**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ ŞİŞLİ HAMİDİYE**

**ETFAL EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARI**

# COVİD 19 PANDEMİ DÖNEMİNDE DİĞER SOLUNUM YOLU PATOJENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

**Dr. Merve DEMİR ÇEVİK**

**İSTANBUL/2022**







**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ ŞİŞLİ HAMİDİYE**

**ETFAL EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARI**

# COVİD 19 PANDEMİ DÖNEMİNDE DİĞER SOLUNUM YOLU PATOJENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

**Dr. Merve DEMİR ÇEVİK**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Banu BAYRAKTAR**

**(TIPTA UZMANLIK TEZİ)**

**İSTANBUL/2022**

## TEŞEKKÜR

Eğitim hayatım boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli danışman hocam Prof. Dr. Banu BAYRAKTAR'a, asistanlık hayatım ve tez süreci boyunca yardım ve desteklerini esirgemeyen abimiz sevgili Uzm.Dr. Murat ÖCAL'a, yine asistanlık eğitimimi en iyi şekilde tamamlamamı sağlayan değerli hocam Prof. Dr. Elif AKTAŞ SEPETÇİ'ye,

Birlikte çalıştığımız süre boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım sevgili Doç. Dr. M. Emin BULUT, Doç. Dr. Ayşe BARIŞ, Uzm. Dr. Süleyman PELİT'e,

Eğitim hayatım boyunca birlikte çalışmaktan çok keyif aldığım sevgili asistan arkadaşlarım Zuhal, Nur, Leyla, Hazan, Eyyüb, Ecem, Burçin, Feride Merve, Gülen, Büşra, Merve, Öznur, Şevval, Bilge ve Dilara'ya, sevgili biyologlarımız, laboratuvar teknisyenlerimiz, sekreterlerimiz ve tüm personellerimize

En iyi arkadaşım, aldığım her kararda arkamda duran, dünyanın en harika annesi canım Hatice DEMİR'e; dünyanın en tatlı, en merhametli babası arkamdaki dağım canım İsmail DEMİR'e; varlıklarına her zaman şükrettiğim ve bir aradayken çok eğlendiğim canım kardeşlerim Nisa Nur DEMİR, Bedirhan DEMİR, Emir Batın DEMİR'e; varlılığı saf mutluluk sebebi olan kedim Tom'a

Hayatıma girdiği andan beri her anımda yanımda olan, pusulam, diğer yarım Gökhan ÇEVİK'e sonsuz teşekkürlerimle…

Merve DEMİR ÇEVİK

Temmuz 2022

# İÇİNDEKİLER

**TEŞEKKÜR** ..... **i**
**İÇİNDEKİLER** ..... **ii**
**ÖZET** ..... **iv**
**ABSTRACT** ..... **vi**
**KISALTMALAR** ..... **viii**
**TABLOLAR DİZİNİ** ..... **ix**
**ŞEKİLLER DİZİNİ** ..... **x**
**1. GİRİŞ - AMAÇ** ..... **1**
**2. GENEL BİLGİLER** ..... **3**
2.1. Solunum Yolu Enfeksiyonları ..... 3
2.2. Solunum Yolu Viral Etkenleri ..... 4
2.2.1. *Rhinovirus /Enterovirus* ..... 5
2.2.2. *İnfluenza Virüsü* ..... 5
2.2.3. İnsan Koronavirüsleri ..... 8
2.2.3.1. SARS CoV-2 ..... 9
2.2.4. *Parainfluenza Virüsü* ..... 10
2.2.5. *Respiratuvar Sinsityal Virus* ..... 10
2.2.6. *Adenovirus* ..... 11
2.2.7. *Human Metapneumovirus* ..... 12
2.2.8. *Human Bocavirus* ..... 12
2.3. Solunum Yolu Patojenleri İçin Tanı Testleri ..... 12
2.3.1. Virüs izolasyonu ..... 13
2.3.2. Serolojk yöntemler ..... 14
2.3.3. Moleküler yöntemler ..... 15
**3. GEREÇ VE YÖNTEM** ..... **18**
3.1. Hasta Grubu ..... 18
3.2. Solunum Yolu Örneklerinin Toplanması ve Saklanması ..... 18
3.3. Solunum Yolu Multipleks RT-qPCR Testi İçin Örneklerin Ekstraksiyonu ..... 19
3.4. Bio-Speedy Solunum Yolu Rt-qPCR MX-24S Paneli ..... 21
3.4.1. RT-qPCR Reaksiyonunun Kurulması ve Amplifikasyon ..... 21
3.5. Sonuçların Yorumlanması ..... 25

3.6. Kalite Kontrol ..... 25
3.7. İstatistiksel Analiz ..... 25
**4. BULGULAR ..... 26**
4.1. Araştırma Popülasyonu ..... 26
4.2. Semptomların Görülme Sıklığı ..... 27
4.3. Bio-Speedy Solunum Yolu Paneli ile Etken Saptanan Hastalar ..... 31
4.3.1. Etkenlerin Dağılımı ..... 31
4.3.2. Semptomların Görülme Sıklığı ..... 35
4.4. MPSP ile Sonucu Negatif ve Pozitif Olan Hastaların Semptomlarının Karşılaştırılması ..... 36
4.5. SARS-CoV2 ve En Sık Tespit Edilen Üç Etkende Semptomların Görülme Sıklığı ..... 37
4.6. QCMD Sonuçları ..... 39
**5. TARTIŞMA ..... 40**
**6. SONUÇ ..... 49**
**KAYNAKLAR ..... 50**

