory tract infection, PCR, virus, bacteria

GİRİŞ VE AMAÇ

Alt solunum yolu enfeksiyonları (ASYE) tüm yaş gruplarında önemli morbidite ve mortalite nedenir (Hawke ve ark., 2018). Son yirmi senedir tüm dünyada gelişen pandemiler, özellikle halen devam etmekte olan COVID 19 pandemisi bunun önemini daha da ortaya çıkarmıştır. ASYE'ye bağlı mortalite ve morbidite oranlarını azaltmak için izlenecek en iyi yaklaşım tanının erken konulması, ampirik tedaviler yerine uygun ve spesifik tedavinin başlanmasıdır (Karakök ve ark., 2022).

ASYE, klinik olarak karşımıza tipik ve atipik pnömoni, bronşit ve bronşiyolit olarak çıkmaktadır. ASYE etyolojisinde birçok virüs dahil olmakla beraber *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae* ve *Chlamydia pneumoniae* gibi bakteriyel etkenler de sıklıkla neden olmaktadır (Tchatchouang ve ark., 2018). Ayrıca yoğun bakımda yatan hastalarda, yenidoğan ve çocukluk çağı dönemde, immün sistemi baskılanmış hastalarda viral etkenler daha ön plandadır. Hastaların hastaneye yattığı ilk günden itibaren bu etkenlerin erken tespiti, etkene yönelik tedavilerin erken başlanmasına imkan verebileceğinden dolayı, hem hastanın hastaneye kalış süresini azaltmakta, hem de hastaneye olan maliyetini azaltmaktadır. Bunların tespiti rutin kültür yöntemleriyle zor olduğundan dolayı erken dönemde ampirik tedaviye başlanmaktadır. Bununla beraber antibakteriyel tedavi standart olmasına rağmen, viral enfeksiyonlar genellikle bakteriyel pnömoni ortaya çıkana kadar düzeldiği için antiviral tedavi göz ardı edilmektedir (Hwang ve ark., 2015).

Etkenin viral ya da bakteriyel ayrımında, çoğu zaman laboratuvarında erken dönemde yapılması mümkün olmadığından antibiyotikler ampirik olarak kullanılmaktadır (Huang ve ark., 2018). Bu da istenmeyen bakteriyel dirençlere, ilacın olumsuz yan etkilerine ve ek maliyetlere neden olmaktadır. Atipik etkenlerle enfekte olan birçok hasta ampirik antibiyotik tedavisi almasına rağmen bu etkenlere yönelik tedavi çoğu zaman ihmal edilebilmektedir (Karakök ve ark., 2022). Literatürde, kullanımı giderek artan moleküler multipleks PCR gibi hızlı, duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek testlerle viral etkenlerin daha yüksek oranda tespit edildiği ve neticede ampirik tedavi oranının önemli ölçüde düşürülebileceği ifade edilmiştir (Epalza ve ark., 2020). Bununla beraber rutin kültür yöntemleriyle birçok bakteri ve mantarları üretebilmemize

rağmen, rutinde zor üreyen ya da yavaş üreyen bakterileri ve virüslerin tamamını üretmek hem güç hem de çok maliyetlidir. Moleküler yöntemler özellikle çoklu polimeraz zincir reaksiyonu (m-PCR) temelli moleküler yöntemler, sonuçları hem kısa sürede vermesi, hem daha güvenilir olması hem de birçok etkenin aynı anda tespit edilmesine olanak sağlaması bizlere avantaj sağlamaktadır (Huang ve ark., 2018; Hwang ve ark., 2015).

Çalışmada, hastanemizde çeşitli nedenlerle yatan hastalardan alt solunum yolu enfeksiyonu şüphesiyle laboratuvarımıza gönderilen solunum sistemi örneklerinde; *İnfluenza A virüsü*, *İnfluenza A virüsü Alt Tipi H3*, *İnfluenza A virüsü Alt Tipi H1N1* (pandemik 2009), *İnfluenza B virüsü*, *Solunum Sinsit Virüsü Alt Türü A*, *Solunum Sinsit Virüsü Alt Türü B*, *Rinovirüs*, *Metapneumovirus*, *Adenovirüs*, *Bocavirüs*, *Parainfluenza virüsü Tip 1*, *Parainfluenza virüsü Tip 2*, *Parainfluenza virüsü Tip 3*, *Parainfluenza virüsü Tip 4*, *Coronavirus 229E*, *Coronavirus HKU-1*, *Coronavirus NL63*, *Coronavirus OC43*, *SARS-CoV 2*, *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* ve *Mycoplasma pneumoniae* sıklığının multipleks-PCR yöntemi ile belirlenmesi ve tanıda bu etkenlerin atlanma durumunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Alt Solunum Yolu Enfeksiyonları

Alt solunum yolu, larenksin altındaki tüm yapılardan oluşmaktadır. Burada, trakea (trakeit), bronşlar ve bronşiyoller (bronşit ve bronşiyolit) ve distal hava yollarını (pnömoni) içeren enfeksiyonlar alt solunum yolu enfeksiyonları (ASYE) olarak adlandırılmaktadır (Procop ve ark.,2017).

1.1.1. Trakeobronşit

Akut enfeksiyonlara en sık bakteri ve virüsler neden olmaktadır. Çocuklarda yetişkinlere nazaran viral etkenler ve mikoplazmalar daha baskındır. Öksürük, ateş ve balgam çıkarma başlıca septomlardır. Apne nöbetleri görülebilir, ancak mortal değildir. (Procop ve ark., 2017).

1.1.2. Bronşiyolit

Distal hava yollarından önceki en küçük hava yollarının enfeksiyonudur. Virüsler ve *M. pneumoniae* en sık görülen etkenlerdir (Procop ve ark., 2017). Akut bronşiolitte özellikle en sık görülen etkenler başta *Respiratuar Sinsisyal Virüs (RSV)* olmakla beraber *Rinovirüsler*, *İnfluenza virüs*, *Parainfluenza virüsler*, *Koronavirüsler*, *Metapnömovirüs* ve daha az oranda diğer resipratuvar virüslerdir. Bronşiyolit, genellikle süt çocuğu ve bir yaştan küçük çocuklarda kendini göstermektedir ve çocuklarda hastaneye yatışların en sık nedenidir. Her mevsimde görülmesine rağmen genellikle kış aylarında ortaya çıkmaktadır. Anne sütü ile beslenme akut bronşiyolitten koruyucudur (Varkal ve ark., 2016). İlk 6 ayda emzirme ile anneden geçen antikorlar bebeği koruyabildiği gösterilmiştir. Erken doğum nedeniyle prematür bebek ve infantlarda anti-RSV IgG grubu antikorların plasentdan geçişi nispeten daha az olduğundan dolayı koruyuculuk tam sağlanamamaktadır (Dalt ve ark., 2013).

Akut bronşiyolitte en belirgin semptomlar, öksürük, hırıltılı solunum ve stridordur. Yetişkinlerde hastalık nadirdir, olsa bile hafif seyretmekte, ancak bulaştırıcı olduğu için öneme sahiptir. Septomatik tedavi çoğu zaman yeterlidir (Varkal ve ark., 2016).

1.1.3. Pnömoni

Solunum yollarının en ciddi enfeksiyonu olan pnömoni, alveoler kanallardan alveol keselerine kadar, distal hava alanlarında ortaya çıkmaktadır. Akciğer parankim dokusunun bakteri, virüs, parazit ve mantar ile oluşan enfeksiyonuna pnömoni denir (Procop ve ark., 2017).

Kişide günlük yaşamına devam ederken ortaya çıkan pnömoni toplum kökenli pnömoni (TKP) olarak adlandırılmaktadır. Dünya sağlık örgütü tüm dünyada ölümlerin en sık dördüncü nedeninin alt solunum yolu enfeksiyonları olduğunu belirtmektedir (WHO, 2019).

Oluşan pnömoninin tipi, konağın savunma mekanizmalarının durumu ile mikrobiyal faktörlerin kombinasyonuna bağlıdır. Çoğu pnömoni, solunum patojenlerinin inhalasyonundan veya mikroskobik ve subklinik olabilen üst solunum yolu içeriğinin aspirasyonundan kaynaklanmaktadır (Faner ve ark., 2017).

Tipik Pnömoni

Streptococcus pneumoniae, *Hemophilus influenzae* ve *Moraxella catarrhalis* gibi tipik bakteriyel etkenlerin neden olduğu pnömoni için kullanılan bir terimdir. Genel olarak ani başlangıçlı ateş, üşüme, titreme, prodüktif pürülan-kanlı balgam görülür ve muayenede karakteristik konsolidasyon bulguları saptanabilmektedir. Hastaya başlanacak ampirik antibiyotik tedavisinin belirlenmesi için tipik-atipik pnömoni ayrımı yapmak gerekmektedir (Karakök ve ark., 2022).

Atipik Pnömoni

Atipik pnömoni (AP) tabiri ilk olarak 1941'de *Mycoplasma pneumoniae*'nin neden olduğu toplum kökenli pnömoniler (TKP) tanımlamak amacıyla kullanılmıştır. Atipik denmesinin nedeni *Mycoplasma pneumoniae* pnömonisinin, *Streptococcus pneumoniae*, *Hemophilus influenzae* ve *Moraxella catarrhalis* gibi tipik pnömoni etkenlerinden farklı klinik ve radyolojik bulgularla prezente olmasıdır. Bununla beraber atipik pnömoniye başta virüsler olmak üzere, diğer bakteriyel etkenler, mantar ve parazitler de neden olabilmektedir (Procop ve ark., 2017).

1.2. Akut Alt Solunum Yolu Enfeksiyonlarına Neden Olan Viral Etkenler

1.2.1. İnfluenza Virüsleri

İnfluenza, her sezon raporlanan ve belgelenen, mortalite ve morbidite ile insanlarda küresel salgınlara ve pandemilere neden olmaya devam eden önemli akut bir solunum yolu hastalığıdır (Qi ve ark., 2021). *İnfluenza A, B ve C* insanları enfekte edebilmektedir (*İnfluenza C* nadirdir ve genellikle hafif bir üst solunum yolu hastalığına neden olmaktadır). Yirminci yüzyılın üç büyük pandemisine, *Orthomyxoviridae* ailesinin bir üyesi olan *İnfluenza Virüsü* Tip A neden olmuştur. Salgınlara genellikle *İnfluenza Virüsü* Tip A veya B neden olmaktadır. Tip A virüsü, insan, kuşlar, domuzlar, atlar ve diğer hayvanlar dahil olmak üzere çeşitli farklı konak türlerini enfekte edebilmektedir. *İnfluenza* Tip B ve C Virüsleri yalnızca insanları enfekte etmektedir; ancak *İnfluenza* Tip C Virüsü domuzlarda ve köpeklerde de izole edilmiştir (Parrish ve ark., 2015).

İnfluenza virüsünün sık ve kalıcı antijenik değişikliklere uğrama eğilimi, küresel durumun sürekli olarak izlenmesini ve influenza aşılarının bileşiminde yıllık ayarlamalar yapılmasını gerektirmektedir (Mozhgani ve ark., 2018). Bu genetik değişkenlik, tüm dünyada her yıl meydana gelen epidemilerden ve *İnfluenza A* virüsü için geçerli olan periyodik pandemilerden sorumludur (Procop ve ark., 2017).

En son *İnfluenza* pandemisi 2009 yılındaki H1N1 pandemisidir. Domuzlarla epidemiyolojik ilişkisi gösterilen bu izolat, yüksek düzeyde bulaşıcılık göstermesine karşın, her yıl ortaya çıkan *İnfluenza A* virüslerinden daha virülan değildir (Peteranderl ve ark., 2016).

*İnfluenza*nın klinik görünümü, yaşa, komorbiditelere, aşılama durumuna ve virüse karşı doğal bağışıklığa bağlı olarak hafif ila şiddetli arasında değişmektedir. Genellikle, mevsimlik aşı alan hastalar daha hafif semptomlar gösterir ve komplikasyon geliştirme olasılıkları daha düşüktür. Hafif vakalarda grip belirtileri ve semptomları arasında öksürük, ateş, boğaz ağrısı, kas ağrısı, baş ağrısı, burun akıntısı ve gözleri kısma bulunmaktadır (Karaarslan, F. 2019).

İnfluenza teşhisi için mevcut laboratuvar testleri, hızlı antijen tespiti, viral RNA tespiti için hızlı moleküler testler, direk veya indirek floresans boyama, gerçek zamanlı PCR testi ve hücre kültürüdür (Peteranderl ve ark., 2016; Karalı ve ark., 2020).

İnfluenza enfeksiyonu, başka komorbiditeleri olmayan sağlıklı bireylerin çoğunda kendi kendini sınırlayan ve hafif seyreden bir enfeksiyondur. Sağlıklı bireylerde hafif enfeksiyonlarda antiviral tedaviye gerek yoktur. Antiviral ilaçlar, özellikle hastane ve yataklı kurumlar gibi sağlık kuruluşlarındaki salgınlar sırasında influenza enfeksiyonunu tedavi etmek veya önlemek için kullanılabilir (Yang ve ark., 2019; Blanton ve ark., 2019).

Tüm hastalar, her yılın Kasım ayında mevcut olan yıllık influenza aşısını yaptırmaya teşvik edilmelidir. İnfluenza aşısı %100 etkili olmasa da çoğu insanda semptomların yoğunluğunu ve süresini azaltabilmektedir. İnfluenza aşısı, hastaneye yatışı engelleyebileceği için akciğer hastalığı, şeker hastalığı gibi kronik hastalığı olanlar, yaşlılar ve çocuklar tarafından yapılması önerilmektedir (Doyle ve ark., 2019).

1.2.2. Parainfluenza virüsleri

Paramyxoviridae ailesi geniş ve çeşitli virüsleri içermektedir. Aile, sırasıyla iki ve yedi cins içeren *Pneumovirinae* ve *Paramyxovirinae* olmak üzere iki alt aileye ayrılmıştır. *Paramiksovirüsler*, *Parainfluenza Virüsleri*, *Kabakulak Virüsü*, *Kızamık Virüsü*, *Solunum sinsityal virüsü (RSV)* ve *İnsan metapnömovirüsü (hMPV)* gibi çeşitli etkenleri içeren bir virüs grubudur (King ve ark., 2012).

İnsan parainfluenza virüsü (HPIV), *Paramyxoviridae* ailesine ait zarflı, negatif polariteli, tek sarmallı bir RNA virüsüdür. 1'den 4'e kadar numaralandırılmış dört serotipte sınıflandırılır (*HPIV-1*, *HPIV-2*, *HPIV-3* ve *HPIV-4*). Serotip 4, *HPIV-4A* ve *HPIV-4B* olarak sınıflandırılmaktadır. (Indumathi ve ark., 2015). *HPIV*, genellikle 5 yaşın altı çocuklarda, yetişkinlerde, bağışıklığı baskılanmış yetişkinlerde ve yaşlılarda hem ÜSYE, hem de ASYE'ye neden olabilmektedir. Tüm dünyada bebeklerde morbidite ve mortalitenin başlıca nedenlerinden biridir (Branche, A. R., & Falsey, A. R., 2016).

Parainfluenza virüsü, birkaç antijenik bölge ve ayrıca embriyonlu yumurtalardaki zayıf büyüme özellikleri ile *İnfluenza Virüsüne* benzemektedir (Wu ve ark., 2018).

HPIV'ler, 5 yaş altı çocuklarda akut solunum yolu enfeksiyonu nedeniyle hastaneye yatışların ana nedenlerinden biridir ve hastaneye yatışların %17'sini oluşturmaktadır. *HPIV'ler*, her yıl pediatrik popülasyondaki akut solunum yolu enfeksiyonlarının en az 1/3'ünden sorumludur. *HPIV 1, 2 ve 3* laringotrakeit, laringotrakeobronşit ve laringotrakeobronkopnömonin yanı sıra yıllık krup vakalarının yaklaşık %75'ini oluşturmaktadır. Krup vakalarının geri kalanı (yaklaşık %25) bakteriyel bir etiyolojiye sahiptir (DeGroot ve ark., 2020). Serolojik araştırmalar, *HPIV-3* ile enfekte olan çocukların %60'ının 2 yaş civarında olduğunu, 4 yaş civarındaki çocuklarda ise *HPIV-3* enfeksiyon oranının %80'e kadar çıktığını göstermiştir (Pawelczyk, M., & Kowalski, M. L., 2017). *Tip 4* tipik olarak yetişkinlerde ve çocuklarda hafif üst solunum yolu enfeksiyonu ile sonuçlanır, fakat nadiren görülmektedir (Sizar ve ark., 2021).

HPIV'nin mevsimselliği, dördünün her birine özgüdür. *HPIV-1*, tek sayılı yıllarda Eylül-Aralık aylarında vakalarda çarpıcı bir artışla işaretlenen iki yılda bir patern izlemektedir (Russell ve ark., 2019; Russell, E. & Ison M. G., 2017). Daha az sıklıkta görülen *HPIV-2* salgınları, *HPIV-1* ile birlikte iki yılda bir meydana gelir veya yıllık salgınlara neden olabilir (Russell ve ark., 2019; Russell, E. & Ison M. G., 2017; Liu ve ark., 2013). *HPIV-3* enfeksiyonlarının salgınları, esas olarak Nisan'dan Haziran'a kadar yıllık olarak meydana gelir. *HPIV-4*, *HPIV-3*'ünkine benzer bir mevsimsellik gösterir fakat nadiren izole edilmektedir (Russell ve ark., 2019)

Floresan antikör testleri ve moleküler testler *HPIV* enfeksiyonunu saptamak ve teşhis etmek için kolay ve verimli bir şekilde kullanılabilir. Serolojik testler klinik uygulamada nadiren kullanılmaktadır (Branche, A. R., & Falsey, A. R., 2016).

HPIV enfeksiyonunun tedavisi sağlıklı çocuklarda ve yetişkinlerde temel olarak semptomatiktir. Ne yazık ki, insan parainfluenza virüsü enfeksiyonu için etkinliği kanıtlanmış hiçbir antiviral ajan mevcut değildir (Branche, A. R., & Falsey, A. R., 2016).

1.2.3. Respiratuvar Sinsityal Virüsleri (RSV)

Dünya genelinde, *Respiratuar Sinsityal Virüs (RSV)* alt solunum yolu enfeksiyonunun en yaygın nedenidir. 5 yaş altı çocuklarda ve yaşlı erişkinlerde hastaneye yatışların, morbidite ve mortalitenin başlıca nedenlerindedir (Sadoff ve ark., 2022).

TND TÜRK NİCU-RSV'nin yaptığı, 44 yenidoğan yoğun bakım biriminin dahil edildiği bir çalışmada, akut ASYE etyolojisi ile hastaneye yatırılan yenidoğan bebeklerde %19,6 oranında RSV saptanmıştır. Bunların %68,4'ünü miadında doğmuş yenidoğanlar oluşturmuştur. RSV 'ye bağlı mortalite oranı ise %1,2 olarak tespit edilmiştir (Alan ve ark., 2016).

RSV Mononegalevirüslerden, Pneumoviridae (önceden *Paramyxoviridae* olarak sınıflandırılmaktaydı) ailesinde yer alan, zarflı, tek sarmallı, segmentsiz, negatif iplikli bir RNA virüsüdür (Afonso ve ark., 2016; Johansson C., 2016). *RSV'nin* yalnızca bir serotipi vardır, ancak çeşitli yapısal membran proteinlerinin, özellikle de bağlanma proteininin yapısındaki varyasyonlardan oluşan farklılıklarla, "A" ve "B" olmak üzere iki suşa sınıflandırılmaktadır (Nyiro ve ark., 2018; Krause, 2018).

RSV, solunum damlacık yoluyla kişiden kişiye bulaşır ve *RSV* ile karşılaşmadan sonraki kuluçka süresi, hastanın yaşı ve hastanın primer *RSV* enfeksiyonu olup olmadığı gibi konakçı faktörlere bağlı olarak ortalama 4 ila 6 gün arasında olmak üzere 2 ila 8 gün arasında değişmektedir (Schmidt, M. E., & Varga, S. M., 2020).

RSV enfeksiyonunda karşılaşılan en yaygın klinik tablo bir üst solunum yolu enfeksiyonudur, ancak *RSV* genellikle küçük çocuklarda bronşiolit gib küçük hava yolu obstrüksiyonu olan bir alt solunum yolu hastalığı olarak ortaya çıkmaktadır. Nadiren pnömoni, solunum yetmezliği, apne ve ölüme ilerleyebilmektedir. *RSV* insidansında mevsimsel farklılıklar vardır, ancak mevsimsel etkiler dünya çapındaki coğrafyaya göre değişmektedir; ılıman iklimlerde belirgin bir kış-ilkbahar hakimiyeti vardır. Prematüre bebekler, önceden kardiyak, pulmoner, nörolojik ve immünosupresif bozuklukları olan hastalar ve yaşlılar dahil olmak üzere bu hasta alt gruplarında morbidite ve mortalite önemli ölçüde daha yüksektir (Rabarison ve ark., 2019; Omer ve ark., 2019).

Virüs daha büyük çocukları ve yetişkinleri sıklıkla yeniden enfekte ettiğinden, insanlarda uzun süreli bağışıklık eksikliği nedeniyle sıklıkla yeniden enfeksiyon meydana gelmektedir (Schweitzer ve ark., 2021).