# ÖZET

**Giriş:** Solunum yolu enfeksiyonları (SYE) dünya çapında morbidite ve mortalitenin en önemli nedenleri arasındadır. Virüsler ÜSYE'nin yaygın patojenleridir ve birçok virüs SARS CoV-2 (Ağır akut solunum yolu yetersizliği sendromu koronavirüsü 2) gibi hem üst hem de alt solunum yollarını etkileyerek ciddi morbidite ve mortaliteye neden olabilir. Viral SYE'lerin teşhisi genellikle spesifik olmayan semptomlara ve klinik bulgulara dayanır. SARS-CoV-2'nin pandemiye neden olması ve olumsuz klinik tablolara yol açması nedeniyle diğer solunum yolu virüslerinin tespiti hem klinik hem de epidemiyolojik açıdan önem kazanmıştır. Bu çalışmada pandeminin ikinci yılında, prospektif olarak, multipleks PCR solunum paneli (MPSP) ile SARS-CoV-2 dışındaki solunum yolu viral patojenlerin saptanması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Bu çalışmaya Ağustos 2021- Aralık 2021 tarihleri arasında İstanbul Sağlık Bilimleri Üniversitesi Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Acil Servisine solunum yolu semptomlarıyla ayaktan başvurmuş olan 173 erişkin hasta dahil edilmiştir. Hasta popülasyonu, hafta içi her gün saat 11.00-15.00 arasında gözlem yapılarak ateş, halsizlik, öksürük, burun tıkanıklığı /akıntısı, vücut ağrısı, kas-eklem ağrısı, tat/koku kaybı, baş ağrısı gibi semptomlardan en az 3 tanesi ile başvurmuş, rutinde kullanılan SARS-CoV-2 PCR testi negatif 5 hasta arasından 1 veya 2'sine ait nazofarengeal sürüntü (NFS) örneği random seçilerek oluşturulmuştur. Örnekler toplanırken hastaların demografik bilgilerinin yanı sıra örnek toplama tarihi, kullandığı ilaçlar, aşılanma durumu, varsa komorbid durumları gibi bilgiler kaydedilmiştir.

İlk olarak numuneler, üreticinin talimatlarındaki solunum yolu numuneleri prosedürüne göre RINATM-M14 Nükleik Asit İzolasyon Robotu (Bioeksen R&D Technologies, Türkiye) ile ekstrakte edilip ardından Bio-Rad CFX96 Touch RT-PCR cihazında amplifiye edilmiştir.

**Bulgular:** Araştırmaya dahil edilen 173 hastanın 114'ünde solunum yolu paneli ile etken saptanmış olup, bu hastaların 112'sinde tek enfeksiyon etkeni, 2'sinde ise *Human Coronavirus OC43* ve *Human Coronavirus 229E* koinfeksiyonu olmak üzere

toplam 116 etken tespit edilmiştir. En sık saptanan viral patojenler sırasıyla, *Rhinovirus/Enterovirus*, insan koronavirüsleri ve *İnfluenza A* olarak belirlenmiştir. Ağustos ve eylül aylarında *Human Coronavirus OC43* sık saptanırken, ekim ayında *Rhinovirus/Enterovirus* piki oluştuğu, kasım ayından itibaren dolaşıma tekrar katılan *İnfluenza A*'nın ise aralık ayında en baskın mevsimsel viral etken haline geldiği saptanmıştır. Hastalarda en sık görülen semptomlar öksürük, burun akıntısı/tıkanıklığı ve halsizlik olarak dikkat çekmiştir. Üst solunum yollarında kolonize olabilen mikroorganizmalar olmaları ve kullandığımız örnek türünün NFS olması nedeniyle *H. influenzae* tespit edilen 9 hasta ile ve *S. pneumoniae* tespit edilen 12 hastanın sonucu değerlendirme dışı bırakılmıştır.

**Sonuç:** SARS CoV-2 ile mücadelede alınan halk sağlığı tedbirleri ve viral interferansın diğer solunum yolu virüslerinin mevsimsel dolaşım modellerini değiştirdiğini, pandeminin ilk yılında dolaşımdan silinmiş olan başta İFV olmak üzere mevsimsel viral etkenlerin alınan tedbirlerin hafifletilmesiyle pandeminin 2.yılında yeniden ortaya çıktığını göstermektedir. Solunum yolu virüsleri ve SARS CoV-2 ile enfekte hastaların semptomlarının büyük oranda benzediği gözlemlenmiştir. Solunum yolu patojenlerinin kısa sürede ve doğru tespit edilmesi ile uygun olmayan antimikrobiyal tedaviyi önlemek, zamanında antiviral tedaviye başlamak, toplumsal bulaşı en aza indirmek ve tedavi maliyetlerini azaltmak mümkün olabilmektedir. Tüm bunlar göz önüne alındığında kısa sürede yüksek duyarlılık ve özgüllük ile çok sayıda viral etkeni eş zamanlı saptayabilen, MPSP salgın döneminde kullanımının hasta yönetimi ve toplum sağlığı açısından etkin bir uygulama olabileceği düşünülmüştür

**Anahtar Kelimeler:** Sendromik multipleks PCR, Solunum yolu patojenleri, Epidemiyoloji.

## ABSTRACT

**Introduction:** Respiratory tract infections (RTIs) are among the most important causes of morbidity and mortality worldwide. Viruses are common pathogens of URTI, and many viruses, such as SARS CoV-2, can cause both upper and lower respiratory tract infections resulting in significant morbidity and mortality. Diagnosis of viral RTIs often based on non-specific symptoms and clinical findings. Due to pandemic occurrence and poor outcomes of SARS-CoV-2 infections, detection of the other respiratory viruses gained importance for clinical and epidemiologic purposes. This study aimed to detect respiratory tract viral pathogens other than SARS-CoV-2 prospectively with multiplex PCR respiratory panel (MPRP) in the second year of the pandemic.

**Methods:** In this study, 173 adult patients who applied to the Emergency Department of Istanbul Health Sciences University Şişli Hamidiye Etfal Training and Research Hospital with respiratory symptoms between August 2021 and December 2021 were included. The patient population was selected with the presence of at least 3 of the following symptoms, such as fever, weakness, cough, nasal congestion/discharge, body pain, muscle joint pain, loss of taste/smell, and headache presenting to the emergency department between 11.00-15.00 on weekdays, The nasopharyngeal swab (NFS) sample of 1 or 2 out of the 5 patients with negative SARS-CoV-2 PCR test randomly selected. During the collection of samples, besides demographic information of the patients, the date of sample collection, the drugs used, vaccination status, and comorbid conditions, if any, were recorded.
Initially, the samples were extracted with the RINATM-M14 Nucleic Acid Isolation Robot (Bioeksen R&D Technologies, Turkey) according to the respiratory tract samples procedure in the manufacturer's instructions and then amplified in the Bio-Rad CFX96 Touch RT-PCR instrument.

**Results:** We detected a pathogen in 114 of 173 patients included in the study by MPRP, and a total of 116 agents were detected, including a single infectious agent in 112 of these patients, and coinfection of Human Coronavirus OC43 and Human Coronavirus 229E in 2 of them. The most frequently detected viral pathogens were Rhinovirus/Enterovirus, human coronaviruses and Influenza A. While Human

Coronavirus OC43 was frequent in August and September, Rhinovirus/Enterovirus peak occurred in October, and Influenza A, which re-entered the circulation as of November, became the most dominant seasonal viral agent in December. The most common symptoms in the patients were cough, nasal discharge/congestion and fatigue. Since they are the microorganisms that can colonize the upper respiratory tract and the sample type we used was NFS, nine patients with H. influenzae and 12 with S. pneumoniae positive results were excluded from the study.

**Conclusions** It is seen that the public health measures taken in the fight against SARS CoV-2 and viral interference changed the seasonal circulation patterns of other respiratory tract viruses, and seasonal viral agents, especially influenza virus, which were deleted from the circulation in the first year of the pandemic, reappeared in the second year with the easing of the public health measures taken. It has been observed that the symptoms of patients infected with respiratory viruses and SARS CoV-2 are largely similar. By detecting respiratory pathogens in a short time and accurately, it is possible to prevent inappropriate antimicrobial therapy, initiate antiviral therapy on time, minimize social transmission, and reduce treatment costs. Considering all these, it was thought that the use of MPRP during the epidemic period, which can detect many viral agents simultaneously with high sensitivity and specificity in a short time, maybe an effective application in terms of patient management and public health.

**Keywords:** Multiplex PCR respiratory panel, Respiratory tract pathogens, Epidemiology

## KISALTMALAR

**AdV** : Adenovirus
**ARDS** : Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu
**ASYE** : Alt Solunum Yolu Enfeksiyonları
**BAL** : Bronkoalveolar Lavaj
**Covid-19** : Yeni koronavirüs hastalığı (2019)
**ETA** : Endotreakeal Aspirat
**EV** : Enterovirus
**hBoV** : İnsan Bocavirus
**HCoV** : İnsan Koronavirüsü
**hMPV** : İnsan Metapnömovirüsü
**İFV** : İnfluenza Virüsü
**MERS** : Orta Doğu Solunum Sendromu
**MPSP** : Multipleks PCR Solunum Paneli
**NAAT** : Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri
**NFA** : Nazofarengeal Aspirat
**NFS** : Nazofarengeal Sürüntü
**NS** : Nazal Sürüntü
**OS** : Orofarengeal Sürüntü
**PCR** : Polimeraz Zincir Reaksiyonu
**PIV** : Parainfluenza Virusu
**RSV** : Respiratuar Sinsityal Virus
**RT-PCR** : Ters Transkriptaz Polimeraz Zincir Reeaksiyonu
**RV** : Rhinovirus
**SARS CoV-2** : Ağır Akut Solunum Yolu Yetersizliği Sendromu Koronavirüsü 2
**SARS** : Ağır Akut Solunum Yolu Yetersizliği Sendromu
**SYE** : Solunum Yolu Enfeksiyonları
**ÜSYE** : Üst Solunum Yolu Enfeksiyonları
**VTM** : Viral Transport Besiyeri