Anne sütü ile tam beslenme, süt çocuklarında mortalite ve morbiditeyi azalttığı tespit edilmiştir. Özellikle *RSV* ile ilişkili hastaneye yatışların azaldığı, hastaneye yatan infantlarda da solunum yetmezliği riskinin ve oksijen tedavi ihtiyacının azaldığı tespit edilmiştir. Bunun nedeni olarak anne sütü içindeki yüksek laktoferrin, kemotaktik sitokinler, T hücreler, IFN-gamma ve anne sütü mikrobiyomu ile bağlantılı olduğu ifade edilmektedir (Dixon, D. L., 2015)

RSV için spesifik tanı testleri, diğer hastalıklardan ayırt etmek için faydalı olabilmektedir. Yaygın olarak kullanılan iki metod mevcuttur: Hızlı antijen testi ve polimeraz zincir reaksiyonu bazlı (PCR) testler. Antijen testi hızlı, ucuz, spesifik ve nazal sekresyonlar üzerinde kolaylıkla gerçekleştirilmektedir (Coughtrie ve ark., 2018). PCR testleri, teknolojinin yaygınlaşması, hızlı sonuç verebilmesi, test kolaylığı, antijen testinden daha yüksek hassasiyet oranı ve bir mütipleks PCR (m-PCR) panelinin parçası olarak yapıldığında birden çok etkeni tespit etme yeteneği nedeniyle giderek daha yaygın hale gelmektedir (Ye ve ark., 2018).

Özellikle hastanede yatan hastalarda kesin tanının konulması, ampirik antibiyotiklerin kesilmesi ve hastane bulaşının önlenmesi, izolasyon ve enfeksiyon kontrolü için virüsün hızlı teşhisi yapılmalıdır (Drysdale ve ark., 2016). *RSV* enfeksiyonlarında tedavinin en önemli kısımları klinik tablonun yakından takibi, intravenöz sıvı ve oksijen tedavisidir. Semptomların tedavisinde aceleci davranmak hastaların büyük çoğunluğunda gereksiz antibiyotik kullanımına, steroid veya inhale bronkodilatör kullanımına neden olmaktadır (Domachowske ve ark., 2021; Sun ve ark., 2019; Di Giallonardo ve ark., 2018).

Şu anda, *RSV* enfeksiyonuna karşı etkili bir aşı henüz mevcut değildir (Neuzil K. M., 2016).

1.2.4. Koronavirüsleri

Koronavirüsler (CoV), zarf üzerinde spike glikoproteinlerin varlığı nedeniyle elektron mikroskobu altında (korona) taç benzeri bir görünüme sahip olduğu için bu

simi almıştır. Pozitif sarmallı RNA (+ssRNA) virüsleridir. *Koronavirüsler*, en uzun pozitif RNA genomuna sahip zarflı virüslerdir (Kadam ve ark., 2021).

Coronaviridae ailesinin *Orthocoronavirinae* alt ailesi (*Nidovirales* takımı) dört *CoV* cinsine ayrılmaktadır:

1. *Alfakoronavirüs (alphaCoV)*
2. *Betakoronavirüs (betaCoV)*
3. *Deltakoronavirüs (deltaCoV)*
4. *Gamakoronavirüs (gammaCoV)*

CoV'lar, toplumun %5-10'unda ASYE ve ÜSYE'ye neden olduğu ve %2'sinde sağlıklı *CoV* taşıyıcılığına neden olduğu tahmin edilmektedir (Lei ve ark., 2018).

İnsanlarda sık görülen *CoV*'lar: *HCoV-OC43* ve *HCoV-HKU1* (A soyunun *betaCoV*'ları); *HCoV-229E* ve *HCoV-NL63* (*alphaCoV*'lar). Bunlar, bağışıklığı normal kişilerde soğuk algınlığına ve hafif ÜSYE'lere neden olabilmektedirler. Fakat immün sistemi baskılanmış bireylerde ve ileri yaşlarda ASYE'lere neden olmaktadır. Diğer insan *CoV*'ları: *SARS-CoV*, *MERS-CoV* (B ve C soyunun *betaCoV*'ları) ve *SARS-CoV-2*'dir. *SARS-CoV-2*, daha önce *SARS-CoV* ve *MERS* ile ilişkilendirilen *Şiddetli Akut Solunum Sendromu Koronavirüsü (SARS-CoV)* ve Orta Doğu Solunum Sendromu Koronavirüsü (*MERS-CoV*) ile aynı alt türe ait yeni bir *betaCoV*'dir. Sırasıyla %10 ve %35'e varan mortaliteye sahip *CoV* salgınlarına neden olmuşlardır (Chan ve ark., 2020). Diğer *CoV*'lar gibi UV ışınlarına ve yüksek sıcaklığa karşı duyarlıdır. Bu virüs 54,5°C'de, 35.4 ± 9.0 dakika maruz kaldıktan sonra enfektivitesinde %90'luk düşüş meydana gelmektedir ve virüsün yarı ömrü 10.8 ± 3.0 dakika olmaktadır (Biryukov ve ark., 2021).

SARS-CoV-2 ile hayvan *CoV*'ları arasındaki gen dizileme karşılaştırmalarında, yarasaların *SARS-CoV-2* ve *betaCoV RaTG13*'ü (*Rhinolophus affinis*) arasında yüksek benzerlik (%96) tespit edilmiştir (Andersen ve ark., 2020). *SARS-CoV-2*'nin, SARS ve *MERS*'te olduğu gibi, yarasa, pangolin ve vizonlar gibi ara konaklara onlardan da insanlara ilerlediği tahmin edilmektedir (Zhang ve ark., 2020; Oreshkova ve ark., 2020).

Coronavirus hastalığı 2019 (COVID-19), *SARS-CoV-2*'nin neden olduğu bulaşıcılığı çok yüksek olan bir hastalık, dünyanın demografisi üzerinde feci bir etkiye

neden olmuştur. 2022 Mart ayı itibarıyla dünya çapında 6 milyondan fazla ölümlerle sonuçlanmıştır. 1918 İnfluenza pandemisinden (İspanyol Hastalığı) sonra dünyada en önemli sağlık krizi olarak tanımlanmıştır. Bu salgında SARS-CoV-2'nin çeşitli varyantları tanımlandıktan sonra, bunlardan yalnızca birkaçı, DSÖ tarafından endişe verici varyantlar (VOC'ler) olarak kabul edilmektedir. DSÖ'nün 11 Aralık 2021 tarihinde epidemiyolojik güncel verilerine göre, salgının başlangıcından bu yana 5 SARS-CoV-2 VOC tespit edilmiştir:

Alfa (B.1.1.7): Aralık 2020'nin sonlarında İngiltere'de açıklanan ilk türdür.

Beta (B.1.351) : İlk olarak Aralık 2020'de Güney Afrika'da rapor edilmiştir.

Gamma (P.1): İlk olarak Ocak 2021'in başlarında Brezilya'da bildirilmiştir.

Delta (B.1.617.2): İlk olarak Aralık 2020'de Hindistan'da rapor edilmiştir.

Omicron (B.1.1.529): İlk olarak Kasım 2021'de Güney Afrika'da rapor edilmiştir.

SARS-CoV-2 enfeksiyonunda insandan insana geçiş SARS-CoV ve MERS-CoV enfeksiyonlarından çok daha hızlı ve fazladır. Klinik olarak üst solunum yolu enfeksiyonu gibi hafif bir tablodan, pnömoninin görüldüğü orta/ağır bir klinik, solunum yetmezliği ve diğer sistem tutulumlarına bağlı komplikasyonlar nedeniyle ölümlerle sonuçlanabilen kritik vakalar şeklinde geniş bir yelpazeye sahiptir. Ortalama 5-6 günlük kuluçka süresine sahiptir. Klinik olarak farklı prezentasyona sahip olmakla beraber en sık saptanan klinik bulgular ateş, halsizlik, balgam, bulantı, nefes darlığı olup hastalığın evrelerine göre değişkenlik göstermektedir. Klinikte esas olarak pnömoni, soğuk algınlığı, nezle gibi üst ve alt solunum yolu enfeksiyonu tablosuyla karşımıza çıkmaktadır. Bununla beraber bulantı, kusma, diyare gibi gastrointestinal septomlar da görülmektedir. Daha az sıklıkta baş ve boğaz ağrısı, hemoptizi, konfüzyon, nefes darlığı ve göğüste sıkışma hissi olabilmektedir. Hastalık çocuklarda daha az görülmekle beraber, benzer septomlar görülebilse de daha hafif seyreder (Şenyiğit, A., 2021).

Hastalığın tutulduğu lokalizeye bağlı virüs inokülasyon yaptığı yerde mukoza hasarı ve/veya vaskülit nedeniyle tromboembolik olaylarla ilişkili olarak kardiyovasküler (myokardit, miyokard infarktüsü, perikardit), sindirim (tiroidit, anosmi, iskemik kolit, ishal, hepatit), santral sinir sistemi (inme, ensefalit, serebrovasküler olay),

üriner (akut böbrek yetmezliği), ürogenital (testesteron ve östrojen hormonu düzey anormallikleri) gibi farklı organ ve sistemlerde farklı bulgular ve komplikasyonlar ortaya çıkabilmektedir (Diken Ö. E., 2021). Hastalarda venöz hiperkoagulabiliteye meyil artmaktadır (Chaimayo ve ark, 2020).

Çocuklarda önemli bir sendrom olan multisistemik enflamatuvar sendrom (MIS-C) denilen Kawasaki Sendromuna benzeri ağır bir tabloya neden olabilmektedir (Gupta ve ark., 2021). MIS-C çocuklarda daha fazla görülse bile, erişkin hastalarda MIS-A olarak ortaya çıkabilmektedir. Aile hekimleri ve acil hekimleri bu hastalığı yetişkinlerde de göz önünde bulundurmalı, uzamış hastalığı olan erişkinlerde ayırıcı tanılarında ateş, döküntü, konjonktivit, lenfadenopati, gastrointestinal semptomlar veya baş ağrısı saptanması durumunda bu sendromu da akılda tutmalıdırlar (Özlu T. ve Zorlu D., 2021).

Hastalığın tanısı klinik, laboratuvar ve görüntüleme testleriyle konmaktadır. Hastalığın ciddiyetine tuttuğu sisteme göre bilgisayarlı tomografi ve diğer radyolojik görüntüleme yöntemleri kullanılabilir. Laboratuvar testleri, *SARS-CoV* ve *SARS-CoV-2* dışındaki koronavirüs enfeksiyonlarının tanısında rutin olarak kullanılmamaktadır. *SARS-CoV* da dahil olmak üzere koronavirüslerin tanısında tercih edilen yöntem, solunum yolu ve dışkı örneklerinde RT-PCR ve m-PCR ile viral RNA'nın saptanmasıdır. Boğaz sürüntüsünde RT-PCR testi ile kolayca *SARS-COV-2* tespiti yapılabilmektedir (Şenyiğit, A., 2021).

Tedavisinde genel olarak hastalığın ciddiyetine göre değişmektedir. Destek tedavisi başta olmak üzere, bronkodilatatörler, mukolitikler, antiviral ajanlar, analjezik ve antipiretikler, ko-enfeksiyon durumunda antibakteriyel kemoterapötikler, antiagreganlar, kortikosteroidler, anti- *SARS-CoV-2* nötralize edici antikor ürünleri ve immünomodülatör ajanlar kullanılmaktadır. Hastalığı önlemek için birçok aşı geliştirilmiştir (Felsenstein ve ark., 2020).

1.2.5. İnsan Metapnömovirüsleri (HMPV)

İnsan metapnömovirüsü (HMPV), çocuklarda, yetişkinlerde, yaşlılarda ve bağışıklığı baskılanmış hastalarda solunum yolu enfeksiyonlarının yaygın bir nedenidir (Uche, I. K., & Guerrero-Plata, A., 2018). 2016 yılında *Paramyxoviridae* ailesinden

Pneumoviridae ailesine yeniden sınıflandırılmıştır. *HMPV* ilk olarak 2001 yılında Hollanda'da keşfedildi. Ancak daha sonra tüm dünyada yaygın olarak tespit edilmiştir (Vinci ve ark., 2018).

HMPV, pediatrik popülasyonda daha yaygın olarak bulunmaktadır. Ağırlıklı olarak 2 yaşından küçüklerde görülmekle beraber, ortalama görüldüğü yaş 22 aydır. Seroprevalans çalışmalarına göre, çocukların yaklaşık %90 ila %100'ü 5 ila 10 yaşına kadar *HMPV* ile enfekte olmaktadır. (Inagaki ve ark., 2021).

HMPV enfeksiyonunun neden olduğu en baskın klinik senaryo üst ve/veya alt solunum yolu enfeksiyonlarıdır. *HMPV*'ye bağlı alt solunum yolu enfeksiyonları, zatürreye, bronşiolite ve ayrıca akut astım alevlenmelerine yol açabilmektedir (Vinci ve ark., 2018). Üst solunum yolu enfeksiyonunun yaygın semptomları arasında öksürük, burun akıntısı, tıkanıklık ve boğaz ağrısı bulunmaktadır. Alt solunum yolu enfeksiyonu semptomları arasında hırıltılı solunum, ateş, öksürük, nefes darlığı ve hipoksi bulunmaktadır. Daha sıklıkla, çocuklarda alt solunum yolu enfeksiyonları bronşiolite, akut astım alevlenmelerine, krup ve zatürreye neden olmaktadır. Bu, semptomların şiddetine bağlı olarak hastaneye yatış gerektirebilmektedir. Yetişkinlerde, *HMPV* pnömoni, akut astım alevlenmelerine ve kronik obstrüktif akciğer hastalığında akut alevlenmelere neden olabilmektedir. İshal, mide bulantısı ve kusma gibi gastrointestinal semptomlar da kaydedilmiştir (Vinci ve ark., 2018).

En yaygın olarak, *HMPV* enfeksiyonunun teyidi, nazofaringeal sürüntülerden alınan realtime PCR ve m-PCR ile yapılmaktadır. Tedavinin temel dayanağı, oksijen desteği, antipiretikler ve gerekirse hidrasyon ile destekleyici bakım önlemleridir. Tipik olarak destekleyici bakım önlemleri yeterlidir ve hastalar tamamen iyileşmektedir. *HMPV*'ye bağışıklığı baskın olan kişiler kısa süreli reenfeksiyona yakalanabilmektedir (Vinci ve ark., 2018).

1.2.6. Adenovirüsler

İnsan Adenovirüsler (HAdV), *Mastadenovirüs* cinsi içinde, zarfsız, ikosahedral viral partikül ile *Adenoviridae* ailesine aittir ve uzunluğu 26 ila 45 kb arasında değişen çift sarmallı bir DNA genomuna sahip bir virüstür (Rivailler ve ark., 2019).

HAdV hem yetişkinlerde hem de çocuklarda sıklıkla görülen, hayvanlarda ve insanlarda yaygın olan DNA virüsleridir. İnsanları enfekte eden 49 tipi ile 100'den fazla serolojik olarak farklı adenovirüs türü vardır (Lynch ve ark., 2016).

Çeşitli serotiplere dayanan *HAdV*, çoklu sendromun etiyolojik aracısı olarak bilinmektedir. Virüs çoklu organ sistemlerini enfekte eder; bununla birlikte, çoğu enfeksiyon asemptomatiktir. *HAdV* kemirgenlerde onkojenik olduğu kabul edilmektedir, ancak bu henüz insanlarda gözlenmemiştir (Bailey ve ark., 2019).

HAdV enfeksiyonu en çok ilkbahar veya kış başında görülmekte, ancak belirgin bir mevsimsellik olmaksızın yıl boyunca da ortaya çıkabilmektedir. Enfeksiyon ayrıca dış kaynaklardan (örneğin çarşaf, yastıklar, kilitli dolaplar) ve damlacık yoluyla, konjonktival inokulasyon, fekal-oral yayılma yolla ve enfekte kişilere maruz kalma yoluyla da oluşabilmektedir. *HAdV* solunum yolu hastalığı, konjonktivit, gastroenterit ve idrar yolu enfeksiyonu gibi çok çeşitli klinik semptomlara neden olabilen oldukça bulaşıcı bir patojendir. *HAdV* enfeksiyonlarının çoğu asemptomatiktir. *HAdV* semptomları arasında epidemik keratokonjonktivit, akut hemorajik sistit ve gastroenterit bulunmaktadır. Etkilenen organ sistemine bağlı olarak ateş, farenjit, servikal adenopati, koriza, sulu gözler, hematüri ve dispne görülebilmektedir. Fizik muayenede servikal adenopati, faringokonjonktivit ve tonsillit görülebilmektedir (Chen ve ark., 2015; Lei ve ark., 2017; Portal ve ark., 2019).

HAdV tanısı klinik olarak konulmaktadır. Viral kültür, PCR, viral antijen testi ve seroloji gibi diğer laboratuvar çalışmaları, adenovirüs teşhisinin konmasına yardımcı olabilmektedir. Çoğu durumda, adenovirüs enfeksiyonunun tedavisi destekleyicidir. Hidrasyon, NSAID'ler ve birkaç gün yatak istirahati faydalı olabilmektedir (Mao ve ark., 2022).

1.2.7. Enterovirüsler ve Rinovirüsler

Picornaviridae ailesindeki bir cins olan *Enterovirüs*; *Enterovirüsler*, *Koksakivirüsler*, *Rinovirüsler*, *Poliovirüsler* ve *Ekovirüslerden* oluşmaktadır. Bunlar, soğuk algınlığından çocuk felcine ve aseptik menenjitte kadar çok çeşitli hastalıklara neden olan etkenlerdendir. İnsanlarda, dünya çapında en yaygın bulaşıcı etkenler arasındadırlar (Pons-Salort, M. & Grassly, N. C., 2018; Suresh ve ark., 2018).

Cins ayrıca 12 türe, *enterovirüsler (EV) A-J (coxsackievirus (CV), poliovirüs (PV) ve ekovirüs* alt türlerini içerir) ve *rinovirüsler (RV) A-C*'ye ayrılmaktadır. Bunlar içinde 200'den fazla farklı serotip tanımlanmıştır (Nikonov ve ark., 2017).

Bu yaygın virüslerin neden olduğu hastalıklara karşı çocuk felci aşısı dışında herhangi bir aşı veya etkili tedavileri yoktur. Enfeksiyonlar genellikle kendi kendini sınırlamaktadır ancak önemli morbidite ve ekonomik etkilere neden olabilmektedir (Royston, L., & Tapparel, C., 2016).

Rinovirüsler

Rinovirüsler, KOAH'ın akut alevlenmelerine neden olan ve hastanede kalmayı gerektiren en yaygın solunum yolu virüsleridir. Ayrıca viral üst solunum yolu enfeksiyonları (ÜSYE) ile ilişkili astım alevlenmelerinin yaklaşık üçte ikisine neden olmaktadır. Enteroviral hastalıkların diyabet, *İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü (HIV)*, neoplazm veya nakil sonrası olan hastalar da dahil olmak üzere bağışıklığı baskılanmış hastalarda şiddetli olma olasılığı daha yüksektir (Huang, H. I., & Shih, S. R., 2015).

Rinovirüsler ateş, öksürük, hışırtı, burun akıntısı, kulak ağrısı, farenjit, burun tıkanıklığı ve artmış sinüs basıncına neden olmaktadır. Ayrıca hırıltılı solunum ve nefes darlığına da neden olabilmektedirler. Tanıda PCR ya da m-PCR saatler içinde sonuç verebilmektedir. PCR, diğer testlere göre oldukça yüksek duyarlılığa sahip olduğundan dolayı en sık kullanılan yöntemdir; ancak, maliyetinin yüksek olması, tecrübe ve ekipman ihtiyacı kullanımını sınırlamaktadır. (Egorova ve ark., 2019; Ylä-Pelto ve ark., 2016).

Tedavi septomatiktir ve destek tedavi yapılmaktadır. *Enterovirüsler* için onaylanmış tedaviler olmadığından, risk faktörlerini azaltmak ve koenfeksiyonları önlemek, komplikasyon riskini azaltmak için hayati önem taşımaktadır. Virüsler hem büyük hem de küçük damlacıklar yoluyla yayılabileceğinden, maske takmak hastalığın yayılmasını azaltmaktadır. Semptomatik sağlık çalışanları hastalığı hastalara yayabilmektedir (Egorova ve ark., 2019; Ylä-Pelto ve ark., 2016).

1.2.8. Bokavirüs

İnsan Bokavirüsü (HBoV) genotipleri, *Parvoviridae* familyasına, *Parvovirinae* alt familyasına, *Bocavirus* cinsine aittir ve yalnızca omurgalılarda enfeksiyona neden

olmaktadır. *Bocavirus* adı bovine *Parvovirus* (BPV) ve *Canine Minute Virus* (CMV) terimlerinin birleşiminden türemiştir ve bu iki yakın akrabanın dizi benzerliklerine ve genomik organizasyonuna dayanmaktadır. *Parvovirüsler*, tek bir lineer, negatif veya pozitif anlamlı, tek sarmallı DNA molekülü içeren, 18-26 nm çapında küçük, ikosahedral, zarfsız virüslerdir. İlk olarak 2005 yılında solunum yolu sürüntülerinden alınan örneklerde tanımlanan *HBoV* daha sonra insan dışkı örneklerinde *HBoVI* olarak adlandırılan ilk izole edilmiş alt tipten ayırt etmek için *HBoV2*, *HBoV3* ve *HBoV4* olarak adlandırılan üç ek *HBoV* alt tipi tanımlanmıştır (Cotmore ve ark., 2014).

HBoVI enfeksiyonunun en sık tanımlanan klinik sunumu öksürük, ateş, burun akıntısı, astım alevlenmesi, bronşiolit, akut hırıltılı solunum ve pnömoniye içerir. *HBoV2* ve diğer genotipler dışkı örneklerinde daha sık bulunmaktadır (Alam ve ark., 2015).

HBoV enfeksiyonu vakaları, *İnsan Rinovirüsü*, *Adenovirüs*, *Norovirüs*, *Rotavirüs* gibi diğer viral ve bakteriyel solunum ve gastroenterit patojenleri ile yüksek oranda koenfeksiyon göstermektedir. Özellikle, solunum yolu örneklerinin %83 kadarında ortak enfeksiyona neden olan patojenler bulunmuştur (Jiang ve ark., 2016). Özellikle *Respiratuar Sinsityal Virüs* (RSV) ile koenfeksiyon çok sık görülmektedir (%89,5) (Ghietto ve ark., 2015).

Tanıda PCR ya da m-PCR saatler içinde sonuç verebilmektedir. PCR, diğer testlere göre oldukça yüksek duyarlılığa sahip olduğundan dolayı en sık kullanılan yöntemdir; ancak, maliyetinin yüksek olması, tecrübe ve ekipman ihtiyacı kullanımını sınırlamaktadır. *HBoV* saptandığında özgül bir tedavisi yoktur. Tedavi genellikle septomatiktir (Prachayangprecha ve ark., 2014).

1.3. Akut ASYE'ye Neden Olan Atipik Bakteriyel Etkenler

1.3.1. *Bordetella pertussis*

İnsanlarda oldukça bulaşıcı ve önemli bir patojen olan *Bordetella pertussis* boğmaca (pertussis) etkenidir. Kelimenin tam anlamıyla "şiddetli bir öksürük" anlamına gelen ve boğmaca veya "100 günlük öksürük" olarak da bilinen pertussis, ilk olarak 1578 Paris salgınında tanımlanmıştır. Neden olan organizma *Bordetella pertussis*,

1906'da keşfedildi ve 1940'larda aşı geliştirildi. Boğmaca aşısı geliştirilmeden önce boğmaca, bebek morbidite ve mortalitesinin önemli bir nedenlerinden sayılmaktaydı (Leong ve ark., 2019).

Bakteriler morfolojik olarak *H. influenzae*'ya benzeyen küçük gram negatif koko-basillerdir. Toludin mavisi boyası ile bipolar metakromatik granüller gösterilebilmektedir. Bir kapsülü mevcuttur. *B. pertussis*' in ilk izolasyonu için zenginleştirilmiş besiyerine ihtiyaç vardır. Penisilin G (0.5 g/mL) içeren Bordet-Gengou besiyeri (patates-kan-gliserol agar) kullanılabilen, bununla birlikte, raf ömrünün daha uzun olması nedeniyle *Legionella pneumophila* için kullanılan benzer odun kömürü içeren bir besiyeri (Regan-Lowe) tercih edilmektedir. Plaklar 35-37°C'de nemli ortamda 3-7 gün inkübe edilmektedir. Küçük, soluk boyanan gram negatif basiller immunofloresan boya ile tanımlanmaktadır. *Bordetella*'ların çeşitli türleri mevcuttur. *B. pertussis* hareketsizdir, zorunlu aroptur, oksidaz ve katalaz pozitif, nitrat, sitrat ve üreaz negatiftir. Bu özellikleri ile diğer bordetella türlerinden ayrılmaktadır. Pasajlarda X ve V faktörlerine gereksinme göstermemektedir. Kan içeren besiyerinde hemoliz *B. pertussis*'in virülansı ile ilgilidir (Nieves, D. J., & Heininger, U., 2016).

B. pertussis insan konağı dışında sadece çok kısa süre canlı kalmaktadır. Bakteri trakea ve bronş epitellerinin yüzeyine tutunarak hızla çoğalmaktadır ve silier hareketi bozmaktadır. Bakteriyemi yapmayan *B. pertussis* yüzey hücrelerini bozan toksin ve maddeleri salarak öksürük ve belirgin bir lenfositozu neden olmaktadır. Boğmacaya neden olan etkenler sırasıyla *Bordetella pertussis* ve *Bordetella parapertussis*'tir. *Bordetella* havadaki damlacıklar tarafından yayılmaktadır ve oldukça bulaşıcıdır. Boğmaca genellikle aşı olmayan ev temaslılarının %100'ünü etkilemektedir. Bağışıklık, bir aşı serisini tamamladıktan 12 yıl sonra %50'ye düşmektedir. Bağışıklığı baskılanmış kişilere ayrıca tipik olarak hayvanları etkileyen ve yaygın olarak "kulübe öksürüğü" olarak bilinen *Bordetella bronchiseptica* da bulaşabilmektedir (Dou ve ark., 2019).

Bordetella'nın tek rezervuarı insanlardır; organizma, öksürük sırasında üretilen aerosol haline getirilmiş damlacıklar yoluyla yayılmaktadır. Dünya çapında, yılda 160.000'den fazla ölümle 24 milyondan fazla vaka bildirilmektedir. Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC), bu verilerin mevcut olduğu en son yıl olan 2012'de Amerika

Birleşik Devletleri'nde 48.000'den fazla vaka bildirmiştir. Teşhisteki zorluk nedeniyle, CDC muhtemelen eksik raporlama olduğunu tahmin etmektedir (Jenkinson D., 2019).

1 ila 3 haftalık (ortalama 10 gün) bir kuluçka döneminden sonra, boğmaca enfeksiyonu tipik olarak üç farklı aşamada ilerler: Nezle fazı, paroksizmal faz ve nekahat fazı. Nezle fazı, ateş, yorgunluk, burun akıntısı ve gözlerde yaşarma ile diğer üst solunum yolu enfeksiyonlarına benzer şekilde ortaya çıkar. Nezle evresi 1 ila 2 hafta sürer ve hastalığın en bulaşıcı evresidir. Paroksizmal faz, nezle fazını takip eder ve kesik kesik öksürük nöbetleri ve ateşin çözülmesi ile karakterizedir. Hasta tipik olarak tekrar tekrar öksürür, ardından karakteristik "boğmaca"yı sergileyen güçlü bir inspirasyon gelmektedir. Bu öksürük nöbetleri soğuk veya gürültü ile tetiklenebilir ve geceleri daha sık görülmektedir. Hastalar toksik görünümlü değildir, ancak öksürük atakları sırasında siyanoz, terleme veya apne sergileyebilmektedir. Paroksizmin hemen ardından hastalarda öksürük sonrası kusma, senkop veya apne gelişebilmektedir. Son olarak, iyileşme evresi sırasında, genellikle başka bir üst solunum yolu enfeksiyonu veya tahriş edicilere maruz kalma ile tetiklenen, haftalar ila aylarca süren kronik bir öksürük meydana gelmektedir (Lauria, A. M., & Zabbo, C. P., 2021).

Atipik klinik olgular bebeklerde yaygındır ve ateş görülmeyebilmektedir. Bunun yerine takipne, apne, siyanoz ve epizodik bradikardi bulguları mevcut olabilmektedir. Öksürükten kaynaklanan artan intratorasik basınç, meme başı hattının üzerinde peteşi, subkonjonktival kanama ve burun kanaması ile sonuçlanabilmektedir. Nefes sesleri değişkendir; oskültasyonda akciğerler temiz olabilmekte veya ronkusalı ortaya çıkarabilmekte, raller sekonder pnömoniyi düşündürmektedir. Tipik inspiratuvar boğmaca öksürüğü genellikle 6 ay ile 5 yaş arasındaki çocuklarda duyulmaktadır (Lauria, A. M., & Zabbo, C. P., 2021).

Örnek alımında serum fizyolojik ile burun yıkama suyu tercih edilmektedir. Nazofaringeal sürüntüler veya paroksizma sırasında hastanın karşısında tutulan "öksürük plağı" na saçılan öksürük damlaları da bazen kullanılabilir ama serum fizyolojik ile burun yıkama suyu kadar iyi değildir. Serum fizyolojikte burun yıkama suyu katı besiyerine ekilmektedir. Besiyerindeki antibiyotikler diğer solunum yolu florasını inhibe ederek *B. pertussis*'in üremesini kolaylaştırmaktadır. Bakteriler immünofluoresan boya veya özgül antiserum ile lam aglütinasyonu ile

tanımlanmaktadır. Direkt Floresan Antikor (DFA)'da duyarlılık %50 kadardır. PCR boğmaca tanısında en duyarlı yöntemdir. Hem *B. pertussis* hem de *B. parapertussis* için primerler bulundurulmalıdır. PCR, kültürden daha duyarlı ve spesifiktir, ancak testler yaygın değildir. Multipleks PCR yöntemleriyle kısa sürede tanısı konulabilmektedir. Hastalarda serolojik testlerin tanı yönünden değeri sınırlıdır çünkü hastalığın üçüncü haftasına kadar aglütinan veya presipitan antikorlarda yükselme olmamaktadır. Tek bir serumda yüksek bir antikor titresi birkaç hafta süren uzun süreli öksürük etkeninin tanısını koymada yardımcı olabilmektedir (Toubiana ve ark., 2019).

Boğmaca tedavisi oksijen, aspirasyon, hidrasyon ve solunum tahriş edici maddelerden kaçınma dahil olmak üzere büyük ölçüde destekleyicidir. Antibiyotik tedavisinin birincil amacı, hastalığın taşınmasını ve yayılmasını azaltmaktır. Eritromisin (günde 40 ila 50 mg/kg, günde maksimum 2 g, 2 ila 3'e bölünmüş dozlarda) boğmaca için birinci basamak tedavidir. Azitromisin (1. günde günde 10 mg/kg, ardından 2 ila 5. günlerde 5 mg/kg) ve klaritromisin (iki bölünmüş dozda günde 15 mg/kg) alternatif tedavilerdir. Yakın temaslılar azitromisin veya eritromisin ile tedavi edilmelidir. Çocuklara 2., 4., 6., 18. (rapel) ve 48. (rapel) aylarda aselüler aşı ile aşılama önerilmektedir (Lauria, A. M., & Zabbo, C. P., 2021).

Boğmaca ile enfekte olan çoğu insan, genellikle aylarca süren uzun bir hastalıktan sonra da olsa tamamen iyileşmektedir. Bebekler ve yaşlılar sırasıyla en yüksek mortalite ve morbiditeye sahip olma eğilimindedir. Bebek ölüm oranı vakaların yaklaşık %2' sidir ve boğmacaya bağlı ölümlerin %96' sını oluşturmaktadır. Yaşlı hastalar, diğer kronik hastalıklar nedeniyle artan morbiditeye ve ayrıca pnömoni gibi artan komplikasyon oranına sahip olma eğilimindedir (Forsyth ve ark., 2018).

1.3.2. *Bordetella parapertussis*

Bu bakteri boğmacaya benzer bir hastalık oluşturmaktadır, ancak genellikle daha hafiftir seyretmektedir. Enfeksiyon çoğunlukla subkliniktir. *Bordetella parapertussis* tipik *B. pertussis*'den daha hızlı ürer ve daha büyük koloni oluşturmaktadır. Ayrıca kanlı agarda da üreyebilmektedir. *B. parapertussis*'de pertussis toksin geninin sessiz bir kopyası bulunmaktadır (Procop ve ark., 2017).

1.3.3. *Mycoplasma pneumoniae*

Mycoplasmatales takımı; *Eperythrozoon*, *Haemobartonella*, *Mycoplasma* ve *Ureaplasma* olmak üzere dört cins içermektedir. Klinik olarak en önemli cinsler, 125 tür *Mycoplasma* ve 7 tür *Ureaplasma* olup, en önemli tür *Mycoplasma pneumoniae*'dir (Murray ve ark., 2017).

Mycoplasma serbest yaşayan en küçük bakterilerdir. Bakteriler arasında, hücre duvarına sahip olmayan ve hücre membranlarında sterol bulunan tek gruptur. Bunun aksine, hücre duvarından yoksun diğer bakteriler (L formu) hücre membranlarında sterol içermezler ve uygun üreme koşullarında hücre duvarlarını yeniden oluşturabilmektedirler. Hücre duvarlarının olmaması nedeniyle mikoplazmalar, hücre duvarı sentezini etkileyen penisilinler, sefalosporinler, vankomisin ve diğer antibiyotiklere karşı dirençlidirler. Ayrıca *Mycoplasmatales* üyelerinin hücre duvarı olmadığı için, majör antijenik determinantları membran glikolipidleri ve proteinleridir. Bu antijenler, insan dokularıyla ve diğer bakterilerle çapraz reaksiyon göstermektedirler. Mikoplazmalar fakültatif anaeropturlar (zorunlu aerob olan *M. pneumoniae* dışında) ve üreme için besiyerine hayvan serumu eklenmesiyle sağlanan ekzojen sterollere gereksinim duymaktadırlar. Mikoplazmalar yavaş ürerler, bölünme süreleri 1-16 saat arasındadır ve çoğu, inkübasyonun uzatılmasına gerek kalmadan, saptanamayacak kadar küçük koloniler oluşturarak çoğalırlar (Youn, Y. S., & Lee, K. Y., 2012; Procop ve ark., 2017).

M. pneumoniae zorunlu bir insan patojenidir. *M. Pneumoniae*'nin etken olduğu solunum yolu hastalıkları, mevsimsel bir artış olmaksızın tüm yıl boyunca, dünyada her yerde ve her toplumda ortaya çıkmaktadır. Ayrıca, diğer enfeksiyöz etkenlerin oluşturduğu hastalıkların kış aylarında daha sık görülmesi nedeniyle, *M. pneumoniae* enfeksiyonları yaz ve sonbahar boyunca oran olarak daha yaygındır (Youn, Y. S., & Lee, K. Y., 2012).

M. pneumoniae, enfekte bireylerin burun, boğaz, trake ve alt solunum yollarında kolonize olmakta ve öksürük sırasında saçılan damlacıklarla yayılmaktadır. *M. pneumoniae*, insanların normal mukozal floralarının bir üyesi değildir; ancak semptomatik hastalığı takiben uzun süren bir taşıyıcılık meydana gelebilmektedir. *M. pneumoniae* enfeksiyonunun en sık görülen klinik tablosu trakeobronşittir. Bulaştan 2-3

hafta sonra, subfebril ateş, yorgunluk, baş ağrısı, kuru ve non-produktif öksürük gelişmektedir. Akut farenjit de görülebilmektedir. Semptomlar birkaç gün içinde giderek kötüleşmekte ve 2 hafta ya da daha uzun süre kalıcı olabilmektedir. Bronş kanallarına lenfositler ve plazma hücreleri yerleşmektedir. Akciğer radyografisinde görülen tipik yama tarzı bronkopnömoni ile birlikte pnömoni (primer atipik pnömoni veya yürüyen pnömoni olarak da bilinir) gelişebilmektedir. Kas ağrısı ve gastrointestinal sistem semptomları yaygın değildir. İkincil komplikasyonlar; nörolojik anomaliler (örn. meningoensefalit, paralizi, miyelit), perikardit, hemolitik anemi, artrit ve mukokütanöz lezyonlar gelişebilmektedir (Lee ve ark., 2021; Murray ve ark., 2017).

Tanısı için mikroskopi yararlı değildir, çünkü organizmaların hücre duvarı yoktur ve rutin boyalarla boyanmazlar. Kültürde üreme yavaş (pozitif sonuç için 2-6 hafta) ve duyarsızdır; çoğu laboratuvarında uygulanma olanağı yoktur. Polimeraz zincir reaksiyonu temelli amplifikasyon yöntemleri mükemmel duyarlılığa sahiptir, ancak özgüllük iyi tanımlanmamıştır. Daha yaygın temin edilebilir olduğunda tercih edilecek tanı testleri olacaktır. Serolojik olarak glikolipid antijenlere karşı antikor titreleri, 4 hafta içinde en yüksek düzeye ulaşır ve 6-12 ay kalıcıdır. Bu testin duyarlılık ve özgüllüğü düşüktür. Soğuk aglütinin testi duyarlılık ve özgüllüğü düşüktür, diğer solunum patojenleriyle (örn. Epstein-Barr virüsü, sitomegalovirüs, adenovirüs) çapraz-reaksiyon vermektedir. Bu test yaygın olarak kullanılır ancak önerilmemektedir. Eritromisin, tetrasiklinler (özellikle doksisisiklin) ve florokinolonlar *M. pneumoniae* enfeksiyonlarının tedavisinde eşit olarak etkilidirler; bununla birlikte yetişkinler için tetrasiklin ve florokinolonlar tercih edilmektedir (Tsai ve ark., 2021).

1.4. Moleküler yöntemler

PCR yöntemi 1983 yılında keşfedildikten sonra moleküler yöntemler büyük bir hızla geliştirmiş ve mikrobiyolojide birçok enfeksiyonun tanısında mikrobiyologların vazgeçilmesi haline gelmiştir. Günümüzde moleküler yöntemler, sadece tanı amacıyla değil, moleküler epidemiyoloji, DNA dizi analizi, genotiplendirme, antiviral direnç paternlerinin belirlenmesi ve hatta yeni virusların keşfedilmesi gibi alanlarda çok amaçlı olarak kullanılmaktadırlar (Ulu E. & Cacina C., 2020).

Virolojik tanıda moleküler yöntemlerin kullanımı, klinik örneklerde viruslara ait DNA ya da RNA'larının tespiti esasına dayanmaktadır. Bu amaçla en sık olarak hibridizasyon ve nükleik asit amplifikasyon (NAA) yöntemleri kullanılmaktadır. Bunun için ilk basamak, çeşitli klinik örneklerden nükleik asitlerin izolasyonudur. Bu nedenle önce hücre parçalama, daha sonra nükleik asit saflaştırma (ekstraksiyon, purification) işlemleri uygulanmaktadır. Klinik örnek içinde bulunan kimyasal ve/veya hücre sel elemanlar; deterjan etkili çeşitli bileşikler, enzimler ya da denatüran ajanlarla elimine edilmektedir ve nükleik asitler diğer moleküllerden ayrıştırılmaktadır. Nükleik asitlerin saflaştırılmasında konvansiyonel yöntemler (kaynatma, fenol- kloroform, proteinaz K, vb) kullanılabileceği gibi ticari kitler ya da otomatize sistemler de kullanılabilmektedir. Saflaştırılma işleminden sonra temel olarak hibridizasyon ya da amplifikasyon yöntemleriyle saptanmaktadır (Ustaçelebi, Ş., & Us, A. D., 2014).

1.4.1. Hibridizasyon yöntemleri

Bu yöntemler, hedef viral nükleik asidin işaretli sentetik prob molekülleri ile özgül olarak birleşmesi ve bu birleşme ile oluşan sinyallerin tespitine dayanmaktadır. Yöntem için kullanılacak prob, hedef alınan viral nükleik aside baz dizisi olarak komplementer olan ve saptanmasını sağlayacak bir işaret taşıyan in vitro olarak sentezlenmiş bir oligonükleotid (<50 nükleotid)'dir. Kullanılacak probun viral nükleik asidi tanıyarak bağlanabilmesi için, önce saflaştırılan klinik örnekteki kalıp DNA ısı ile denatüre edilmektedir. Daha sonra uygun sıcaklığa soğutularak probun örnekteki hedefe bağlanması sağlanmaktadır. Sinyalin saptanması, probun işaretlenme biçimine göre yapılmaktadır. Prob olarak kullanılan DNA veya RNA molekülleri çeşitli maddelerle (enzimler, kemilüminesan maddeler, radyoizotoplar) işaretlenebilmektedir. Saptama metodu ise otoradyografi ya da farklı floresans veren "bildirici" (reporter) moleküller kullanılarak uygulanmaktadır. Hibridizasyon yöntemleri sık olarak amplifikasyondan sonra elde edilen ürünlerin saptanması amacıyla, amplifikasyon yöntemlerinin ardından da kullanılabilmektedir (Ustaçelebi, Ş., & Us, A. D., 2014).

1.4.2. Amplifikasyon yöntemleri

Amplifikasyon (çoğaltma) yöntemlerinde, virusa ait nükleik asidin belirli bir kısmının ya da bu kısmı tanıyan işaretin veya işaretli molekülün saptanabilecek düzeyde

çoğaltılması hedeflenmektedir. İşlem sonucunda elde edilen ürün (amplikon), hedefe ait özgül genetik verileri içermektedir. Bu yöntemler teknik farklılıklarına göre çeşitli şekillerde kullanılabilir. Ancak viroloji tanı laboratuvarlarında en sık tercih edilen ve en yaygın kullanılan yöntem, hedef amplifikasyonunun yapıldığı polimeraz zincir reaksiyonudur.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve Multipleks PCR

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) DNA replikasyon temel biyokimyasından faydalanarak, belirli bir DNA parçasının çoğaltılmasını (amplikasyon) hedef almaktadır. Amplifiye edilen DNA kısmı genellikle tanı veya tedavi açısından önemli bilgileri içermektedir. PCR reaksiyon karışımı, ampifiliye edilecek hedef DNA'dan ve temel karışımdan (master mix) oluşmaktadır. Temel karışım, sırasıyla; oligonükleotid DNA primerleri, dört nükleotid trifosfat, termostabil DNA polimeraz, magnezyum klorür ve su ya da tamponları içerir. Geleneksel PCR birbirini tekrarlayan üç aşamadan oluşmaktadır ki, bu isminin 'zincir reaksiyonu' kısmının temelini oluşturmaktadır. Bu üç aşama (1) DNA denatürasyonu – veya DNA'nın iki zincirinin ayrıştırılması, (2) primerlerin bağlanması (annealing) ve (3) primerlerin uzaması (extension) DNA sentezinin meydana geldiği kısımdır (Sevindik ve ark., 2013).