# TABLOLAR DİZİNİ

**Tablo 3.1.** Bio-Speedy Solunum Yolu Rt-qPCR MX-24S Paneli'nin Tespit Ettiği Mikroorganizmalar ..... 21
**Tablo 3.2.** Reaksiyon Kurulumu ..... 23
**Tablo 3.3:** Solunum Yolu Multipleks RT-qPCR Protokolü ..... 23
**Tablo 4.1:** Hastaların Demografik ve Klinik Bilgileri ..... 26
**Tablo 4.2:** Hastalarda Gözlemlenen Semptomların Sayı ve Yüzdeleri ..... 27
**Tablo 4.3:** Cinsiyete Göre Semptomların Görülme Sıklığı ..... 29
**Tablo 4.4:** Yaş Dekatlarına Göre Semptomların Dağılım Sıklığı ..... 30
**Tablo 4.5:** Mikroorganizmaların Dağılımı ..... 32
**Tablo 4.6:** Etkenlerin Aylara Göre Dağılımı ..... 33
**Tablo 4.7:** Etkenlerin Yaş Dekatlarına Göre Dağılımı ..... 35
**Tablo 4.8:** Etkenlere Göre Septomların Sıklığı ..... 36
**Tablo 4.9:** Etken Saptanmayan Hastalar ile Etken Saptanan Hastaların Semptomlarının Kıyaslanması. ..... 37
**Tablo 4.10:** SARS CoV-2 ve Diğer Etkenlerde Gözlemlenen Semptomlarının Kıyaslanması ..... 38
**Tablo 4.11:** QCMD Karşılaştırmalı Sonuçlar ..... 39

# ŞEKİLLER DİZİNİ

**Şekil 2.1:** Solunum Yolu Enfeksiyon Etkenlerinin Bulaş Yolları.....3
**Şekil 2.2:** *İnfluenza* Virüsünün Replikasyon Döngüsü ve Patogenezi.....6
**Şekil 3.1:** Nazofarengeal Sürüntü Örneğinin Alınması.....19
**Şekil 3.2:** Nükleik Asit Ekstraksiyonu İş Akışı.....20
**Şekil 3.3:** RT-qPCR Striplerinin Kuyucuk İçerikleri.....22
**Şekil 3.4:** MPSP RT-qPCR İş Akışı.....24
**Şekil 4.1:** Semptomların Dağılım Yüzdesi.....28
**Şekil 4.2.** Mikroorganizmaların Dağılımı.....32
**Şekil 4.3.** Etkenlerin Aylara Göre Dağılım Yüzdeleri.....34
**Şekil 4.4.** İFV A'nın Haftalık Tespit Edilme Sıklığı.....34

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Üst solunum yolu enfeksiyonları (ÜSYE) dünya çapında morbidite ve mortalitenin en önemli nedenleri arasındadır. Virüsler ÜSYE'nin yaygın patojenleridir ve birçok virüs SARS CoV-2 gibi hem üst hem de alt solunum yollarını etkileyerek ciddi morbidite ve mortaliteye neden olabilir. Viral SYE'lerin teşhisi genellikle spesifik olmayan semptomlara ve klinik bulgulara dayanır. SARS-CoV-2'nin pandemiye neden olması ve olumsuz klinik tablolara yol açması nedeniyle diğer solunum yolu virüslerinin tespiti hem klinik hem de epidemiyolojik açıdan önem kazanmıştır(1).

MPSP ortaya çıkmadan önce, rutin solunum yolu viral testleri *İnfluenza* ve *Respiratuar Sinsityal Virus* ile sınırlıydı. MPSP'ler mikrobiyoloji laboratuvarlarında ÜSYE etkeni olan çok sayıda virüs ve bakterinin hızlı, son derece duyarlı ve özgül olarak tespit edilmesine imkan sağlamıştır. Geniş bir hedef yelpazesini test etmek birçok virüsün yaygınlığı ve klinik önemi hakkında bilgi sahibi olmayı mümkün kılmaktadır. Artık *Human Metapneumovirus*'un sıklıkla ciddi hastalıklara neden olduğunun ve *Rhinovirus*'lerin her yerde bulunduğunun farkına varılmıştır. Hala bazı etkenlerin klinik önemi ve bulaşma potansiyeli öğrenilmeye devam edilmektedir(2).

SARS-CoV-2 olarak tanımlanan yeni bir koronavirüs, 2019'un sonunda Çin'in Wuhan kentinde ortaya çıkmış, mortal viral pnömoni salgınına neden olmuş ve dünya çapında yayılmıştır(3). DSÖ verilerine göre 2019 yılında solunum yolu enfeksiyonlarına bağlı ölüm 4. Sırada yer almaktadır(4). Pandemi döneminde bu sıranın daha yukarıda olması muhtemeldir. Temmuz 2022 itibariyle dünyada 561.978.603 kişi SARS CoV-2 ile enfekte olmuş ve içlerinden 6.368.794 hasta Covid 19 nedeniyle hayatını kaybetmiştir(5).

Çalışmamızda Covid-19 pandemisinin ikinci yılında semptomları SARS CoV-2 ile benzer olup önceki yıllara göre görülme sıklığı azalmış, mevsimsel dolaşım paterni değişmiş olan solunum yolu enfeksiyon etkenlerinin epidemiyolojisini gözlemlenmesi amaçlanmıştır. Hastanemize ayaktan solunum yolu semptomları ile başvurmuş olup SARS CoV-2 RT PCR testi negatif olan 173 hastanın NFS örneğinde MPSP kullanılarak solunum yolu enfeksiyon patojenlerinin varlığı araştırılmıştır.