İlk basamak olan kalıp DNA molekülünün denatürasyonu reaksiyon karışımının sıcaklığının yaklaşık olarak 95 °C 'ye yükseltilmesi ile gerçekleştirilmektedir. Çift zincirli DNA fiziksel olarak tek zincirlere ayrılmaktadır. Bunun nedeni, yüksek sıcaklık ile DNA'nın iki zincirini düşük sıcaklıklarda bir arada tutan hidrojen bağlarının kırmasından kaynaklanmaktadır. Termal denatürasyon soğutma ile kolayca tersine çevrilebildiğinden, kimyasal denatürasyona tercih edilmektedir. PCR'ın ikinci aşaması, primerlerin bağlanmasıdır (annealing). Bu aşama, reaksiyon karışımının soğutulması ile başlamakta ve çoğaltılmak istenilen bölgeye yavaşan oligonükleotid primerler, kalıp DNA molekülünün tek zincirleri ile hibridize olmaktadır. Oligonükleotid primerler, genellikle 12 ve 20 nükleotid arası uzunlukta olup, DNA sentezini başlatmak veya sağlamakla görevli kısa DNA parçalarıdır. Primerlerden biri, DNA'nın üst zinciri ile aynı polaritededir ve ileri (forward) primer olarak adlandırılmaktadır. Diğerisi ise DNA'nın karşı zinciri ile aynı polaritededir ve geri (reverse) primer olarak tanımlanmaktadır. Bu primerler, hedef ile geleneksel Watson ve Crick baz çiftleşmesine

göre hibridize oldukları için, primer bağlanma sıcaklığı T_M 'ye veya erime sıcaklığına eşit veya daha az olmalıdır; basitçe T_M , primerlerin bağlandığı sıcaklıktır. Eğer tek bir DNA amplifikasyon ürünü (amplikon olarak da bilinir) elde edilmek isteniyorsa, ilgili DNA molekülünün tek bir bölgesi ile hibridize olan primerler seçilmelidir. Primerlerin, aynı organizmanın molekülünün başka kısımları ile veya örnek hazırlanması sırasında ortamda bulunabilecek başka bir türün DNA'sı ile hibridize olmaması önemlidir. İnsan genomu ile çapraz reaktivite, kullanılan saptama sistemine bağlı olarak, en iyi ihtimalle reaksiyon karışımı içinde bulunan primerleri ve nükleotid trifosfatları özgül olmayarak tüketebilir ya da en kötü ihtimalle yanlış pozitif PCR sonucuna sebep olabilmektedir (Ulu E. & Cacina C., 2020).

Parental DNA zincirine komplementer yeni bir DNA zinciri sentezi, primer bağlanması tamamlandıktan sonra DNA enzimi aracılığıyla gerçekleşmektedir. Isıya dirençli (termostabil) DNA polimeraz enziminin keşfi, bu reaksiyonun her termal nükleik asit denatürasyon basamağından sonra yeni bir enzim eklenmesine gerek duyulmadan kapalı bir tüp içinde yapılabilmesini sağlamıştır. DNA polimeraz, yeni komplementer zinciri 25 baz çifti (bc)/saniye (sn) hızında sentezlemektedir. Bu durum, reaksiyonun uzama fazının, amplikonun uzunluğu temel alındığında, ne kadar süreceğinin belirlenmesinde önemlidir. Amplikonun tam olarak uzamasını sağlamak üzere yeterli süre geçtiğinde, reaksiyon karışımı 95°C 'ye çevrilerek PCR'nin bir başka döngüsü sağlanmaktadır. Bu şekilde, bir DNA molekülünün hedef kısmının katlanarak (eksponensiyel) çoğaltılması sağlanmaktadır ve milyonlarca amplikon elde edilmektedir. DNA'nın hedef kısmının katlanarak çoğaltılıyor olması, PCR'nin neden bu kadar yüksek duyarlılığa sahip olduğunu ve örnekte çok az sayıda bulunan patojenleri başarıyla saptayabildiğini açıklamaktadır. Bu yüksek duyarlılık ayrıca, amplifiye olmuş DNA ile çalışırken neden çok dikkatli olunması gerektiğini de açıklar; zira amplifiye olmuş moleküllerden her biri eğer ortama salınırsa, klinik örneği kontamine edebilir (amplikon kontaminasyonu) ve yanlış pozitif reaksiyona sebep olabilmektedir. Her ne kadar PCR, hedef DNA'nın tek bir kopyası bulunsa dahi saptayabilir gibi görünse de pratikte klinik örneklerde bu testlerin duyarlılığını sınırlandıran çok sayıda PCR inhibitörü bulunabilmektedir. Nükleik asit ekstraksiyonu aşaması, klinik örneklerin amplifikasyon öncesi işlenerek, inhibitörlerden arındırılması ve nükleik asit

amplifikasyonu için hazırlandığı safha olup, en az amplifikasyon reaksiyonu kadar önemlidir (Procop ve ark., 2017).

Multipleks PCR birden fazla etken saptanması için kullanılan, alternatif bir geniş aralıklı PCR yöntemidir. Bu testlerin en basit formunda, her biri ayrı bir patojeni hedefleyen çoklu primer setleri kullanılmaktadır. Daha karmaşık multipleks testlerde ise, geniş spektrumlu ve türe Özgül primer setlerinin bir kombinasyonu kullanılabilir. Multipleks testlerin yararı, taksonomik olarak birbiriyle alakasız gruplardan bile olsa, çok sayıda patojenin tek bir reaksiyon ile aynı anda saptayabilmesidir. Bazı durumlarda amplifikasyon reaksiyonları sırasında örneğe, β -globin veya nükleik asit bileşeni gibi bir insan genini hedefleyen bir primer seti eklenebilir; bunlar reaksiyonun internal amplifikasyon kontrolleridir. İnternal kontrolün amplifikasyonunu sağlamak, amplifikasyon reaksiyonunun inhibe olmadığını göstermek açısından önemlidir. Bu sayede negatif sonuçların doğruluğundan emin olunması sağlanmaktadır. Multipleks testler, genellikle aynı tip hastalığa sebep olan farklı mikroorganizmaları saptamak için kullanılmaktadırlar (sendromik yaklaşım). Örneğin, bakteriyel menenjitin en sık etkenleri olan *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *N. meningitidis*'i saptamaya yönelik multipleks testler geliştirilmiştir. Menenjit ve meningoensefalite sebep olan viral etkenlerin saptanmasına yönelik olarak da, bir dizi multipleks test tasarlanmıştır. Multipleks PCR testleri, özellikle olası patojen sayısının sınırlı olduğu durumlarda faydalıdır (Sevindik ve ark., 2013; Procop ve ark., 2017).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Hasta Seçimi ve Verilerin Toplanması

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaşı Tıp Merkezin’de Kasım 2021 – Kasım 2022 tarihleri arasında çeşitli servis ve yoğunbakım ünitelerinde yatmakta olan hastalarda alt solunum yolu enfeksiyonu şüphesi ile laboratuvarımıza gönderilen balgam, bronkoalveolar lavaj (BAL), trakeal aspirat gibi alt solunum yolu örnekleri işleme alınmıştır.

COVID-19’a bağlı ve/veya tespit edilmiş bir bakteriyel etkene bağlı pnömoni hastaları ile çalışmamıza katılmaya gönüllü olmayan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır.

Hastalardan alınan örnekler bakteriyolojik açıdan değerlendirildikten sonra soğuk zincir kurallarına uyularak -80 C’de muhafaza edilmiştir. Hastalardan ek bir klinik örnek alınmamıştır.

2.2. Etik Kurul Onayı

Çalışmamız Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Girişimel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 10.12.2021 tarih ve 2021/13-20 sayılı kararı ile onay almıştır.

2.3. Örneklerin Alınması

2.3.1. Balgam

Ekspektore balgam ağız steril su veya serum fizyolojik ile çalkalandıktan sonra derin bir öksürükle bir defada verilmek suretiyle alınmıştır.

Hastalardan alınan örnekler ekstraksiyon işleminden önce N-acetylcysteine eklenmiş boncuklu falcon tüplerinde homojenize edilmiştir. Homojenizasyon işlemi, klinik örneğin N-asetil-L-sistein (NALC) ve trisodyum fosfat ile işleme tabi tutulmak suretiyle içinde bulunan organik kalıntılardan (eritrosit, lökosit, vücut sıvıları ve doku parçaları) arındırarak mukus, epitel ve diğer şekilli elemanlar arasında gizlenmiş olan etkenleri ortaya çıkarmak için yapılmıştır.

2.3.2. Trakeal Aspirat

Trakeostomili ve entübe hastalardan aspirasyonla alınan örnekler steril burgulu kapaklı balgam kabına konarak laboratuvara gönderilmiştir. Yeni doğanlar, süt çocukları ve küçük çocuklar için aspirat örneği üst solunum yolundan “auger” kullanılarak toplanmıştır.

2.3.4. BAL (Bronş Yıkama Sıvısı)

Akciğer segmentinin fleksibl bronkoskop yardımı ile steril serum fizyolojik ile yıkanması ile örnek alınmıştır. Bronşial ve alveollerin distalinden sekresyon içeren alanın lavajıyla ayrı ayrı BAL örnekler elde edilmiştir. (Kantitatif yöntem için en az 40-80 ml sıvı gerekli) Başlangıçtaki gelen sıvı dışarı atılarak, son kısmı kültür, boyama ve PCR için gönderilmiştir.

2.4. Multipleks PCR Yöntemi

2.4.1. Kullanılan Kit ve Cihazın Özellikleri

Akut solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan ana patojenlerin tanımlanması için, Solunum Doğrudan Akış Çipi (Vitro Master Diagnostica, İspanya) kiti kullanılmıştır.

Solunum Doğrudan Akış Çipi kiti, *İnfluenza virüsü*, *Adenovirus*, *Bocavirus*, *Koronavirus*, *Metapneumovirus*, *Parainfluenza virüsü*, *Solunum Sinsityal Virüsü* (Alt Tip A ve Alt Tip B), *Rhinovirus*, *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* ve *Mycoplasma pneumoniae*’yı içeren 11 patojeni saptamaktadır (Tablo 1).

Tablo 1. Kit ile saptanan virüs tipleri

| Virüsler | Alt tipler |
|--------------------------------|---|
| <i>İnfluenza virüsleri:</i> | <i>Influenza</i> Tip A: H3 alt tipi ve H1N1 alt tipi (pandemi 2009), <i>Influenza</i> Tip B |
| <i>Adenovirüs</i> serotipleri | Tip 1, Tip 2, Tip 3, Tip 4, Tür 6, Tür 7, Tip 8, Tip 11, Tip 12, Tip 16, Tip 18, Tip 21, Tip 31, Tip 34 |
| <i>Koronavirüs</i> türleri: | <i>229E, HKU 1, NL63, OC43, SARS CoV 2</i> |
| <i>Parainfluenza virüsler</i> | Tip 1, Tip 2, Tip 3, Tip 4 |
| <i>Human Metapnömovirüs</i> | - |
| <i>Human Bokavirüs</i> | - |
| <i>Solunum Sinsityal Virüs</i> | Alt Tip A ve Alt Tip B |
| <i>Rhinovirüs</i> | - |

2.4.2. Yöntemin Esasları

Solunum Doğrudan Akış Çipi kiti, sadece bir adımda RT-multipleks PCR ile viral DNA, viral RNA ve bakterilerin eşzamanlı amplifikasyonundan oluşan bir metodolojiye dayanmaktadır, ardından spesifik DNA problemleri olan membranlarda DNA doğrudan akış teknolojisi kullanılarak hibridizasyon yapılmaktadır. RT-PCR'den sonra üretilen biyotinlenmiş ampliconlar, her virüs için bir dizi spesifik probun ve bunlarla birlikte amplifikasyon ve hibridizasyon kontrol problemlerini içeren zarlarda hibridize edilmektedir. DNA doğrudan akış teknolojisi, bir yüzeydeki hibridizasyon ile karşılaştırıldığında PCR ürününün ve spesifik probunun üç boyutlu gözenekli bir ortamda hızlı bağlanmasına izin vermektedir. Spesifik ampliconlar ve bunlara karşılık gelen problemler arasında bağlanma gerçekleştikten sonra, sinyal, streptavidin-fosfat ve bir kromojen (NBT-BCIP) ile immünoenzimatik bir kolorimetrik reaksiyonla görselleştirilmektedir ve bunlar, içerisinde hibridizasyonun olduğu bu pozisyonlarda çözünmeyen çökeltiler meydana getirmektedir. Sonuçlar hybriSoft™ yazılımı ile otomatik olarak analiz edilmektedir.

2.4.3. Kit İçeriği

Solunum Doğrudan Akış Çipi, klinik örneklerin analizi için kullanılacak hibridizasyon platformunun türüne bağlı olarak iki ana formatta bulunmaktadır. Her iki format da, 24 klinik örnek için multipleks PCR, amplifikasyon ve daha sonra hibridizasyonu için gerekli tüm reaktifleri içermektedir (Tablo 2 ve Tablo 3).

Solunum Doğrudan Akış Çip kiti (PCR Reaktifleri): Liyofilize reaktifleri içeren şerit biçiminde 0.2 ml'lik 8 tüplü iki PCR karışımı için hazırlanmıştır – (mix 1 ve mix 2)

-Mix 1'e (şeffaf olan) karşılık gelen tüpler; lyophilize formatta olan bileşenleri içermektedir: PCR tamponu, dNTP'ler (U / T), DNaz ve RNaz içermeyen su, biyotinlenmiş ve biyotinlenmemiş primerler, ekzojen amplifikasyon DNA kontrolü, RNaz inhibütörleri, Hot Start Polymerase, Reverse Transcriptase and Uracil DNA Glycosylase.

8 viral türün amplifikasyonuna özgü primerler içermektedir: Bu türler; *İnfluenza A virüsü*, *İnfluenza A virüsü* Alt Tipi H3, *İnfluenza A virüsü* Alt Tipi H1N1 (pandemik 2009), *İnfluenza B virüsü*, *Solunum Sinsit Virüsü* Alt Türü A, *Solunum Sinsit Virüsü* Alt Türü B, *Rinovirüs* ve *Metapneumovirus*.

Ayrıca, bu primerler insan genomik DNA'sının (endojen kontrol) amplifikasyon fragmanını ve ekzojen amplifikasyon kontrolü olarak kullanılan sentetik DNA fragmanını içermektedir.

Tablo 2. Manuel solunum kiti tarafından sağlanan reaktifler

| KİT/ İçerik | FORMAT | REFERANS |
|---|-----------------|----------------------|
| Solunum Doğrudan Akış Kiti(Manual) | 24 test | MAD-003939M-HS12 |
| 1.Solunum Doğrudan Akış Çip Kiti (PCR reaktifleri) | 24 test | MAD-003939M-P |
| Solunum PCR Mix 1 | 3 serit × 8 tüp | MAD-003939M-MIX1 |
| Solunum PCR Mix 2 | 3 serit × 8 tüp | MAD-003939M-MIX2 |
| 2. Solunum Çipleri | 24 test | MAD-003939M-CH-HS |
| 3. Flow Chip Hybridization Reagents Type I (Manual) | 24 test | MAD-003925M-HS12 |
| Hybridization Solution (Reagent A) | 40 ml | MAD-003930MA-HS12-24 |
| Blocking Solution (Reagent B) | 10 ml | MAD-003930MB-HS12-24 |
| Streptavidin-Alkaline Phosphatase (Reagent C) | 10 ml | MAD-003930MC-HS12-24 |
| Washing Buffer I (Reagent D) | 35 ml | MAD-003930MD-HS12-24 |
| Reagent E | 10 ml | MAD-003930ME- |
| Washing Buffer II (Reagent F) | 18 ml | MAD-003930MF-HS12-24 |

Tablo 3. Otomatik solunum kiti tarafından sağlanan reaktifler

| KİT/ İçerik | FORMAT | REFERANS |
|--|------------------------|--------------------------|
| Solunum Doğrudan Akış Kiti (AUTO) | 24 test | MAD-003939M-HS |
| 1.Solunum Doğrudan Akış Çip Kiti (PCR reaktifleri) | 24 test | MAD-003939M-P |
| Solunum PCR Mix 1 | 3 serit x 8 tüp | MAD-003939M-MIX1 |
| Solunum PCR Mix 2 | 3 seritx 8 tüp | MAD-003939M-MIX2 |
| 2. Solunum Çipleri | 24 test | MAD-003939M-CH-HS |
| 3. Flow Chip Hybridization Reagents Type I (AUTO) | 24 test | MAD-003925M-HS |
| Hybridization Solution (Reagent A) | 60 ml | MAD-003930MA-HS24-24 |
| Blocking Solution (Reagent B) | 10 ml | MAD-003930MB-HS24-24 |
| Streptavidin-Alkaline Phosphatase (Reagent C) | 10 ml | MAD-003930MC-HS24-24 |
| Washing Buffer I (Reagent D) | 35 ml | MAD-003930MD-HS24-24 |
| Reagent E | 10 ml | MAD-003930ME- HS24 |

Mix 2'e (sarı olan) karşılık gelen tüpler; lyophilize formatta olan bileşenleri içermektedir: PCR tamponu, dNTP'ler (U / T), DNaz ve RNaz içermeyen su, biyotinlenmiş ve biyotinlenmemiş primerler, ekzojen amplifikasyon DNA kontrolü, RNaz inhibitörleri, Hot Start Polymerase, Reverse Transcriptase and Uracil DNA Glycosylase.

13 patojenik tür türünün amplifikasyonuna özgü primerler içermektedir: *Adenovirüs*, *Bocavirüs*, *Parainfluenza virüsü* Tip 1, *Parainfluenza virüsü* Tip 2, *Parainfluenza virüsü* Tip 3, *Parainfluenza virüsü* Tip 4, *Coronavirus 229E*, *Coronavirus HKU-1*, *Coronavirus NL63*, *Coronavirus OC43*, *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* ve *Mycoplasma pneumoniae*.

Ayrıca, bu primerler insan genomik DNA'sının (endojen kontrol) amplifikasyon fragmanını ve ekzojen amplifikasyon kontrolü olarak kullanılan sentetik DNA fragmanını içermektedir.

Solunum Çipleri: Kit, analize dahil edilen, her bir patojene spesifik özgü dizi DNA probunu içeren, aynı zamanda iç kontrol içeren toplamda 24 Çip içermektedir.

Flow Chip Hibridizasyon Reaktifleri: Ters doğrudan akış hibridizasyon işlemi için gerekli tüm reaktifleri içermektedir.

Tüpler ekstraksiyondan sonra termal cyclera yerleştirilerek ve aşağıda tablo 4'deki gibi amplifikasyon koşullarını ayarlanmaktadır.

Tablo 4. PCR programı

| °C | Süre | Döngü |
|-------|-----------|----------|
| 25 °C | 5 dakika | 1 döngü |
| 50 °C | 20 dakika | 1 döngü |
| 95 °C | 5 dakika | 1 döngü |
| 95 °C | 30 saniye | 45 döngü |
| 60 °C | 1 dakika | |
| 8 °C | Sonsuz | |

Reaksiyon tamamlandığında tüpleri 8-10 ° C'de buzdolabında tutulmuş ve bekletilmeden diğer aşamalara geçilmiştir.

Doğrudan Akış Ters Hibridizasyon

Bütün reaktifler hazır formatta hazırlanmıştır. Kite bağlı olarak çalışma aşağıdaki gibidir:

Hibridizasyon işlemi, sistemin sihirbazı tarafından verilen talimatları izleyerek hybriSpot'ta (HS12) yarı otomatik olarak yapılmaktadır. Numunelerin yönetimi, görüntülerin yakalanması ve sonuçların analizi ve raporlanması hybriSoft yazılımı tarafından gerçekleştirilmiştir.

2.4.5. HS12a Analiz Prosedürü

PCR ve hibridizasyon işlemleri yoluyla amplifikasyon, Hs12a platformunda otomatik olarak gerçekleştirilmiştir. Numunenin işlenmesi, görüntülerin yakalanması ve sonuç analizi hybriSoft yazılımı ile gerçekleştirilmiştir.

2.4.6. Kalite Kontrol Protokolü

Solunum doğrudan akış kiti, kalite kontrolü için çeşitli noktalarda iç kontroller içermektedir. Tablo 5'de kontrol noktaları gösterilmektedir.

Tablo 5. Solunum Kiti kontrol noktaları

| PROB | KONTROL | POZİSYONU |
|--------|--|----------------|
| B | Hibridizasyon kontrolü | 1A-1B-2I-5E-8A |
| CI-1 | Ekzojen amplifikasyon kontrol karışımı 1 | 1C-5F |
| CI-2 | Ekzojen amplifikasyon kontrol karışımı 2 | 1D-5G |
| RNaseP | Endojen amplifikasyon kontrol karışımı 1 | 1E-6A |
| BG | Endojen amplifikasyon kontrol karışımı 2 | 1F-6B |

Hibridizasyon kontrolü: Membranların geliştirilmesinden sonra, kalite kontrolü olarak hizmet eden beş hibridizasyon kontrol noktasının hepsinde yoğun sinyal görünmelidir. Bu sinyal hibridizasyon reaktiflerinin ve geliştirilmesinin düzgün çalıştığını göstermektedir. Sinyal görünmezse, hibridizasyon işlemi sırasında bir hata oluştuğunu veya bir reaktifin doğru şekilde kullanılmadığını göstermektedir. Ayrıca, bu sinyal, yazılımın sonraki analizi gerçekleştirmek için prob panelini doğru yönlendirmesini sağlamaktadır.