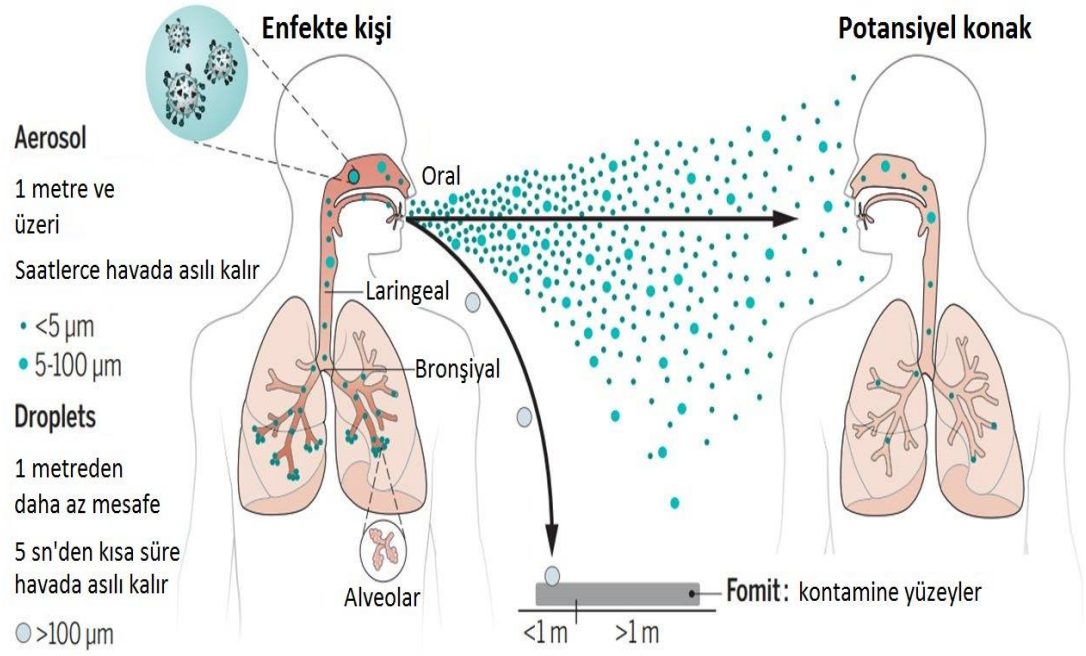
Ülkemizde influenza sezonunu kapsayacak şekilde Türkiye Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü (THSGM) tarafından Sentinel *İnfluenza* (Grip) Benzeri Hastalık Sürveyansı yapılmakta, sonuçlar haftalık olarak yayınlanmaktadır. Bunun haricindeki solunum yolu virüsü sıklığı ile ilgili çalışmalar laboratuvarlara gelen örnekler üzerinden restrospektif olarak yapılmıştır. Araştırmamız Delta varyantı kaynaklı Covid-19 vakalarının azalma trendine girdiği dönem ile Omicron varyantına bağlı vakaların artışa geçtiği dönem arasında (Ağustos 2021-Aralık 2021) prospektif olarak gerçekleştirilmiş olması ve uygun örnekleme yapılması ile temsiliyet açısından diğer çalışmalardan ayrılmaktadır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Solunum Yolu Enfeksiyonları

Solunum yolu enfeksiyonları (SYE), yaygın görülmekle beraber dünya çapında morbidite ve mortalitenin en önemli sebeplerinden biridir (6,7). Anatomik lokalizasyonuna göre larinksin üstündeki bölgelerin enfeksiyonuna üst solunum yolu enfeksiyonu (ÜSYE), larinksin altında kalan anatomik bölgelerin enfeksiyonuna ise alt solunum yolu enfeksiyonu (ASYE) adı verilir. ASYE daha az yaygın görülür, hastaneye yatış ve mortalite açısından daha yüksek riske sahip iken; ÜSYE nispeten daha sık görülür genellikle daha hafif seyreder ve büyük bir kısmından viral etkenler sorumludur.

Solunum yolları enfeksiyonlarında viral etkenlerin çok yaygın olmasının sebebi; çok sayıda enfeksiyon etkeni ve serotiplerinin bulunması, virüslerin kişiden kişiye kolay bulaşabilme yeteneği ve *İnfluenza* virüsünde olduğu gibi antijenik yapılarında değişikliklerin gerçekleşebilmesi olarak özetlenebilir. Solunum yolu virüslerinin bulaşı aerosoller, damlacık ya da fomitler ile olabilmektedir. Solunum yolları enfeksiyon etkenlerinin bulaş yolları Şekil 2.1'de şematize edilmiştir.




**Şekil 2.1:** Solunum Yolu Enfeksiyon Etkenlerinin Bulaş Yolları (kaynak (8)'den uyarlanmıştır)

Virüslerin laboratuvar tanısı zor olduğundan tanı daha çok hastada görülen semptomlara ve klinik bulgulara dayanır(9,10). Ancak öksürük, ateş, üşüme-titreme, boğaz ağrısı, burun akıntısı, burun tıkanıklığı, nefes darlığı, balgam, eklem ağrısı, vücut ağrısı gibi semptomlar tek bir patojen ya da patojen grubu için spesifik olmayıp hem viral hem bakteriyel etkenlerde görülebilmektedir (11,12).