Ekzojen amplifikasyon kontrolü (CI-1): PCR mix 1 de bulunan sentetik DNA'yı saptar. Bu DNA, numunenin genetik materyali ile birlikte amplifiye edilmektedir. Ekzojen amplifikasyon kontrol 1 (CI-1) noktasındaki iki pozitif sinyal, karışım 1'deki PCR reaksiyonunun doğru çalıştığını göstermektedir. Endojen kontrol 1, doğru şekilde amplifiye edilmişse ve / veya numune karışıma dahil edilen organizmaların herhangi biri için pozitifse, bu kontroldeki negatif bir sonuç sonucu geçersiz kılmamaktadır.

Ekzojen amplifikasyon kontrolü (CI-2): PCR mix 2 de bulunan sentetik DNA'yı saptamaktadır. Bu DNA, numunenin genetik materyali ile birlikte amplifiye edilmektedir. Ekzojen amplifikasyon kontrol 2' (CI-2) noktasındaki iki pozitif sinyal, karışım 2'deki PCR reaksiyonunun doğru çalıştığını göstermektedir. Endojen kontrol 2 doğru şekilde amplifiye edilmişse ve / veya numune, karışıma dahil edilen organizmaların herhangi biri için pozitifse, bu kontroldeki negatif bir sonuç sonucu geçersiz kılmamaktadır.

Endojen amplifikasyon kontrol karışımı 1 (RNaseP): Mix1 kullanıldığında PCR sırasında birlikte amplifiye edilen insan RNaseP geninin DNA'sını tespit etmektedir. Test DNA'sının doğru şekilde amplifiye edildiği tüm numuneler Endojen amplifikasyon Kontrolünde (RNaseP) pozitif bir sinyale sahip olmaktadır. Bu sinyal

amplifikasyonda kullanılan DNA'nın kalitesini / miktarını göstermektedir. Pozitif bir sinyal, amplifikasyonun doğru çalıştığını ve bunun için kullanılan DNA'nın kalitesinin ve miktarının optimal değerde olduğunu göstermektedir. Bu kontrol için sinyal eksikliği, amplifikasyonda kullanılan DNA'nın düşük kalitesi / miktarı veya amplifikasyonda insan DNA'sı eksikliği nedeniyle amplifikasyon sırasında hatalar olduğunu göstermektedir. Bu kontroldeki negatif bir sonuç, eksojen kontrol 1 doğru şekilde amplifiye edilmişse ve / veya numune, karışıma dahil edilen organizmaların herhangi biri için pozitif olması durumunda sonucu geçersiz kılmamaktadır. İkinci durumda, daha az sayıda insan hücresi içeren klinik örnek tiplerinde ortaya çıkması muhtemeldir.

Endojen amplifikasyon kontrol karışımı 2 (BG): mix 2 kullanıldığında PCR sırasında birlikte amplifiye edilen insan beta-globülin geninin DNA'sını tespit edilmemektedir. Test DNA'sının doğru şekilde amplifiye edildiği tüm numuneler Endojen amplifikasyon kontrolünde (BG) pozitif bir sinyale sahip olmaktadır. Bu sinyal amplifikasyonda kullanılan DNA'nın kalitesini / miktarını göstermektedir. Pozitif bir sinyal, amplifikasyonun doğru çalıştığını ve bunun için kullanılan DNA'nın kalitesinin ve miktarının optimal olduğunu göstermektedir. Bu kontrol için sinyal eksikliği, amplifikasyonda kullanılan DNA'nın düşük kalitesi / miktarı veya amplifikasyonda insan DNA'sı eksikliği nedeniyle amplifikasyon sırasında hatalar olduğunu göstermektedir.

Eksojen kontrol 2 doğru şekilde amplifiye edilmişse ve / veya numune bu karışıma dahil edilen organizmaların herhangi biri için pozitifse, bu kontroldeki negatif bir sonuç sonucu geçersiz kılmamaktadır. İkinci durumda, daha az sayıda insan hücresi içeren klinik örnek tiplerinde ortaya çıkması muhtemeldir.

Bir örnek, kite dahil olan patojenlerden herhangi biri için pozitif olduğunda, eksojen ve endojen amplifikasyon kontrolleri için negatif bir sonuç verirse, HybriSoft yazılımı ile sonuçların otomatik analizi raporu, “eksojen kontrol yok / insan yok” uyarısını göstermektedir. DNA kontrolü için kullanıcı, sonucu doğrulamadan önce uygun doğrulamaların gerçekleştirilmesini sağlamaktadır.

2.4.7. Sonuçların Yorumlanması

Sonuçların yorumlanması HybriSoft'un analiz yazılımı kullanılarak otomatik olarak yapılmaktadır. Aşağıdaki şema problemlerin Solunum Çipleri üzerindeki yerleşimini göstermektedir:

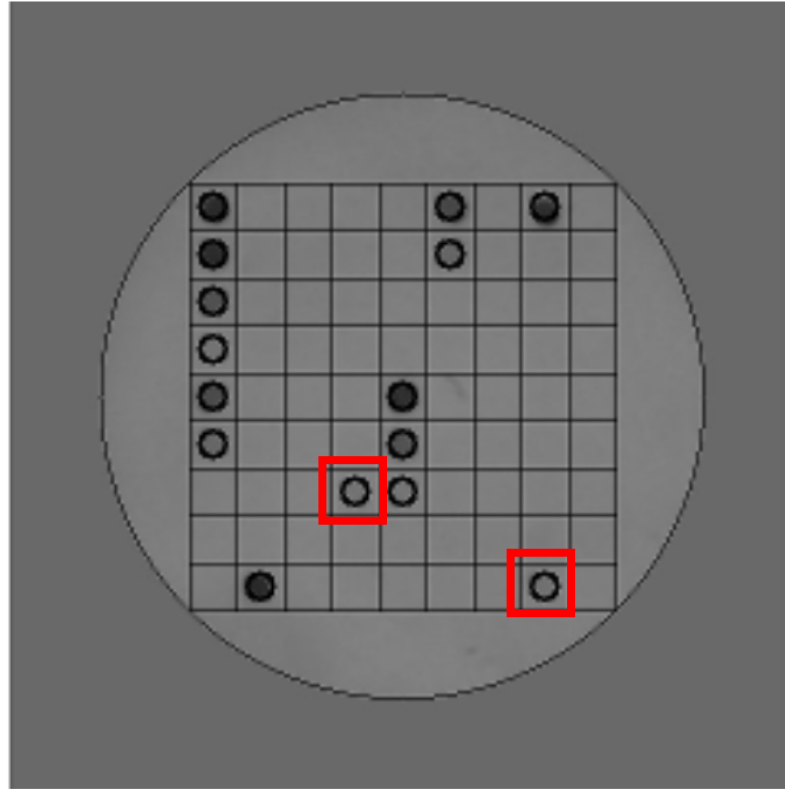
| | | | | | | | | |
|--------|-----------|----------|----------|----------|-----------|-------|----------|--|
| B | FluA | PIV-1 | CoV-OC43 | | RNaseP | RSV-A | B | |
| B | FluA-H1N1 | PIV-2 | BP | | BG | RSV-B | CoV-229E | |
| CI-1 | FluA-H3 | PIV-3 | BPP | | | RhV | CoV-HKU1 | |
| CI-2 | FluB | PIV-4 | MP | | | PIV-1 | CoV-NL63 | |
| RNaseP | MPV | AdV | EV | B | FluA | PIV-2 | BPP | |
| BG | RSV-A | Bov | CoV-2 | CI-1 | FluA-H1N1 | PIV-3 | MP | |
| | RSV-B | CoV-229E | SARS | CI-2 | FluA-H3 | PIV-4 | EV | |
| | RhV | CoV-HKU1 | | CoV-OC43 | FluB | AdV | CoV-2 | |
| | B | CoV-NL63 | | BP | MPV | Bov | SARS | |

Şekil 1. Sonuç yorumlama çip görünümü

“B”: Hibridizasyon kontrolü, “CI-1”: Ekzojen amplifikasyon kontrolü mix1, “CI-2”: Ekzojen amplifikasyon kontrolü mix2, “RNaseP”: Endojen amplifikasyon kontrol karışımı 1 (fragment human RNaseP), “BG”: Endojen amplifikasyon kontrol karışımı 2 (fragment human β -Globin), “X”: Patojen spesifik probu

Bütün problemlerin sonuçlarının otomatik analizinde güvenilirliği garanti etmek için iki tanedir. Hibridizasyon kontrolü 5 pozisyonda tekrarlanır ve yazılımın daha sonra analiz için prob panelini doğru yönlendirmesini sağlamaktadır.

| | | | | | | | | |
|--------|-----------|----------|----------|----------|-----------|-------|----------|--|
| B | FluA | PIV-1 | CoV-OC43 | | RNaseP | RSV-A | B | |
| B | FluA-H1N1 | PIV-2 | BP | | BG | RSV-B | CoV-229E | |
| CI-1 | FluA-H3 | PIV-3 | BPP | | | RhV | CoV-HKU1 | |
| CI-2 | FluB | PIV-4 | MP | | | PIV-1 | CoV-NL63 | |
| RNaseP | MPV | AdV | EV | B | FluA | PIV-2 | BPP | |
| BG | RSV-A | Bov | CoV-2 | CI-1 | FluA-H1N1 | PIV-3 | MP | |
| | RSV-B | CoV-229E | SARS | CI-2 | FluA-H3 | PIV-4 | EV | |
| | RhV | CoV-HKU1 | | CoV-OC43 | FluB | AdV | CoV-2 | |
| | B | CoV-NL63 | | BP | MPV | Bov | SARS | |



Şekil 2. SARS-CoV 2 için pozitif örnek görüntüsü

3. BULGULAR

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaşı Tıp Merkezin’de Kasım 2021-Kasım 2022 tarihleri arasında yaşları 2-89 arasında, randomize olarak seçilen toplam 50 hastanın solunum örnekleri işleme alınmıştır. Toplam 50 hastanın 37’ü (%74) erkek ve 13’ü (%26) kadınlardan oluşmaktadır. 50 hastanın 3’ü (%6) 18 yaş altı pediatrik hasta grubu iken, 47’si (%94) erişkin hastalardan oluşmaktaydı. Pediatrik hastaların yaş ortalaması 1,3; erişkin hastaları yaş ortalaması 56,5 tespit edilmiştir. Hastaların demografik özellikleri Tablo 6’da verilmiştir.

Tablo 6. Hastaların demografik özellikleri

| Yaş Grubu | Cinsiyet | n | Yaş | | |
|-----------|---------------|-----------|-----------|-----------|------------|
| | | | Min | Max | Ortalama |
| Çocuk | E | 3 | 1 | 2 | 1,3 |
| | K | 0 | - | - | - |
| | Toplam | 3 | 1 | 2 | 1,3 |
| Yetişkin | E | 34 | 23 | 89 | 60 |
| | K | 13 | 28 | 79 | 53 |
| | Toplam | 47 | 23 | 89 | 58 |

Hastaların 36’sından (%72) balgam, 11’inden (%22) BAL ve 3’ünden (%6) aspirasyon sıvısı örnekleri alınmıştır. Hastalardan alınan klinik numunelerin dağılımı Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7. Hastalardan alınan klinik numunelerin dağılımı

| Numune Türü | Sayı |
|----------------------|-----------|
| Balgam | 36 |
| Bronkoalveolar Lavaj | 11 |
| Aspirasyon Sıvısı | 3 |
| Toplam | 50 |

Hastaların 25’i (%50) yoğun bakımda takip edilmekteydi. Örneklerin 11’i (%22) Anestezi Ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi, 11’i (%22) Göğüs Hastalıkları Servisi ve 28’i (%56) ise diğer kliniklerden gönderilmiştir. Hastaların bölümlere göre dağılımı Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8. Hastaların bölümlere göre dağılımı

| Bölüm | Sayı |
|-----------------------------|-------------|
| Anestezi YBÜ | 11 |
| Göğüs Hast. Servisi | 11 |
| Tıbbi Onkoloji Servisi | 6 |
| Beyin Cerrahi YBÜ | 3 |
| Pediyatri YBÜ | 3 |
| Nöroloji YBÜ | 3 |
| Hematoloji Servisi | 2 |
| Göğüs Cerrahisi Servisi | 2 |
| Ortopedi Servisi | 1 |
| İç Hastalıkları Servisi | 1 |
| İç Hastalıkları YBÜ | 1 |
| Kalp Ve Damar Cerrahisi YBÜ | 1 |
| Kardiyoloji YBÜ | 1 |
| Nefroloji Servisi | 1 |
| Enfeksiyon Hast. Servisi | 1 |
| Göğüs Hastalıkları YBÜ | 1 |
| Tıbbi Onkoloji YBÜ | 1 |
| Toplam | 50 |

Hastaların 16'sında (%32) yatış yapıldıktan 48 içerisinde solunum yolu örneği alınmıştır. 34 (%68) hastanın ise örnek alım tarihleri 3-59 gün arasında değişmektedir. Tüm hastaların klinik özellikleri ayrıntılı olarak Tablo 9'da verilmiştir.

Pozitif tespit ettiğimiz 4 hastanın 3'ünde CRP yüksek, 1'inde ise üst sınırdadır. Beyaz küre sayısı 3 hastada lenfosit lehine, 1 hastada nötrofil lehine yüksek bulunmuştur. Nötrofil yüksekliği saptanan hastanın prokalsitonin değeri de yüksek bulunmuştur. Hastaların laboratuvar bulguları ayrıntılı olarak Tablo 10'da verilmiştir.

Tablo 9. Hastaların klinik özellikleri

| Hasta No | Yaş | Cins | Tanımlar | PCR Test Sonucu | Örnek Türü | Örnek Alma Süresi (gün) |
|----------|-----|-------|---|-----------------|-----------------|-------------------------|
| 1 | 75 | Erkek | DM, Kalp Kapak Bozukluğu | Negatif | Balgam | 10 |
| 2 | 77 | Erkek | Bronş ve Akciğer Ca | Negatif | Balgam | 10 |
| 3 | 62 | Erkek | Anormal Akciğer Görüntülemesi | Negatif | Balgam | 1 |
| 4 | 30 | Erkek | Astım, Pulmoner Embolizm | Negatif | Balgam | 3 |
| 5 | 55 | Erkek | İmmün Yetmezlik, Kandida Stomatiti | SARS CoV-2 | Balgam | 1 |
| 6 | 68 | Erkek | Pulmoner Embolizm | Negatif | Balgam | 6 |
| 7 | 80 | Erkek | Solunum Yetmezliği, Kalp Yetmezliği | Negatif | Balgam | 59 |
| 8 | 69 | Erkek | Ağrı | Negatif | Balgam | 16 |
| 9 | 62 | Kadın | Kronik Osteomyelit | Negatif | Balgam | 8 |
| 10 | 74 | Kadın | Solunum Yetmezliği + SVO + DM | Negatif | Balgam | 21 |
| 11 | 28 | Kadın | Akciğer Apsesi + Pnömoni | Negatif | Balgam | 5 |
| 12 | 23 | Erkek | Hemoptizi | Negatif | Balgam | 1 |
| 13 | 44 | Erkek | DM + Kanama + Baş Dönmesi | Negatif | Balgam | 18 |
| 14 | 50 | Kadın | DM + Solunum Yetmezliği | Negatif | Balgam | 24 |
| 15 | 49 | Erkek | Pnömotoraks | Negatif | Balgam | 19 |
| 16 | 59 | Erkek | Anormal Akciğer Görüntülemesi | Negatif | Balgam | 34 |
| 17 | 44 | Kadın | Özofagus Ca, Pulmoner Embolizm | Negatif | Balgam | 13 |
| 18 | 64 | Erkek | Bakteriyel Pnömoni, KOAH, Pulmoner Embolizm | Negatif | Balgam | 1 |
| 19 | 59 | Erkek | HIV, Sifiliz, Akciğer Tüberkülozu | Negatif | Balgam | 2 |
| 20 | 75 | Erkek | KOAH | Negatif | Balgam | 22 |
| 21 | 67 | Erkek | KOAH | Negatif | Balgam | 7 |
| 22 | 37 | Kadın | Solunum Yetmezliği, Pulmoner Embolizm | Negatif | Balgam | 4 |
| 23 | 72 | Erkek | Bakteriyel Pnömoni, Akut Böbrek Yetmezliği | Negatif | Balgam | 1 |
| 24 | 1 | Erkek | Solunum Yetmezliği, İmmün Yetmezlikler | Negatif | Trakeal Aspirat | 12 |
| 25 | 49 | Kadın | Pulmoner Embolizm, KVH, DM | Negatif | Balgam | 3 |

(Devamı diğer sayfada)

Tablo 9 (Devamı). Hastaların klinik özellikleri

| Hasta No | Yaş | Cins | Tanımlar | PCR Test Sonucu | Örnek Türü | Örnek Alma Süresi (gün) |
|----------|-----|-------|---|------------------------|-----------------|-------------------------|
| 26 | 61 | Erkek | Solunum Bozuklukları | Negatif | BAL | 9 |
| 27 | 79 | Kadın | KOAH, Akut Bronşit | Negatif | BAL | 2 |
| 28 | 60 | Erkek | Bronş ve Akciğer Ca, Pulmoner Embolizm | Negatif | Balgam | 20 |
| 29 | 54 | Kadın | Akut Böbrek Yetmezliği | Negatif | BAL | 12 |
| 30 | 61 | Erkek | DM, Pulmoner Embolizm | Negatif | Balgam | 1 |
| 31 | 31 | Erkek | Pnömoni | Negatif | Balgam | 2 |
| 32 | 89 | Erkek | İmmün Yetmezlikler | Negatif | BAL | 21 |
| 33 | 53 | Erkek | Pulmoner Embolizm, Yumuşak Doku Sarkomu | Negatif | BAL | 20 |
| 34 | 72 | Kadın | Multiple Myelom, Akut Böbrek Yetmezliği | Negatif | Balgam | 2 |
| 35 | 82 | Erkek | İmmün Yetmezlikler, DM | Negatif | BAL | 13 |
| 36 | 86 | Erkek | KOAH, Pulmoner Embolizm | Negatif | Balgam | 1 |
| 37 | 71 | Erkek | Solunum Yetmezliği | Adenovirus | BAL | 1 |
| 38 | 2 | Erkek | Gelişme Geriliği, PEM, Solunum Yetmezliği | Negatif | Trakeal Aspirat | 29 |
| 39 | 58 | Erkek | Pulmoner Embolizm, DM | Negatif | Balgam | 6 |
| 40 | 42 | Erkek | Bakteriyel Pnömoni, KOAH, Bronşektazi | Negatif | Balgam | 12 |
| 41 | 62 | Erkek | Bronş ve Akciğer Ca, Pulmoner Embolizm | Negatif | BAL | 10 |
| 42 | 48 | Erkek | Pnömoni, Pulmoner Embolizm | Human Coronavirus HKU1 | Balgam | 1 |
| 43 | 29 | Kadın | Epilepsi | Negatif | BAL | 2 |
| 44 | 62 | Kadın | Anormal Akciğer Görüntülemesi | Negatif | Balgam | 1 |
| 45 | 49 | Kadın | Kolon Ca | Negatif | Balgam | 8 |
| 46 | 47 | Erkek | ALL | Negatif | Balgam | 26 |
| 47 | 1 | Erkek | Epilepsi, Solunum Yetmezliği | Bocavirus | Trakeal Aspirat | 30 |
| 48 | 66 | Erkek | Serebral Enfarktüs, DM | Negatif | BAL | 2 |
| 49 | 41 | Erkek | Mide Ca | Negatif | Balgam | 1 |
| 50 | 58 | Erkek | Pulmoner Embolizm, DM | Negatif | BAL | 9 |