SYE semptomlarının spesifik olmaması, viral etkenler ve atipik pnömoniye yol açan bakteriyel etkenlerin saptanmasında kullanılan hızlı ve duyarlı tanı testlerin yetersiz olması nedeniyle bu hastalara sıklıkla ampirik antibiyotik tedavisi düzenlenir(13). Ancak gereksiz antibiyotik kullanımı, antibiyotik direncinin artması ve istenmeyen yan etkilere sebep olabilmesinin yanı sıra tedavi maliyetlerinin de artmasına neden olur(13,14). Gereksiz antibiyotik kullanımını önlemek, gerekli antiviral ilacı zamanında kullanabilmek, nozokomiyal bulaş riskini en aza indirgemek, hastalığın yayılımı ve engellenmesi konusunda erken bilgi vermek ve hasta yönetiminde gereksiz mali kaybı önlemek için solunum yolu enfeksiyonlarının etiyolojik tanısını hızlı, duyarlı ve geçerli bir yöntemle kısa sürede koymak çok önemlidir(6,9,15).

### 2.2. Solunum Yolu Enfeksiyonları Viral Etkenleri

Yaklaşık 20'den fazla virüsün akut solunum yolu enfeksiyonuna neden olduğu bilinmektedir. Bu virüslerden en sık karşılaşılanlar *Rhinovirus*, *Enterovirus*, *İnfluenza virus tip A ve B, Respiratuar Sinsityal Virus, Adenovirus*, *Parainfluenza virus tip 1-4*, İnsan Koronavirüsleri (229E, NL63, 0C43, HKU-1)*, Human Bocavirus*, *Human Metapneumovirus* 'tür (1). Başta *Rhinovirus, Enterovirus*, *Adenovirus, koronavirüsler* ve *Metapneumovirus* olmak üzere birçok virüsün SARS CoV-2'de olduğu gibi hem üst ve hem de alt solunum yollarını tuttuğu ve benzer semptomlara neden olduğu bildirilmiştir (1). Solunum yolu enfeksiyonuna neden olan virüsler zamansal ve coğrafi dolaşım modelleri nedeniyle küresel bir sorundur. Çevresel parametrelerin, iklimlerin ve insan davranış şekillerinin zaman içerisindeki değişimi bu soruna katkıda bulunmaktadır(16).

### 2.2.1. *Rhinovirus /Enterovirus*

Picornaviridae ailesinden zarfsız, pozitif polariteli, tek sarmallı RNA virüsleridir(17). *Enterovirus* (EV) genellikle yaz aylarında boğaz ağrısı, öksürük, ateş gibi semptomlar ile seyreder. Moleküler özelliklerine göre A'dan D'ye kadar dört cinse ayrılır. EV-A cinsinin üyeleri olan *Coxsackie virüs* A21 ve A24 genellikle yüksek ateş ve salgın yapmalarıyla bilinen, en iyi tanımlanmış soğuk algınlığı etkeni olan EV'lerdir. EV68 ise EV-D'nin üyesi olmakla beraber EV'ler arasında benzersizdir. Çünkü hem EV'lerin hem de rinoviruslerin (RV) karakteristik özelliklerine sahiptir. EV D68, tipik olarak ancak bununla sınırlı olmamakla beraber, bağırsakta çoğalan diğer EV'lerin aksine, neredeyse yalnızca solunum yolu hastalığı ile ilişkilidir(18). Bunun yanı sıra özellikle çocuklarda flask paralizi yapması EV D68'in en ciddi ve karakteristik yan etkisi olarak bilinmektedir(19).

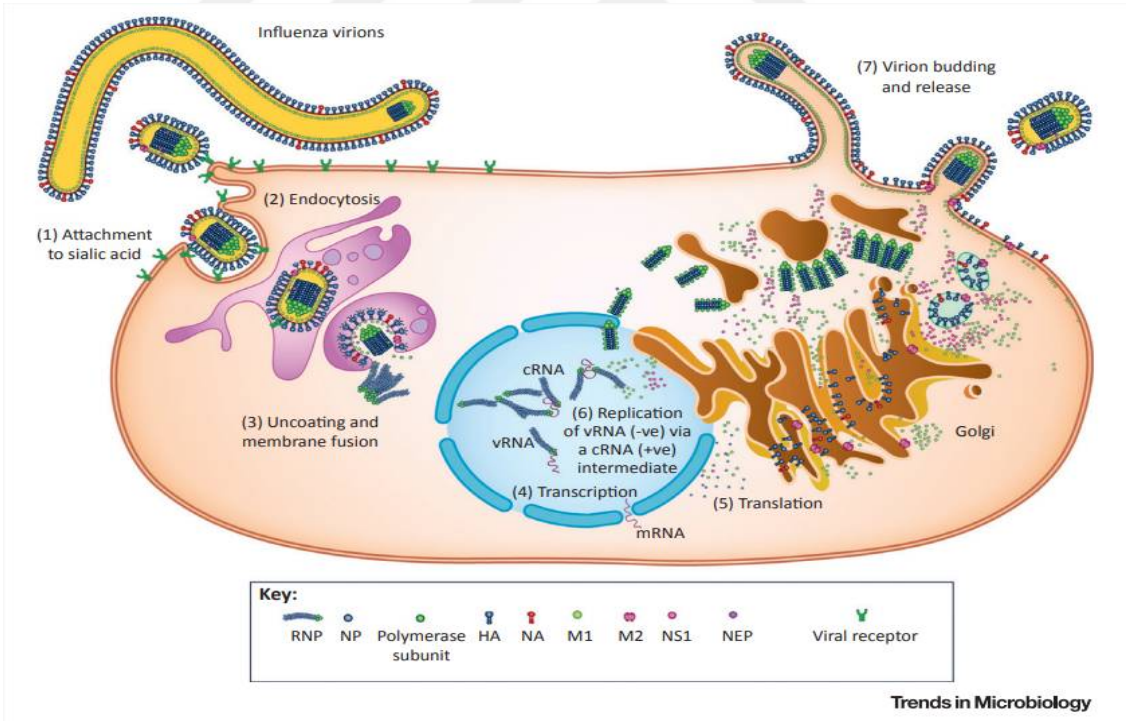
RV soğuk algınlığının en yaygın etyolojik nedeni olmakla birlikte EV gibi hem ÜSYE hem de ASYE neden olabilir (20). *İnfluenza* virüsü ile birlikte erişkinlerde en sık görülen SYE etyolojik etkenlerindendir ve en yüksek insidansı mayıs-eylül ayları arasında görülür(21). RV türleri A, B ve C olmak üzere üç grupta sınıflandırılır ve şimdiye kadar bildirilen 160'tan fazla serotipi vardır (22). Bilinen RV serotiplerinin %90'ından fazlası intrasellüler adezyon molekülü 1'i (ICAM-1) hücre yüzeyi reseptörü olarak kullanır. Bunun dışında düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü (LDLR) ve heparan sülfat reseptörleri aracılığıyla da hedef hücrelere bağlanabilirler(17). RV'ler EV'lerden farklı olarak gastrointestinal sistemde çoğalmazlar, asit pH'a dayanıksızdırlar ve en iyi üremeleri 33 ℃ sıcaklıkta olur. Virus burun epitel hücrelerinde replike olur. Kuluçka dönemi 2-3 gündür. Enfekte olan hücreler bradikinin ve histamin salgıladığından burun akıntısı başlar. Virus atılımı rinit döneminde en yüksek düzeydedir. Kliniği bol sulu akıntı, nazal konjesyon, hapşırık, baş ağrısı, hafif boğaz ağrısı, öksürük, hafif ateş ile karakterizedir(23).

### 2.2.2. *İnfluenza Virusu*

Orthomyxoviridae ailesinden zarflı, negatif polariteli, tek sarmallı RNA virüsüdür. *İnfluenza virüsü* (İFV)'nün genomu RNA polimeraz alt birimleri, viral yüzey glikoproteinleri (hemaglutinin, nöraminidaz, hemaglutinin- esteraz füzyon), viral

nükleoprotein (NP), matriks proteini (M1) ve membran proteini (M2), yapısal olmayan protein (NS1) ve nükleer eksport proteini (NEP)'ni kodlayan sekiz adet RNA segmenti içerir(24). İFV'ler segmentli bir genoma sahip olması sebebiyle, reasortman gelişmesi ve antijenik olarak dolaşımdaki virüslerden çok daha farklı virüslerin oluşması potansiyeline sahiptir.

*Alphainfluenzavirus* cinsinin tek üyesi İFV A, *Betainfluenzavirus* cinsinin tek üyesi İFV B, *Gammainfluenzavirus* cinsinin tek üyesi İFV C insanlarda hastalık yapabilir(25). İnsanlarda İFV solunum epitelini enfekte eder. İFV A ve İFV B'nin hemaglutinin (HA) proteinleri veya İFV C'nin hemaglutinin esteraz füzyon (HEF) proteinleri, sialik aside bağlanarak endositoz ile hücre içerisine girer. RNA virüsleri için alışıldık olmayan bir şekilde viral genom çekirdekte replike olur. Yeni oluşan virüsler hücre yüzeyinde toplanır ve İFV A ile İFV B 'nin reseptör parçalayıcı nöraminidaz (NA) proteinleri veya İFV C'nin HEF proteini sayesinde hücreden salınırlar(25).




**Şekil 2.2:** *İnfluenza* Virüsünün Replikasyon Döngüsü ve Patogenezi (Kaynak (25)'den alıntılanmıştır)

İFV aralık-mart ayları arasında ateş, boğaz ağrısı, burun akıntısı, öksürük, baş ağrısı, kas ağrısı, eklem ağrısı gibi semptomlardan mortal pnömoniye kadar değişen klinik bulgularla mevsimsel grip salgınlarına neden olur(24,26). İFV A daha şiddetli semptomlar ile karakterize iken İFV B'de genellikle daha hafif semptomlar görülür. İFV *C* ise erişkinlerde asemptomatik sayılacak kadar hafif seyreder. Rutin tanı testleri genellikle İFV A ve B'yi saptamaya yöneliktir.