Tablo 10. Hastaların laboratuvar bulguları

| Hasta No | WBC | Neutr. | Neutr. % | Lenf. | Lenf. % | CRP | D-Dimer | PCT | PCR |
|-----------|--------------|--------------|-----------|-------------|-------------|------------|---------|--------------|--------------------|
| 1 | 9,39 | 8,42 | 90 | 0,4 | 4,3 | 210 | - | - | Negatif |
| 2 | 22,87 | 89 | 20 | 1,34 | 5,9 | 54 | - | - | Negatif |
| 3 | - | - | - | - | - | - | - | - | Negatif |
| 4 | 7,28 | 4,15 | 57 | 2,35 | 32,3 | 2,5 | - | - | Negatif |
| 5 | 20,59 | 19 | 94 | 0,53 | 2,6 | 234 | - | 14,87 | SARS-CoV-2 |
| 6 | 6,05 | 3,16 | 52 | 2,13 | 35 | 36,4 | - | 0,066 | Negatif |
| 7 | 16,91 | 12,33 | 73 | 2,59 | 15 | 165 | - | 0,24 | Negatif |
| 8 | 10,23 | 8,41 | 82 | 1,21 | 11,8 | 194,8 | - | - | Negatif |
| 9 | 7,32 | 4,71 | 64 | 1,82 | 25 | 18,4 | - | - | Negatif |
| 10 | 9,7 | 7,99 | 82 | 0,81 | 8,4 | 45 | - | 0,144 | Negatif |
| 11 | 10,08 | 7,07 | 70 | 2,1 | 20,8 | 93,5 | - | - | Negatif |
| 12 | 2,25 | 1,84 | 82 | 0,36 | 16 | 106 | - | - | Negatif |
| 13 | 12,99 | 12,28 | 94 | 0,41 | 3,2 | 88 | - | 0,906 | Negatif |
| 14 | 9,04 | 6,7 | 74 | 1,54 | 17 | 126 | - | 0,08 | Negatif |
| 15 | 10,2 | 6,4 | 63 | 1,7 | 16 | 19,3 | - | 0,044 | Negatif |
| 16 | - | - | - | - | - | - | - | - | Negatif |
| 17 | 10,81 | 6,18 | 57 | 3,08 | 28,5 | 81,6 | 19,65 | - | Negatif |
| 18 | 12,97 | 9,75 | 75 | 2,17 | 16,7 | 144 | 1,57 | - | Negatif |
| 19 | 6,01 | 5,41 | 90 | 0,44 | 7,3 | 225 | - | - | Negatif |
| 20 | 10,81 | 10,14 | 94 | 0,35 | 3,2 | 57,4 | - | - | Negatif |
| 21 | 6,16 | 4,73 | 77 | 1 | 16,2 | 221 | - | - | Negatif |
| 22 | 4,88 | 3,99 | 82 | 0,47 | 9,6 | 52,7 | - | 0,48 | Negatif |
| 23 | 14,83 | 13,94 | 94 | 0,4 | 2,7 | 155,6 | - | - | Negatif |
| 24 | 17,6 | 12,42 | 70 | 3,52 | 20 | 37,5 | - | - | Negatif |
| 25 | 5,65 | 4,48 | 79 | 0,69 | 12 | 32 | - | - | Negatif |
| 26 | 13 | 11,54 | 89 | 0,89 | 6,9 | 37 | - | - | Negatif |
| 27 | 11,37 | 8,62 | 76 | 1,75 | 15,4 | 59,6 | 0,8 | - | Negatif |
| 28 | 5,67 | 2,96 | 52 | 1,85 | 32,6 | 90 | - | - | Negatif |
| 29 | 4,4 | 3,56 | 81 | 0,58 | 13,2 | 27 | - | - | Negatif |
| 30 | 10,09 | 7,98 | 79 | 0,75 | 7,4 | 165 | - | - | Negatif |
| 31 | 3,5 | 1,89 | 54 | 1,09 | 31 | 12 | 0,42 | - | Negatif |
| 32 | 6,73 | 4,78 | 71 | 1,44 | 21,4 | 110 | - | - | Negatif |
| 33 | 13,75 | 10,67 | 78 | 2,21 | 16,1 | 61,5 | 19,08 | 0,094 | Negatif |
| 34 | 7,9 | 7,31 | 93 | 0,54 | 6,8 | 151 | - | - | Negatif |
| 35 | 11,94 | 9,72 | 81 | 0,96 | 8 | 34 | - | 0,26 | Negatif |
| 36 | 11,42 | 6,76 | 59 | 3,17 | 27,8 | 151 | 3,57 | - | Negatif |
| 37 | 15,73 | 10,02 | 65 | 2,34 | 14,9 | 109 | - | - | Adenovirus |
| 38 | 15,23 | 7,81 | 51 | 5,86 | 38,5 | <2 | - | - | Negatif |
| 39 | 12,6 | 11,77 | 93 | 0,38 | 3 | 2,4 | - | 0,381 | Negatif |
| 40 | 10,66 | 8,21 | 77 | 1,26 | 11,8 | 121 | - | - | Negatif |
| 41 | 5,41 | 4,6 | 85 | 0,14 | 2,6 | 258 | - | 0,291 | Negatif |
| 42 | 9,5 | 7,41 | 78 | 1,35 | 14,2 | 313 | - | - | H. CoV HKU1 |
| 43 | 7,43 | 6,39 | 86 | 0,7 | 9,4 | 60 | - | - | Negatif |
| 44 | 10,74 | 8,7 | 81 | 1,28 | 11,9 | 122 | 1,72 | - | Negatif |
| 45 | 6,24 | 4,34 | 70 | 1,24 | 20 | 80,6 | - | - | Negatif |
| 46 | 0,25 | 0,01 | 4 | 0,23 | 92 | 83 | - | 100 | Negatif |
| 47 | 8,2 | 3,51 | 43 | 3,63 | 44,3 | 4,7 | - | - | Bocavirus |
| 48 | 17,45 | 11,87 | 68 | 3,66 | 21 | 94 | - | 0,093 | Negatif |
| 49 | 12,71 | 9,33 | 73 | 2,17 | 17,1 | 137 | - | - | Negatif |
| 50 | 15,19 | 14,83 | 98 | 0,18 | 1,2 | >350 | 8 | 7,22 | Negatif |

Not: Koyu renkle gösterilenler pozitif tespit edilen hastaların sonuçlarıdır.

Toplam 50 hastanın 4'ünde (%8) araştırılan etkenlerden birisi tespit edilmiştir. Bir hastada Coronavirus *SARS-CoV 2*, 1 hastada *Adenovirüs*, 1 hastada *Human Coronavirus HKU1* ve 1 hastada *Bocavirus* pozitifliği tespit edilmiştir. Tespit edilen hastalardan 2'sinin Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi, 1'inin Göğüs Hastalıkları Servisi ve 1'inin de Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Yoğun Bakım Servisinde yattığı görülmüştür. Pozitif bulunan hastaların hepsi erkek cinsiyete sahip olduğu görülmüştür. Pozitif hastaların 1'i çocuk, 3'ü ise yetişkin hasta grubunda olduğu tespit edilmiştir. Pozitif çıkan hasta bilgileri Tablo 11'de verilmiştir.

Tablo 11. Pozitif çıkan hastaların yaşları ve servis bilgileri

| Hasta No | Etken | Bölüm | Yaş | Cinsiyet |
|----------|-------------------------------|---------------------|-----|----------|
| 5 | <i>SARS-CoV 2</i> | Anestezi YBÜ | 55 | E |
| 37 | <i>Adenovirüs</i> | Anestezi YBÜ | 71 | E |
| 42 | <i>Human Coronavirus HKU1</i> | Göğüs Hast. Servisi | 48 | E |
| 47 | <i>Bocavirus</i> | Pediyatri YBÜ | 1 | E |

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Alt solunum yolu enfeksiyonları, dünya genelinde morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerinden biridir. ASYE'ye neden olan etkenlerin tespitinin nispeten zor olması nedeniyle ampirik antibiyotik kullanım oranı yüksektir (Huang ve ark., 2018).

ASYE genel olarak klinisyenler tarafından pnömoni ve akut bronşit olarak bilinmektedir. Türkiye'de ve diğer dünya ülkelerinde hekimler eldeki imkânları ölçüsünde tespit ettikleri bulgular ile pnömoni şüphesi olan hastaları, genel olarak antibiyotiklerle tedavi etme eğilimindedirler. Aksine, akut bronşit çoğunlukla viral bir enfeksiyon olarak kabul edilir ve bu nedenle çoğu hasta antibiyotik tedavisinden fayda görmez. Bununla beraber antibiyotik kullanımı, antibiyotik direncinin ana itici gücüdür, bu nedenle aşırı ve uygunsuz antibiyotik kullanımının ele alınması önemlidir. Bundan dolayı atipik etkenlerin sebep olduğu ASYE hastalarını doğru ve hızlı bir şekilde tespit etmek gereksiz antibiyotik kullanımını azaltacaktır (Huang ve ark., 2018).

ASYE'ye neden olan etkenlerin tespiti tedavinin doğru ve eksiksiz yapılması açısından çok değerlidir. İnfluenza viral enfeksiyonlarının doğru ve erken teşhisi, hem mevsimsel salgınlar hem de pandemiler sırasında influenza ile ilişkili morbidite ve mortaliteyi azaltmak için antiviral tedavinin hızlı bir şekilde başlatılması için kritik öneme sahiptir. Solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan atipik etkenler için geleneksel tanı teknikleri (örn. virüs kültürü, hemagglütinasyon inhibisyon testi, enzim immünojenik testi ve doğrudan floresan antikor testleri) bir zamanlar patojen tespiti için temel dayanaklardı. Ancak, bu yöntemler ya zaman alıcı, çok emek gerektiren ve duyarlılığı az olan, ya da testi yapan kişiye bağımlıdır. Bununla beraber rutinde kullandığımız kültür yöntemleriyle ancak bazı tipik bakteriyel etkenleri tespit edebilmektedir. Atipik bakteriyel etkenleri ve viral etkenleri tespit etmede mültepleks PCR bize çok avantaj sağlamaktadır. Doğru hastalarda, klinisyenlerin doğru yönlendirmesiyle ve doğru amaçlar için kullanılırsa m-PCR oldukça yarar sağlamaktadır (Vemula ve ark., 2016).

Mercuro ve arkadaşlarının (2018) immün sistemi baskılanmış 131 hastada yaptıkları bir araştırmada; 20 solunum yolu patojeni (BioFire FilmArray RP ®, Salt Lake City, UT, ABD) tespit edebilen RT-PCR cihaz ve kiti kullanılmıştır. Bu çalışmada 80 (%61.1) hastada pnömoni tanısı konulmuş ve bunların 22'sinde (%27.5) solunum

kültürü yoluyla bakteriyel pnömoni mikrobiyolojik olarak doğrulanmıştır. Bakteriyel solunum yolu patojenleri olan 22 hastada; en yaygın *Staphylococcus aureus* (%22,8), ardından *Streptococcus pneumoniae* (%13,6) ve beta-hemolitik *Streptococcus* türleri (%13,6) tespit edilmiştir. 43 pozitif (%32,8) solunum viral panelinden izole edilen en yaygın patojenler; *İnfluenza A* (%30.2), *Koronavirüsler* (%25.6) ve *Rinovirüs/Enterovirüs* (%18.6) olarak bulunmuştur. İki hasta viral ve bakteriyel pnömoni ile koenfeksiyon olarak bildirilmiştir. Çalışma sonunda viral pnömönide antibiyotik kullanımını azaltmak ve bağışıklığı baskılanmış popülasyondaki doğru etkenleri belirlemek için m-PCR testlerinin faydalı olduğunu fakat her hasta için bu testlerin yapılmasının daha fazla sistematik çalışmalara ihtiyaç duyulduğunun sonucuna varmışlar.

Crotty ve ark. (2015) yaptığı bir çalışmada toplam 20 solunum yolu patojenini (17 viral ve üç bakteriyel) tespit etme yeteneğine sahip kitler ve multipleks PCR cihazı kullanılmıştır. Bu çalışmada toplam 174 hastadan oluşan bir kohortu, solunum virüsü tanımlamasının ardından sürekli ampirik antibakteriyellere maruz kalmaya dayalı olarak karşılaştırmıştır. 174 hastanın, 79 'u karışık bakteriyel-viral enfeksiyon saf viral enfeksiyonu olan 95 hastadan bakteriyel koenfeksiyon olmaksızın viral pnömönili toplam 44 'ü (%25) ampirik antibiyotik tedavi almıştır. *Rhinovirus/Enterovirus* (%23), *İnfluenza* (%19) ve *Parainfluenza* (%15.5) en sık tanımlanan virüsler olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonunda solunum virüsleri, hastanede yatan hastalarda pnömöninin önemli etiyolojileri olarak giderek daha fazla bulunduğunu tespit edilmiştir. Ayrıca mPCR kullanan ileri teknolojiler, viral patojenleri tanımlama yeteneğini arttırdığının sonucuna varmışlardır. Sonuçta antibakteriyel kullanımı etkileyebildiğini ifade etmişlerdir (Crotty ve ark., 2015).

Oosterheert ve ark. (2005) yaptığı bir çalışmada toplam 107 hastada en sık saptanan patojenler *İnfluenza virüsü* (14), *Streptococcus pneumoniae* (8), *Koronavirüs* (6), *Staphylococcus aureus* (5) ve *Rinovirüsler* (5) olarak tespit edilmiştir. Gerçek zamanlı PCR, geleneksel teşhis testleriyle karşılaştırıldığında teşhis verimini 23 vakadan (hastaların %21'i) 47 vakaya (hastaların %43'ü) yükseltmiştir. Gerçek zamanlı PCR sonuçlarının kullanılması, 6 hastada (%11) antibiyotik tedavisinin kısmen veya tamamen kesilmesiyle sonuçlanmıştır (Oosterheert ve ark., 2005).

Kore, Daegu'daki üçüncü basamak bir eğitim hastanesinde 2021'de hastaneye yatış ve acil servis ziyareti gerektiren kronik obstrüktif akciğer hastalığının 192 hastada retrospektif bir çalışmasını gerçekleştirilmiş. Viral enfeksiyonu saptamak için bir nazofaringeal sürüntü örneği kullanan bir multipleks polimeraz zincir reaksiyonu paneli gerçekleştirilmiştir. 96 hastada (%41,2) viral enfeksiyon saptanmıştır. En yaygın virüs *Rinovirüs/Enterovirüs* (%27,5), ardından *İnfluenza virüsü* (%22,5), *Respiratuar sinsityal virüs* (%13,3), *Parainfluenza virüsü* (%12,5), *Koronavirüs* (%12,5), *Metapnömovirüs* (%7,5) ve *Adenovirüs* (%4,2) olarak tespit edilmiştir (Jang ve ark., 2021).

Pan ve ark. yaptığı bir çalışmada 1 Temmuz 2017 ile 30 Haziran 2018 tarihleri arasında çocuk yoğun bakım ünitesindeki (ÇYBÜ) 90 çocukta solunum yolu enfeksiyonu tanısı alan hastada üreticinin talimatlarına göre (BioMérieux, Fransa) nazofaringeal sekresyonlarından Multipleks PCR ile bakılmış, pozitif 58 hastanın 40'ında (%67,0, 40/58) tek organizma, 18'inde (%31 ; 18/58) çoklu organizma tespit edilmiştir. İnsan *Rinovirüsü/Enterovirüsü* 58 pozitif hastada (%29,3; 17/58) en yaygın organizma olarak tespit edilmiş, *Adenovirüs* (25,9; 15/58), *Parainfluenza virüsü 3* (%19,0; 11/58), *Solunum sinsityal virüsü* (%19; 11/58) tespit edilmiştir. Diğer patojenler: *M. pneumoniae* (%12,1; 7/58), *İnfluenza A H1 2009* (%8,6; 5/58), *human Metapneumovirus* (%6,9; 4/58), *İnfluenza B* (%5,2; 3/58), *B. pertussis* (%5,2; 3/58), *Parainfluenza virüsü 1* (%3,4; 2/58), *Koronavirüs HKU1* (%1,7; 1/58), *koronavirüs NL63* (%1,7; 1/58), *Parainfluenza virüs 4* (%1,7; 1/58) olarak tespit edilmiştir (Pan ve ark., 2021).

Drieghe ve ark. Belçika'da yaptığı bir çalışmada SYE başvuran 129 hastadan bronkoskopi ile alınan toplam 134 BAL sıvı örneği, 2012 baharında ticari multipleks gerçek zamanlı PCR FTD Respiratory 21 Plus[®] ile retrospektif olarak analiz edilmiştir. Farklı solunum mevsimleri (2009–2011) için %23,2 ile %37,0 arasında değişen 39/134 BAL sıvı örneğinde (%29,1) viral veya atipik bakteriyel patojenler tespit edilmiştir. Numunelerin 30/39'unda (%76,9) tek patojen tespit edilmiş, çoklu patojenlerle enfeksiyon daha az sıklıkta gözlenmiştir (9/39 numune, %23,1). 7/9 (%77,8) hastada birlikte iki farklı virüs saptanmış 2/9 (%22,2) hastada üç virüs saptanmıştır. BAL sıvı örneklerinin tamamında, cins düzeyinde viral dağılım şu şekilde tespit edilmiştir: En sık *hCoV* (43, 229, 63 ve *HKU*) (%13,4) ve *hRV* (%5,2) ile karşılaşılmış, ardından *RSV*

(%4,5) ve *hBoV* (%3,7) gelmiştir. *İnfluenza* (A, A/H1N1, B) (%2,2), *AdV* (%2,2), *PIV* (1, 2, 3 ve 4) (%1,5), *hMPV* (%1,5), *hEV* (%1,5) ve *hPeV* (%1,5) yalnızca sınırlı sayıda numunede tespit edilmiştir (\leq %3,0). Tablo 13'te yıllara göre prevalansları verilmiştir. Sonuç olarak BAL sıvı örneklerinin %29,1'inde viral veya atipik bakteriyel patojenler saptanmış. En yaygın olanı *Koronavirüsler* (%13,4), bunu *Rinovirüsler* (%5,2), *RSV* (%4,5) ve *Bocavirüsler* (%3,7) izlemiştir. Tespit edilen toplam virüs sayısı karşılaştırıldığında, kontrol grubu ile hematolojik malignitesi olan hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir (%27,5'e karşı %57,1, $p < 0,05$) (Drieghe ve ark., 2014).

Tai ve ark. (2021) Tayvan'da ASYE ile hastaneye yatırılan yetişkin hastalardan alınan toplam 2292 örnek, solunum virüsleri için taranmıştır. En az bir influenza dışı solunum virüsü pozitif olan numuneler %17,8; genel pozitiflik oranı ise %22 tespit edilmiştir (Tai ve ark., 2021).

Kore'de yapılan bir çalışmada Aralık 2006'dan Kasım 2010'a kadar üçüncü basamak bir eğitim hastanesinin laboratuvarına sevk edilen 5.318 klinik numunede solunum virüslerini saptamak için multipleks RT-PCR kullanılmış ve 5.318 klinik numuneden 3.350 (%63) numunede en az bir solunum virüsü pozitif bulunmuştur. 10 yaş altı %57,7'sinde; 10 yaş üstü %5,3'ünde etken tespit edilmiştir. *İnsan Rinovirüsü* %15,8, *İnsan Solunum Sinsityal Virüsü A* %14,4, *İnsan Solunum Sinsityal Virüsü B* %9,7, *İnsan Adenovirüs* %10,1, *İnfluenza A Virüsü* %5,4, *İnfluenza B Virüsü* %1,7, *İnsan Metapnömovirüsü* %4,7, *İnsan Koronavirüsü OC43* %2,3, *İnsan Koronavirüsü 229E/NL63* %1,9, *İnsan Parainfluenza Virüsü (HPIV)-1* %3,7, *HPIV-2* %1,1 ve *HPIV-3* %5,3 oranda tespit edilmiştir. Koenfeksiyon analizi, ikili enfeksiyonlar %17,1'inde ve üçlü enfeksiyonlar %1,8'inde tespit edilmiştir. Virüs pozitif hastaların medyan yaşı 1,3 idi ve virüs pozitif hastaların %91,5'i 10 yaşın altında tespit edilmiştir. *İnsan Respiratuvar Sinsityal Virüsü* 5 yaş altı çocuklarda en sık görülen virüs, *İnfluenza A Virüsü* ise 5 yaş üstü çocuklarda en sık görülen virüs olduğu tespit edilmiştir (Kim ve ark., 2013).

İsvçre'de yapılan pediyatrik ve yetişkin yatan ve ayakta hastaların retrospektif bir kohort çalışmada 254 hastanın 140'ında (%55) patojen saptanmıştır; bu hastaların 91'inde (%65) \geq 1 virüs, 53'ünde (%38) \geq 1 bakteri ve 11'inde (%8) \geq 1 virüs ve bakteri

tespit edilmiştir. Toplam 46 (%32,8) yetişkin hastada bir veya daha fazla virüs tespit edilmiş. Viral enfeksiyonu olan 80 hastanın 59'una (%74) antibiyotik verilmiştir. Virüs tespiti, 20 yetişkinden 2'sinde (%10) ve 14 çocuktan 6'sında (%43) antibiyotiklerin kesilmesiyle ilişkilendirilmiştir. Genel olarak 12 yetişkin (%34) ve 18 çocuk (%67) virüs saptandıktan sonra antibiyotiksiz doğru bir şekilde tedavi edilmiştir ($p = 0.01$). Biyobelirteçler, radyolojik sunumlar ve antibiyotik ön tedavisi dikkate alındığında, klinik olarak viral enfeksiyonlar için rtPCR'nin etkisi ile tedavi çocuklarda %100'e ve yetişkinlerde %62'ye yükselmiştir (Mayer ve ark., 2017).

Sert ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada hastaların %24.2'sinde (22/91) pnömoniye neden olan etkenler saptanmışken, %75.8'inde (69/91) herhangi bir pnömoni etkeni saptanmamıştır. 91 hastanın 11'inde (%12.1) viral enfeksiyon, 9'unda (%9.9) sadece bakteriyel enfeksiyon, 3'nde (%3.3) viral koenfeksiyon, 2'sinde (%2.2) virus ve bakteri birlikte tespit edilmiştir. 11 hastanın 7'si (%7.7) *PIV 2*, 2'si (% 2.2) *PIV 3*, 1'i (% 1.1) *adenovirus*, 2'si (%2.2) *PIV3* ve *adenovirus*, 1'i (%1.1) *PIV2* ve *PIV3* tespit edilmiştir. Hiçbir hastada *RSV*, *PIV1*, *hMPV* saptanmamıştır. Bakteri tespit edilen 11 hastanın 5'i (%5.4) *S. epidermidis*, 2'si (%2.2) *S. saprophyticus*, 1'i (%1.1) *S. hominis*, 1'i (%1.1) *S. capitis*, 1'i (%1.1) *Strp. sobrinus* ve 1'i (%1.1) *S. mitis* tespit edilmiştir. İki hastada (%2.2) karma viral-bakteriyel etken olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak TKP'li çocuklarda viral insidans yüksek olduğu için ileri tanı yöntemlerinin günlük kullanıma geçmesi ile gereksiz antibiyotik kullanımı azaltabilir, fakat bu çalışmanın daha geniş hasta gruplarında, kontrollü olarak yapılmasına gereksinim vardır, denilmiştir (Sert, S., 2010).

Karaarslan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada solunum yolu enfeksiyonu tanısıyla incelenen 309 hastada viral solunum paneli (VSP) toplam 198 hastada etken tespit edilmiştir ve 111 hastada etken tespit edilmemiştir (toplamda %64; kız:%58, erkek:%69). Tespit edilen virüsler şunlardır *HRV* (%24,7), *RSV A/B* (%23), *İnfluenza A/B* (12,5), *PIV* (%8,6), *MPV* (%7,8), *HCoV-NL63* (%10), *Adenovirüs* (%6), *HBoV* (%4,7) ve *Enterovirus* (%2,1) (Karaarslan F., 2019).

Karakök ve ark. (2022) yaptığı bir çalışmada toplam 74 hasta dahil edilmiştir. Sonuçlar, hastaların %87.8'inde m-PCR yöntemiyle, %58.1'inde ETA kültürüyle tespit edilmiştir. Multipleks -PCR ile hem TKP hem HKP hastalarında en sık *Streptococcus*

pneumoniae; VİP hastalarında ise *Klebsiella* spp saptanmıştır. Hastaların ETA kültüründe üreyen bakteriyel etkenler karşılaştırıldığında en sık olarak; TKP ve HKP hastalarında *Staphylococcus aureus*, VİP hastalarında ise *Klebsiella* spp üremiştir. Hastaların tamamının %14.9'unda atipik pnömoni etkenleri saptanmış; TKP hastalarında bu oran %28.5 iken HKP hastalarında %23.1 olarak belirlenmiştir. HKP hastalarında saptanan atipik etkenlerin tamamını virüsler oluşturmuştur. VİP tanılı hastalarda hiç atipik pnömoni etkeni saptanmamıştır. Prospektif olarak yapılan ve Aralık 2019-Ekim 2020 tarihleri arasında gerçekleştirilen çalışmaya; yoğun bakım ünitelerinde takip edilen, ventilatöre bağlı, 18 yaş ve üzeri pnömoni tanısı alan hastalar dahil edilmiştir. COVID-19 tanısı alan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır (Karakök ve ark., 2022).

Civelek-Eser ve ark. 2016'da yaptıkları bir çalışmada hastanelerinde ağır akut solunum yolu hastalığı (SARI) tanısıyla takip edilen 109 yetişkin hastanın solunum yolu mPCR ile 41'inde (%38.3) viral etken saptanmıştır. Etkenlerin %80.5'i *İnfluenza A virüsü* (%63.4 *H1N1*, %7.3 *H3N2*, %9.7 *influenza A*), %14.6'sı *İnfluenza B virüsü*, %2.4'ü *Koronavirüs OC43* ve %2.4'ü *insan Metapnömovirus* olarak saptanmıştır (Civelek-Eser ve ark., 2017).

Çiçek ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ÜSYE ve ASYE ön tanısıyla, toplam 1708 (1220 çocuk, 488 erişkin) hastada (%45.1 kadın, %54.9 erkek, yaş aralığı 5 gün-94 yaş) solunum yolu örnekleri mPCR yöntemi ile araştırılmıştır. Toplam 1708 hastanın, 620'sinde (%36.3) bir veya birden fazla solunum virüsü pozitif, 1088'inde (%63.7) negatif bulunmuştur. Bu hastaların 63'ünde (%3.7) çoklu etken saptanmıştır. Çoklu etken saptanan örneklerin %89.5'i çocuk hastalar olduğu tespit edilmiştir. Solunum yolu örneklerinin 387'si (%22.7) poliklinik hastalarından, 1321'i (%77.3) yatan hastalardan elde edilmiş, poliklinik hastalarının %48.5'i, yatan hastaların %32.7'sinde (p<0.000), çocuk hastaların %39.2'si, erişkin hastaların %29.1'inde (p<0.000) bir veya daha fazla solunum virüsü tespit edilmiştir. Örneklerin tümünde *İnfluenza A(H1N1)* pandemi 2009 virüsü %12.1, *RSV* %9.0, *Rhinovirus* %3.7, *İnfluenza A virüsü* %3.0 oranında pozitif bulunmuştur. Sonuç olarak kullanılan mPCR yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllükleri yüksek olduğu ve kısa sürede etkenleri tespit ettiği için hasta yönetiminde faydalı olduğu belirtilmiştir (Çiçek ve ark., 2015).

Ağca ve arkadaşlarının, febril nütropenili olan ve bronkoskopi yapılmış 50 maligniteli hastalardan SYE şüphesiyle aynı günde NS ve BAL örneğinin alındığı bir çalışmada 31'inde (%62) BAL ve/veya eşzamanlı alınan NS örneklerinde en az bir virüs saptanmıştır. Yalnız BAL örnekleri dikkate alındığında hastaların %38'inde, yalnız NS örnekler dikkate alındığında ise hastaların %40'ında viral etken bulunmuştur. Her iki örnekte de *Coronavirus (NL63, 229E, OC43, HKU1)* ile *Parainfluenza virüs (1, 2, 3, 4)* tiplerinin, BAL örneklerinde ise *İnfluenza virüs (A, B, A/H1N1)* tiplerinin belirgin olarak fazla olduğu belirlenmiştir. BAL örneklerinde belirlenen 25 viral etkenden yalnızca altı tanesine (%24) NS örneklerinde rastlanılmıştır. Sonuç olarak NS örneklerinde saptanan viral etkenlerin BAL örneklerinde saptananlarla çok uyumlu olmadığı görülmüş ve bu hasta grubunda NS sonuçlarına temkinli yaklaşılması düşünülmüştür. Duyarlılığı yüksek yeni tanı yöntemleri ile BAL örneklerinde viral etken aranması ile bulguların klinik verilerle ve diğer patojenlerle değerlendirilmesiyle daha iyi yorum yapılabileceği kanaatine varmışlardır (Ağca ve ark., 2019). Yapılan çalışmaların ayrıntılı karşılaştırması Tablo 12'de verilmiştir.

Tablo 12. Çalışmalarda saptanan etken oranları tablosu

| Saptanan Etkenler (%) | Jang ve ark. 2021 | Pan ve ark. 2021 | Tai ve ark. 2021 | Karaarslan ve ark. 2019 | Ağca ve ark. 2019 | Mercuro ve ark. 2018 | Civelek ve ark. 2017 | Çiçek ve ark. 2015 | Bu Çalışma |
|-----------------------|-------------------|------------------|------------------|-------------------------|-------------------|----------------------|----------------------|--------------------|------------|
| hRV | 27,5 | 29,3 | - | 24,7 | 1,9 | 18,6 | - | 3,7 | 0 |
| Influenza Virüs. | 22,5 | 25,9 | - | 12,5 | 11,3 | - | - | 15,7 | 0 |
| Influenza A | - | 8,6 | - | 8,2 | - | 30 | 80,5 | 3 | 0 |
| Influenza B | - | 5,2 | - | 4,3 | - | - | 14,6 | 0,6 | 0 |
| RSV | 13,3 | 19 | - | 23 | 5,7 | - | - | 9 | 0 |
| PIV | 12,5 | - | 3,6 | 8,6 | 24,5 | - | - | 1,9 | 0 |
| PIV 1 | | 3,4 | - | 1,9 | - | - | - | 0,4 | 0 |
| PIV 2 | | - | - | 1,9 | - | - | - | 0,1 | 0 |
| PIV 3 | | 19 | - | 2,4 | - | - | - | 1,3 | 0 |
| PIV 4 | | 1,7 | - | 1,5 | - | - | - | 0,1 | 0 |
| CoV | 12,5 | - | 2 | - | 49,1 | 25,6 | 2,4 | 0,1 | 4 |
| CoV-HKU1 | - | 1,7 | - | - | - | - | - | - | 2 |
| CoV-NL63 | - | 1,7 | - | 10 | - | - | - | - | 0 |
| SARS-CoV 2 | - | - | - | - | - | - | - | - | 2 |
| Adenovirüs | 4,2 | 25,9 | - | 6 | - | - | - | 1,7 | 2 |
| hMPV | 7,5 | 6,9 | 2 | 7,8 | 3,8 | - | 2,4 | 0,3 | 0 |
| Bocavirüs | - | - | - | 4,7 | 1,9 | - | - | 0,2 | 2 |
| <i>M. pneumoniae</i> | - | 12,1 | - | - | - | - | - | - | 0 |
| <i>B. pertussis</i> | - | - | - | - | - | - | - | - | 0 |

Bizim çalışmamızda ise toplam 50 hastanın 4'ünde (%8) viral bir etken tespit edilmiş olup, 46 (%92) hastada ise hiçbir etken tespit edilmemiştir. Bir hastada *SARS-CoV 2* (%2), 1 hastada *Adenovirüs* (%2), 1 hastada *Human Coronavirus HKU1* (%2) ve 1 hastada *Bocavirus* (%2) tespit edilmiştir. Etken tespit edilen hastalardan 2'sinin Anestezi Yoğun Bakım Ünitesi, 1'inin Göğüs Hastalıkları Servisi ve 1'inin de Çocuk Sağlığı ve Hast. Yoğun Bakımda yattığı görülmüştür. Pozitif çıkan hastaların tümünün erkek cinsiyete sahip olduğu görülmüştür. 3 çocuk hastanın 1'inde (%33,3); 47 yetişkin hastanın 3'ünde viral bir etken tespit edilmiştir (%6,3).

Pozitiflik oranlarımız diğer yapılan çalışmalara göre daha düşük bulunmuştur. Fakat m-PCR yapılan çalışmalarda literatürde hastane kökenli pnömonilerde viral etkenlerin saptanma oranı %5.9 - %24.4 olarak bildirilmiştir (Karakök ve ark., 2022; Micek ve ark., 2016; Chalmers ve ark., 2011). Çalışmamızda elde ettiğimiz pozitiflik oranının literatürdeki verilere benzer olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda, çeşitli servislerde farklı klinik tanılarla yatmakta olan hastalardan ASYE şüphesiyle gönderilen solunum yolu örnekleri randomize olarak seçilmiştir. Klinik tanısı ASYE hastalardan yapılan çalışmalarda etken tespit etme oranlarının daha yüksek olduğu görülmüştür. Çalışmanın daha spesifik hasta gruplarında (ASYE tanılı) yapılmasının etken tespit etme oranlarını artırabileceğini düşünmekteyiz.

Kullanılan kitin tespit ettiği etken sayısına göre de oranlar değişebilmektedir. Kitin tespit ettiği etken sayısı arttıkça pozitiflik oranları da buna bağlı olarak artmaktadır. Daha fazla etken tespit eden kitler kullanılırsa bu oranların daha fazla olacağını düşünmekteyiz.

Çalışmamıza, proje çerçevesinde yapıldığı için kısıtlı bütçeyle sadece 50 hastanın örneği dahil edilmiştir. Daha fazla sayıda hastanın dahil edildiği çalışmalarda tespit edilecek etken sayısının artabileceğini tahmin etmekteyiz.

Bununla beraber çalışmamızın bazı kısıtlılıkları mevcuttur. Öncelikle COVID-19 pandemisinde bu çalışma yapılmıştır. Pandemiden dolayı toplumun hijyen kurallarına dikkat etmesindeki duyarlılığın artması, maske kullanımının yaygın olması ve el yıkama alışkanlığının COVID-19 pandemisi sebebiyle artması, influenza ve benzeri viral solunum yolu enfeksiyonuna neden olan hastalıkların ciddi bir şekilde azalttığını düşünmekteyiz. Ayrıca çalışmamıza, dışlanma kriteri olarak *SARS-CoV 2*'ye bağlı

pnömoniyle yatan hastalar dahil edilmemiştir. Bununla beraber COVID-19 ile komorbid olan viral enfeksiyonların da olabileceği göz önünde bulundurulursa bu hastaların da tespiti mümkün olmamıştır.

Literatürdeki çalışmalarda pediatrik hasta grubunda pozitiflik oranlarının daha yüksek olması ve hastalarımızın %94'ünün yetişkin olması çalışmamızdaki pozitiflik oranının düşük olmasını açıklayabileceği düşünülmüştür.

Sonuç olarak:

1. mPCR 2-4 saat içinde sonuç verebildiğinden hızlı, kolay, güvenilir, sürekli gelişen ve konvansiyonel yöntemlere alternatif ama nispeten pahalı bir laboratuvar metodudur. Kültürde üretilmediğimiz veya çok zor üreyen bakteri ve bazı virüslerin laboratuvarda tanımlanmasında mikrobiyolog ve klinisyene çok yardımcı olmaktadır.

2. Çalışmamız alt solunum yolu hastalığı şüphesi olan hastalardan alınan balgam, trakeal aspirat ve BAL sıvı örneklerinde atipik pnömoni etkenleri olan bakteri ve solunum virüslerinin prevalansını gösteren bir çalışmadır. Kullanılacak yöntemler duyarlı olmalı ve çok çeşitli potansiyel patojenleri kapsamalıdır. Spesifik hasta popülasyonu, solunum yolu virüslerinin tespit oranlarını da etkileyebilmektedir.

3. m-PCR yöntemi pahalı olduğu için maliyet etkin olabilmesi için klinisyen ile birlikte doğru endikasyonu olan hastalarda yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Afonso CL, Amarasinghe GK, Bányai K. Taxonomy of the order Mononegavirales. *Arch Virol.* 2016; 161: 2351-60
- Ağca, H., Akalın, H., Ali, R., Çetin, E. D., Cilo, B. D., Kazak, E. & Ener, B. Nötropenik Hastaların Solunum Yolu Örneklerinde Viral Etkenlerin Araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi.* 2019; 49(3), 125-131.
- Alam MM, Khurshid A, Shaukat S, Sharif S, Suleman RM, Angez M, Nisar N, Aamir UB, Naeem M, Zaidi SS. 'Human bocavirus in Pakistani children with gastroenteritis'. *J Med Virol.* 2015 Apr;87(4):656-63.
- Alan S, Erdeve O, Cakir U, Akduman H, Zenciroglu A, Akcakus M, Tunc T, Gokmen Z, Ates C, Atasay B, Arsan S; TurkNICU-RSV Trial Group. Outcome of the Respiratory Syncytial Virus related acute lower respiratory tract infection among hospitalized newborns: a prospective multicenter study. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016;29(13):2186-93.
- Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nat Med.* 2020 Apr;26(4):450-452.
- Bailey ES, Zemke JN, Choi JY, Gray GC. A Mini-Review of Adverse Lung Transplant Outcomes Associated With Respiratory Viruses. *Front Immunol.* 2019 Dec 19;10:2861.
- Biryukov J, Boydston JA, Dunning RA, Yeager JJ, Wood S, Ferris A, Miller D, Weaver W, Zeitouni NE, Freeburger D, Dabisch P, Wahl V, Hevey MC, Altamura LA. SARS-CoV-2 is rapidly inactivated at high temperature. *Environ Chem Lett.* 2021;19(2):1773-1777.
- Blanton L, Dugan VG, Abd Elal AI, Alabi N, Barnes J, Brammer L, Budd AP, Burns E, Cummings CN, Garg S, Garten R, Gubareva L, Kniss K, Kramer N, O'Halloran A, Reed C, Rolfes M, Sessions W, Taylor C, Xu X, Fry AM, Wentworth DE, Katz J, Jernigan D. Update: Influenza Activity - United States, September 30, 2018-February 2, 2019. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2019 Feb 15;68(6):125-134.
- Branche AR, Falsey AR. Parainfluenza Virus Infection. *Semin Respir Crit Care Med.* 2016 Aug;37(4):538-54.
- Chaimayo C, Kaewnaphan B, Tanlieng N, Athipanyasilp N, Sirijatuphat R, Chayakulkeeree M, Angkasekwinai N, Sutthent R, Puangpunngam N, Tharmviboonsri T, Pongraweevan O, Chuthapisith S, Sirivatanauksorn Y, Kantakamalakul W, Horthongkham N. Rapid SARS-CoV-2 antigen detection assay in comparison with real-time RT-PCR assay for laboratory diagnosis of COVID-19 in Thailand. *Virol J.* 2020 Nov 13;17(1):177.
- Chalmers JD, Taylor JK, Singanayagam A, Fleming GB, Akram AR, Mandal P, Choudhury G, Hill AT. Epidemiology, antibiotic therapy, and clinical outcomes in health care-associated pneumonia: a UK cohort study. *Clin Infect Dis.* 2011 Jul 15;53(2):107-13.

- Chan JF, Kok KH, Zhu Z, Chu H, To KK, Yuan S, Yuen KY. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerg Microbes Infect.* 2020 Jan 28;9(1):221-236.
- Chen M, Zhu Z, Huang F, Liu D, Zhang T, Ying D, Wu J, Xu W. Adenoviruses associated with acute respiratory diseases reported in Beijing from 2011 to 2013. *PLoS One.* 2015 Mar 27;10(3):e0121375.
- Civelek-Eser F, Tutuncu E. E, Haykır-Solay A, Altın N, Cicek-Şenturk G, Altay F. A, ... & Şencan İ. Ağır Akut Solunum Yolu İnfeksiyonuyla İzlenen Hastaların Değerlendirilmesi: 2015-2016 İnfluenza Sezonu. *Klimik Journal/Klimik Dergisi.* 2017; 30(3).
- Coughtrie AL, Morris DE, Anderson R, Begum N, Cleary DW, Faust SN, Jefferies JM, Kraaijeveld AR, Moore MV, Mullee MA, Roderick PJ, Tuck A, Whittaker RN, Yuen HM, Doncaster CP, Clarke SC. Ecology and diversity in upper respiratory tract microbial population structures from a cross-sectional community swabbing study. *J Med Microbiol.* 2018 Aug;67(8):1096-1108
- Cotmore SF, Agbandje-McKenna M, Chiorini JA, Mukha DV, Pintel DJ, Qiu J, Soderlund-Venermo M, Tattersall P, Tijssen P, Gatherer D, Davison AJ. The family Parvoviridae. *Arch Virol.* 2014 May;159(5):1239-47.
- Crotty MP, Meyers S, Hampton N, Bledsoe S, Ritchie DJ, Buller RS, Storch GA, Kollef MH, Micek ST. Impact of antibacterials on subsequent resistance and clinical outcomes in adult patients with viral pneumonia: an opportunity for stewardship. *Crit Care.* 2015 Nov 18;19:404.
- Çiçek, C, Arslan A, Saz E. U, Pullukçu H, & Gürsel Ç. O. K. Üst ve alt solunum yolu enfeksiyonu olan hastalarda solunum virüslerinin multipleks PCR yöntemi ile eşzamanlı saptanması. *Ege Tıp Dergisi.* 2015; 54(1), 8-14.
- Dalt DL, Bressan S, Martinolli F, et al. Treatment of bronchiolitis: state of art. *Early Human Development* 2013;89(S1):31-6.
- DeGroot NP, Haynes AK, Taylor C, Killerby ME, Dahl RM, Mustaqim D, Gerber SI, Watson JT. Human parainfluenza virus circulation, United States, 2011-2019. *J Clin Virol.* 2020 Mar;124:104261
- Di Giallonardo F, Kok J, Fernandez M, Carter I, Geoghegan JL, Dwyer DE, Holmes EC, Eden JS. Evolution of Human Respiratory Syncytial Virus (RSV) over Multiple Seasons in New South Wales, Australia. *Viruses.* 2018 Sep 6;10(9):476.
- Diken ÖE. SARS-CoV, MERS-CoV Neler Öğrendik? SARS-CoV2 ile Farklılıkları. *ASYOD Güncel Göğüs Hastalıkları Serisi Kitapları.Dünya Tıp Kitapevi.* Ankara. 2021; 35-43.
- Dixon DL. The Role of Human Milk Immunomodulators in Protecting Against Viral Bronchiolitis and Development of Chronic Wheezing Illness. *Children (Basel).* 2015 Jul 7;2(3):289-304

- Domachowske J, Halczyn J, Bonville CA. Preventing Pediatric Respiratory Syncytial Virus Infection. *Pediatr Ann.* 2018 Sep 1;47(9):e371-e376.
- Dou M, Macias N, Shen F, Bard JD, Domínguez DC, Li X. Rapid and Accurate Diagnosis of the Respiratory Disease Pertussis on a Point-of-Care Biochip. *EClinicalMedicine.* 2019 Feb;8:72-77.
- Doyle JD, Chung JR, Kim SS, Gaglani M, Raiyani C, Zimmerman RK, Nowalk MP, Jackson ML, Jackson LA, Monto AS, Martin ET, Belongia EA, McLean HQ, Foust A, Sessions W, Berman L, Garten RJ, Barnes JR, Wentworth DE, Fry AM, Patel MM, Flannery B. Interim Estimates of 2018-19 Seasonal Influenza Vaccine Effectiveness - United States, February 2019. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2019 Feb 15;68(6):135-139.
- Drieghe S, Ryckaert I, Beuselink K, Lagrou K, Padalko E. Epidemiology of respiratory viruses in bronchoalveolar lavage samples in a tertiary hospital. *J Clin Virol.* 2014 Mar;59(3):208-11.
- Drysdale SB, Green CA, Sande CJ. Best practice in the prevention and management of paediatric respiratory syncytial virus infection. *Ther Adv Infect Dis.* 2016 Apr;3(2):63-71
- Egorova A, Ekins S, Schmidtke M, Makarov V. Back to the future: Advances in development of broad-spectrum capsid-binding inhibitors of enteroviruses. *Eur J Med Chem.* 2019 Sep 15;178:606-622.
- Epalza C, Hallin M, Busson L, Debulpaep S, De Backer P, Vandenberg O, Levy J. Role of Viral Molecular Panels in Diagnosing the Etiology of Fever in Infants Younger Than 3 Months. *Clin Pediatr (Phila).* 2020 Jan;59(1):45-52.
- Faner R, Sibila O, Agustí A, Bernasconi E, Chalmers JD, Huffnagle GB, Manichanh C, Molyneaux PL, Paredes R, Pérez Brocal V, Ponomarenko J, Sethi S, Dorca J, Monsó E. The microbiome in respiratory medicine: current challenges and future perspectives. *Eur Respir J.* 2017 Apr 12;49(4):1602086.
- Felsenstein S, Herbert JA, McNamara PS, Hedrich CM. COVID-19: Immunology and treatment options. *Clin Immunol.* 2020 Jun;215:108448.
- Forsyth KD, Tan T, von König CW, Heining U, Chitkara AJ, Plotkin S. Recommendations to control pertussis prioritized relative to economies: A Global Pertussis Initiative update. *Vaccine.* 2018 Nov 19;36(48):7270-7275
- Ghietto LM, Majul D, Ferreyra Soaje P, Baumeister E, Avaro M, Insfrán C, Mosca L, Cámara A, Moreno LB, Adamo MP. Comorbidity and high viral load linked to clinical presentation of respiratory human bocavirus infection. *Arch Virol.* 2015 Jan;160(1):117-27.
- Gupta Dch S, Chopra Md N, Singh Md A, Gera R, Chellani Md H, Pandey PhD R, Arora Md BS. Unusual Clinical Manifestations and Outcome of Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C) in a Tertiary Care Hospital of North India. *J Trop Pediatr.* 2021 Jan 29;67(1):fmaa127.

- Hawke K, van Driel ML, Buffington BJ, McGuire TM, King D. Homeopathic medicinal products for preventing and treating acute respiratory tract infections in children. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018 Sep 9;9(9):CD005974.
- Huang HI, Shih SR. Neurotropic Enterovirus Infections in the Central Nervous System. *Viruses*. 2015 Nov 24;7(11):6051-66.
- Huang HS, Tsai CL, Chang J, Hsu TC, Lin S, Lee CC. Multiplex PCR system for the rapid diagnosis of respiratory virus infection: systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect*. 2018 Oct;24(10):1055-1063.
- Hwang SM, Lim MS, Han M, Hong YJ, Kim TS, Lee HR, Song EY, Park KU, Song J, Kim EC. Comparison of xTAG respiratory virus panel and Verigene Respiratory Virus Plus for detecting influenza virus and respiratory syncytial virus. *J Clin Lab Anal*. 2015 Mar;29(2):116-21.
- Inagaki A, Kitano T, Nishikawa H, Suzuki R, Onaka M, Nishiyama A, Kitagawa D, Oka M, Masuo K, Yoshida S. The Epidemiology of Admission-Requiring Pediatric Respiratory Infections in a Japanese Community Hospital Using Multiplex PCR. *Jpn J Infect Dis*. 2021 Jan 22;74(1):23-28.
- Indumathi CP, Gunanasekaran P, Kaveri K, Arunagiri K, Mohana S, Sheriff AK, SureshBabu BV, Padmapriya P, Senthilraja R, Fathima G. Isolation & molecular characterization of human parainfluenza virus in Chennai, India. *Indian J Med Res*. 2015 Nov;142(5):583-90.
- Jang JG, Ahn JH, Jin HJ. Incidence and Prognostic Factors of Respiratory Viral Infections in Severe Acute Exacerbation of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2021 May 7;16:1265-1273.
- Jenkinson D. Pertussis (whooping cough) is common in teens and adults. *BMJ*. 2019 Apr 9;365:11623.
- Jiang W, Yin F, Zhou W, Yan Y, Ji W. Clinical significance of different virus load of human bocavirus in patients with lower respiratory tract infection. *Sci Rep*. 2016 Feb 1;6:20246.
- Johansson C. Respiratory syncytial virus infection: an innate perspective. *F1000Res*. 2016 Dec 21;5:2898.
- Kadam SB, Sukhramani GS, Bishnoi P, Pable AA, Barvkar VT. SARS-CoV-2, the pandemic coronavirus: Molecular and structural insights. *J Basic Microbiol*. 2021 Mar;61(3):180-202.
- Karaarslan F. Üst Ve Alt Solunum Yolu Enfeksiyonu İle Çocuk Acilde İzlenen Hastalarda Viral Solunum Paneli İle Etkenlerin Araştırılması (Tıpta Uzmanlık Tezi). İstanbul: İstanbul Üniversitesi. 2019.
- Karakök T, Cesur S, Kaya-Kılıç E, Gözükara M. G, Karakoç A. E, Başar H & Kınıklı S. Ağır Pnömoni Tanılı Hastaların Endotrakeal Aspirat Örneğinde Pnömoni Etkenlerinin Kültür ve Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu Yöntemi ile Araştırılması. *Klimik Journal/Klimik Dergisi*. 2022; 35(3).

- Karalı E, Sebit T & Arslan N. Akut solunum yolu enfeksiyonu olan hastalarda hızlı influenza tanı testi ile influenza A ve B antijenlerinin araştırılması. *Dicle Tıp Dergisi*. 2020; 47(2), 359-365.
- Kim JK, Jeon JS, Kim JW, Rheem I. Epidemiology of respiratory viral infection using multiplex rt-PCR in Cheonan, Korea (2006-2010). *J Microbiol Biotechnol*. 2013 Feb;23(2):267-73.
- King A. M, Adams M. J, Carstens E. B & Lefkowitz E. J. Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses. In *Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses*. 2012; (pp. 1327-1327).
- Krause CI. The ABCs of RSV. *Nurse Pract*. 2018 Sep;43(9):20-26.
- Lauria A. M & Zabbo C. P. Pertussis. In *StatPearls [Internet]*. 2021; StatPearls Publishing.
- Lee KL, Lee CM, Yang TL, Yen TY, Chang LY, Chen JM, Lee PI, Huang LM, Lu CY. Severe *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia requiring intensive care in children, 2010-2019. *J Formos Med Assoc*. 2021 Jan;120(1 Pt 1):281-291.
- Lei Z, Zhu Z, Wang BM, Mei H, Li H, Ga DZ, et al. Outbreaks of epidemic keratoconjunctivitis caused by human adenovirus type 8 in the Tibet Autonomous Region of China in 2016. *PLoS One*. 2017;12:e0185048.
- Lei J, Kusov Y, Hilgenfeld R. Nsp3 of coronaviruses: Structures and functions of a large multi-domain protein. *Antiviral Res*. 2018 Jan; 149:58-74
- Lynch JP 3rd, Kajon AE. Adenovirus: Epidemiology, Global Spread of Novel Serotypes, and Advances in Treatment and Prevention. *Semin Respir Crit Care Med*. 2016 Aug;37(4):586-602.
- Mao NY, Zhu Z, Zhang Y, Xu WB. Current status of human adenovirus infection in China. *World J Pediatr*. 2022 Aug;18(8):533-537.
- Mayer LM, Kahlert C, Rassouli F, Vernazza P, Albrich WC. Impact of viral multiplex real-time PCR on management of respiratory tract infection: a retrospective cohort study. *Pneumonia (Nathan)*. 2017 Feb 25;9:4.
- Mercuro NJ, Kenney RM, Samuel L, Tibbetts RJ, Alangaden GJ, Davis SL. Stewardship opportunities in viral pneumonia: Why not the immunocompromised? *Transpl Infect Dis*. 2018 Apr;20(2):e12854.
- Micek ST, Chew B, Hampton N, Kollef MH. A Case-Control Study Assessing the Impact of Nonventilated Hospital-Acquired Pneumonia on Patient Outcomes. *Chest*. 2016 Nov;150(5):1008-1014.
- Mozhgani SH, Zarei Ghobadi M, Moeini S, Pakzad R, Kananizadeh P, Behzadian F. Prevalence of human influenza virus in Iran: Evidence from a systematic review and meta-analysis. *Microb Pathog*. 2018 Feb;115:168-174.
- Murray P, Baron E, Jergensen J, Landry M, Pfaller M. *Klinik Mikrobiyoloj*. 2018; 7. baskı

- Neuzil KM. Progress toward a Respiratory Syncytial Virus Vaccine. *Clin Vaccine Immunol.* 2016 Jan 27;23(3):186-8.
- Nieves DJ, Heininger U. Bordetella pertussis. *Microbiol Spectr.* 2016 Jun;4(3).
- Nikonov OS, Chernykh ES, Garber MB, Nikonova EY. Enteroviruses: Classification, Diseases They Cause, and Approaches to Development of Antiviral Drugs. *Biochemistry (Mosc).* 2017 Dec;82(13):1615-1631.
- Nyiro JU, Munywoki P, Kamau E, Agoti C, Gichuki A, Etyang T, Otieno G, Nokes DJ. Surveillance of respiratory viruses in the outpatient setting in rural coastal Kenya: baseline epidemiological observations. *Wellcome Open Res.* 2018 Jul 25;3:89.
- Omer SB, Bednarczyk R, Kazi M, Guterman LB, Aziz F, Allen KE, Yildirim I, Ali SA. Assessment and Validation of Syndromic Case Definitions for Respiratory Syncytial Virus Testing in a Low Resource Population. *Pediatr Infect Dis J.* 2019 Mar;38(3):e57-e59.
- Oosterheert JJ, van Loon AM, Schuurman R, Hoepelman AI, Hak E, Thijsen S, Nossent G, Schneider MM, Hustinx WM, Bonten MJ. Impact of rapid detection of viral and atypical bacterial pathogens by real-time polymerase chain reaction for patients with lower respiratory tract infection. *Clin Infect Dis.* 2005 Nov 15;41(10):1438-44.
- Oreshkova N, Molenaar RJ, Vreman S, Harders F, Oude Munnink BB, Hakze-van der Honing RW, Gerhards N, Tolsma P, Bouwstra R, Sikkema RS, Tacken MG, de Rooij MM, Weesendorp E, Engelsma MY, Brusckke CJ, Smit LA, Koopmans M, van der Poel WH, Stegeman A. SARS-CoV-2 infection in farmed minks, the Netherlands, April and May 2020. *Euro Surveill.* 2020 Jun;25(23):2001005.
- Özlu T, Zorlu D. Güncel Tehdit: Yeni Koronavirüs Hastalığı (Covid-19) ve Türkiye Deneyimi. *ASYOD Güncel Göğüs Hastalıkları Serisi Kitapları.* Ed: Karadağ M, et al. Dünya Tıp Kitapevi. Ankara. 2021; 26-33.
- Pan F, Wang B, Zhang H, Shi Y, Xu Q. The clinical application of Filmarray respiratory panel in children especially with severe respiratory tract infections. *BMC Infect Dis.* 2021 Feb 27;21(1):230.
- Parrish CR, Murcia PR, Holmes EC. Influenza virus reservoirs and intermediate hosts: dogs, horses, and new possibilities for influenza virus exposure of humans. *J Virol.* 2015 Mar;89(6):2990-4.
- Pawelczyk M, Kowalski ML. The Role of Human Parainfluenza Virus Infections in the Immunopathology of the Respiratory Tract. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2017 Mar;17(3):16.
- Peteranderl C, Herold S, Schmoltdt C. Human Influenza Virus Infections. *Semin Respir Crit Care Med.* 2016 Aug;37(4):487-500.
- Pons-Salort M, Grassly NC. Serotype-specific immunity explains the incidence of diseases caused by human enteroviruses. *Science.* 2018 Aug 24;361(6404):800-803.

- Portal TM, Reymão TKA, Quinderé Neto GA, Fiuza MKDC, Teixeira DM, Lima ICG, Sousa Júnior EC, Bandeira RDS, De Deus DR, Justino MCA, Linhares ADC, Silva LDD, Resque HR, Gabbay YB. Detection and genotyping of enteric viruses in hospitalized children with acute gastroenteritis in Belém, Brazil: Occurrence of adenovirus viremia by species F, types 40/41. *J Med Virol*. 2019 Mar;91(3):378-384.
- Prachayangprecha S, Schapendonk CM, Koopmans MP, Osterhaus AD, Schürch AC, Pas SD, van der Eijk AA, Poovorawan Y, Haagmans BL, Smits SL. Exploring the potential of next-generation sequencing in detection of respiratory viruses. *J Clin Microbiol*. 2014 Oct;52(10):3722-30.
- Procop G. W, Church D. L, Hall G. S & Janda W. M. *Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. Jones & Bartlett Publishers. 2017; 72.
- Qi Y, Guo W, Liu C, Li W, Gu Y, Li S, Chen X. Seroprevalence of influenza A (H9N2) virus infection among humans in China: A meta-analysis. *Microb Pathog*. 2021 Jun;155:104881.
- Rabarison JH, Tempia S, Harimanana A, Guillebaud J, Razanajatovo NH, Ratsitorahina M, Heraud JM. Burden and epidemiology of influenza- and respiratory syncytial virus-associated severe acute respiratory illness hospitalization in Madagascar, 2011-2016. *Influenza Other Respir Viruses*. 2019 Mar;13(2):138-147.
- Rivailler P, Mao N, Zhu Z, Xu W. Recombination analysis of Human mastadenovirus C whole genomes. *Sci Rep*. 2019 Feb 18;9(1):2182.
- Royston L, Tapparel C. Rhinoviruses and Respiratory Enteroviruses: Not as Simple as ABC. *Viruses*. 2016 Jan 11;8(1):16.
- Russell E, Ison MG. Parainfluenza Virus in the Hospitalized Adult. *Clin Infect Dis*. 2017 Oct 16;65(9):1570-1576.
- Russell E, Yang A, Tardrew S, Ison MG. Parainfluenza Virus in Hospitalized Adults: A 7-Year Retrospective Study. *Clin Infect Dis*. 2019 Jan 7;68(2):298-305.
- Sadoff J, De Paepe E, DeVincenzo J, Gymnopoulou E, Menten J, Murray B, Rosemary Bastian A, Vandebosch A, Haazen W, Noulin N, Comeaux C, Heijnen E, Eze K, Gilbert A, Lambkin-Williams R, Schuitemaker H, Callendret B. Prevention of Respiratory Syncytial Virus Infection in Healthy Adults by a Single Immunization of Ad26.RSV.preF in a Human Challenge Study. *J Infect Dis*. 2022 Aug 26;226(3):396-406.
- Schmidt ME, Varga SM. Cytokines and CD8 T cell immunity during respiratory syncytial virus infection. *Cytokine*. 2020 Sep;133:154481.
- Schweitzer JW, Adalet NA. StatPearls [Internet]. StatPearls Yayıncılık; Treasure Island (FL): 1 Ağustos 2021; Solunum Sinsityal Virüs Enfeksiyonu.
- Sevindik E, Kır A. Ç, Başkemer K & Veysel U. Hastalık etmeni patojen teşhisinde PCR teknolojisi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*. 2013; (2), 131-135.
- Sert S. Çocukluk çağında toplum kökenli pnömoni tanısı ile hastaneye yatırılan hastalarda bakteriyel ve viral etkenlerin insidansı ve klinik özellikleri.

- (Yayınlanmamış tıpta uzmanlık tezi) Necmettin Erbakan Üniversitesi, Konya. 2010.
- Sizar O, Carr B. StatPearls [Internet]. StatPearls Yayıncılık; Treasure Island (FL): 26 Temmuz 2021; Krup.
- Sun H, Sun J, Ji W, Hao C, Yan Y, Chen Z, Wang Y. Impact of RSV Coinfection on Human Bocavirus in Children with Acute Respiratory Infections. *J Trop Pediatr*. 2019 Aug 1;65(4):342-351.
- Suresh S, Forgie S, Robinson J. Non-polio Enterovirus detection with acute flaccid paralysis: A systematic review. *J Med Virol*. 2018 Jan;90(1):3-7.
- Şenyiğit A. Covid-19 pandemisi. klinik, tanı, tedavi ve korunma. *Dicle Tıp Dergisi*. 2021; 48, 176-186.
- Tai CC, Tsai CH, Huang YH, Lee CL, Chen HP, Chan YJ. Detection of respiratory viruses in adults with respiratory tract infection using a multiplex PCR assay at a tertiary center. *J Microbiol Immunol Infect*. 2021 Oct;54(5):858-864.
- Tchatchouang S, Bigna JJ, Nzouankeu A, Fonkoua MC, Nansseu JR, Ndangang MS, Kenmoe S, Penlap VB, Njouom R. Prevalence of respiratory bacterial infections in people with lower respiratory tract infections in Africa: the BARIAFRICA systematic review and meta-analysis protocol. *BMJ Open*. 2018 Sep 10;8(9):e023592.
- Toubiana J, Azarnoush S, Bouchez V, Landier A, Guillot S, Mateczak S, Bonacorsi S, Brisse S. *Bordetella parapertussis* Bacteremia: Clinical Expression and Bacterial Genomics. *Open Forum Infect Dis*. 2019 Mar 7;6(4):ofz122.
- Tsai TA, Tsai CK, Kuo KC, Yu HR. Rational stepwise approach for *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in children. *J Microbiol Immunol Infect*. 2021 Aug;54(4):557-565.
- Uche IK, Guerrero-Plata A. Interferon-Mediated Response to Human Metapneumovirus Infection. *Viruses*. 2018 Sep 18;10(9):505
- Ulu E & Cacına C. Polimeraz Zincir Reaksiyonu. *ÜCD Güncelleme Serileri*. 2020; 37.
- Ustaçelebi Ş & Us A. D. Genel viroloji. Pelikan Tıp ve Teknik Kitapçılık Limited Şti. 2014.
- Varkal M. A, Yıldız I & Ünüvar E. Up-To Date Approach To Acute Bronchiolitis. *Journal of Istanbul Faculty of Medicine*. 2016; 79(2), 85-89.
- Vemula SV, Zhao J, Liu J, Wang X, Biswas S, Hewlett I. Current Approaches for Diagnosis of Influenza Virus Infections in Humans. *Viruses*. 2016 Apr 12;8(4):96.
- Vinci A, Lee PJ, Krilov LR. Human Metapneumovirus Infection. *Pediatr Rev*. 2018 Dec;39(12):623-624.
- WHO (World Health Organization). 2019 (internet); erişim tarihi 15.01.2023: Top on causes of death. Erişim adresi: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>

- Wu KW, Wang SM, Shen CF, Ho TS, Wang JR, Liu CC. Clinical and epidemiological characteristics of human parainfluenza virus infections of children in southern Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect.* 2018 Dec;51(6):749-755.
- Yang L, Chan KP, Wong CM, Chiu SSS, Magalhaes RJS, Thach TQ, Peiris JSM, Clements ACA, Hu W. Comparison of influenza disease burden in older populations of Hong Kong and Brisbane: the impact of influenza and pneumococcal vaccination. *BMC Infect Dis.* 2019 Feb 14;19(1):162.
- Ylä-Pelto J, Tripathi L, Susi P. Therapeutic Use of Native and Recombinant Enteroviruses. *Viruses.* 2016 Feb 23;8(3):57.
- Youn YS, Lee KY. *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in children. *Korean J Pediatr.* 2012 Feb;55(2):42-7.
- Zhang T, Wu Q, Zhang Z. Probable Pangolin Origin of SARS-CoV-2 Associated with the COVID-19 Outbreak. *Curr Biol.* 2020 Apr 6;30(7):1346-1351.e2.



EKLER

EK 1. Tez Orijinallik Raporu



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
Tıp Fakültesi



TEZ ORIJİNALLİK RAPORU

| | | | | |
|---|---|---------------------------|-------------------|---------------------|
| Tez Başlığı / Konusu | Alt Solunum Yolu Enfeksiyonu Şüpheli Hastalarda Enfeksiyon Etkenlerinin Multipleks-PCR Yöntemiyle Değerlendirilmesi | | | |
| İntihal taraması yapılan bölümler ve sayfa sayıları | | | | |
| Kapak sayfası | Giriş | Ana bölümler | Sonuç bölümleri | Toplam sayfa sayısı |
| 2 | 9 | 41 | 10 | 74 |
| İntihal taraması yapılan program | | Taramanın yapıldığı tarih | Benzerlik oranı % | |
| Turnitin | | 09/01/2023 | 13 | |
| *Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir: | | | | |
| - Kabul ve onay sayfası hariç, - Teşekkür hariç, - İçindekiler hariç, - Simge ve kısaltmalar hariç, - 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words) | | | | |
| - Gereç ve yöntemler hariç, - Kaynakça hariç, - Alıntılar hariç, - Tezden çıkan yayınlar hariç, | | | | |
| Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihali içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabulettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim. | | | | |
| Gereğini bilgilerinize arz ederim. | | | | |
| Araş. Gör. Dr. İbrahim AYHAN | | | | |

| | |
|------------------------------|------------------------------|
| Öğrencinin Adı Soyadı | Araş. Gör. Dr. İbrahim AYHAN |
| Anabilim Dalı | Tıbbi Mikrobiyoloji |
| Programı | Tıpta Uzmanlık |

| |
|---|
| DANIŞMAN ONAYI UYGUNDUR Prof. Dr. Yasemin BAYRAM |
|---|