İFV A ve B virüsleri arasındaki temel fark, İFV B virüsünün yalnızca insanlarda bulunmasıdır. İFV'nin birincil doğal rezervuarı su kuşlarıdır; bu kuş virüsleri, insan ve domuz virüsleriyle genetik reassortment yoluyla insanlarda yeni pandemik virüslere yol açabilir(27).

İFV A'nın şimdiye kadar bilinen 18 adet HA, 11 adet NA alt tipi vardır(27). Bu iki yüzey antijeni birbirinden bağımsız olarak antijenik değişikliğe uğrar. Nokta mutasyonları nedeniyle aminoasit değişikliklerinin ortaya çıkmasına bağlı gelişen küçük antijenik değişikliklere antijenik drift; yeni bir alt tipin ortaya çıkmasına neden olan büyük antijenik değişikliklere antijenik shift denir. Antijenik shift, 1918'de İspanyol gribi (H1N1), 1957'de Asya gribi (H2N2), 1968'de Hong Kong gribi (H3N2) ve son olarak 2009'da domuz gribi (H1N1) pandemisi olarak bilinen influenza pandemilerinden sorumludur(27). Bunlardan en büyük etkiye neden olan 1918 H1N1 pandemisinde, dünya nüfusunun %50' si enfekte olmuş ve %25'i önemli klinik tablo geliştirmiştir(28). Toplamda 50-100 milyon (mortalite oranı %5-10) insanın ölümüne yol açtığı tahmin edilmektedir(29).

İFV A'nın yüksek patojenik varyantlarının olması, geniş zoonotik rezervuarının bulunması ve pandemi yapma potansiyeli nedeniyle büyük bir küresel halk sağlığı tehdididir(30). Onlarca yıllık sürveyansa, farmasötik ve farmasötik olmayan müdahalelere rağmen, mevsimsel IFV her yıl dünya çapında salgınlara neden olmaya devam etmektedir(31). IFV tedavisinde oseltamivir ve zanamivir kullanılırken, salgınların önlenmesi ve kontrol altına alınabilmesi için İFV aşıları en hala güçlü yoldur (24,31).

### 2.2.3. İnsan Koronavirüsleri

İnsan koronavirüsleri (HCoV), Coronaviridae ailesinden bilinen en büyük viral RNA genoma sahip zarflı, pozitif polariteli, tek sarmallı RNA virüsleridir(32). Genotipik ve serolojik olarak alfa, beta, gama ve delta olmak üzere dört cinse ayrılırlar. Beta cinsi de A, B, C, D olmak üzere dört soy içerir(33,34). İnsan HCoV enfeksiyonlarına α ve β HCoV'ler neden olur(34). Bugüne kadar yedi insan HCoV'si (CoV) bildirilmiştir. Bunlardan HCoV-229E ve HCoV-NL63 alfa CoV iken, HCoV-OC43, HCoV-HKU1, şiddetli akut solunum sendromu koronavirüsü (SARS-CoV), Orta Doğu solunum sendromu koronavirüsü (MERS-CoV) ve SARS CoV-2 beta HCoV'dir(34).

İlk keşfedilen HCoV-229E, 1966 yılında ÜSYE olan hastaların solunum yolu örneklerinden izole edilmiştir(35). Ardından 1967 yılında HCoV-OC43 saptanmıştır. HCoV-229E ve HCoV-OC43 genellikle kış aylarında sık görülmekle birlikte İFV A ve RV gibi diğer solunum yolu viral etkenleri ile klinik olarak ayırt edilemedikleri bildirilmektedir(36). İlk kez 2004 yılında 8 aylık bir bebekten izole edilen HCoV-NL63, genellikle çocuklarda hastalık yapmaktadır. Konjunktivit, ateş, krup ve bronşiolit ile ilişkilidir(37). Ardından aynı yıl ilk defa 71 yaşındaki bir hastadan, klinik seyri HCoV-229E ve HCoV-OC43'e benzeyen HCoV-HKU-1 bildirilmiştir (38).

HCoV'ler öngörülemeyen bir şekilde ortaya çıktıkları, hızla yayıldıkları ve ciddi bulaşıcı olmaları nedeniyle insan sağlığı için sürekli bir tehdit haline gelmektedir(34). İlk kez 2002 yılında keşfedilen ve bilinen üçüncü HCoV olan SARS-CoV'nin sebep olduğu SARS (Şiddetli Akut Solunum Sendromu) salgını insanlık tarihinde iyi belgelenmiş ilk HCoV salgını olarak tarihe geçmiştir(39). İlk olarak 2012 yılında Suudi Arabistan'da 60 yaşındaki bir hastanın akciğerinden izole edilen MERS-CoV ise akut pnömoni ve böbrek yetmezliği ile karakterize MERS (Orta Doğu Solunum Sendromu)'e neden olarak, bilinen en yıkıcı virüslerden biri haline gelmiştir(40). Son örneği ise devam etmekte olan Covid-19 pandemisinin etyolojik etkeni olan ve insanda hastalık yaptığı bilinen yedinci CoV olan SARS CoV-2'dir.(41)

### 2.2.3.1. SARS-CoV-2

İlk olarak 30 Aralık 2019 tarihinde Wuhan Jinyintan Hastanesi'nde üç hastanın BAL örneğinden izole edilmiştir. Sekans ve filogenetik analizler sonucunda, izole edilen virüs koronavirüs ailesi içinde yer alan yeni bir tür olarak kabul edilmiştir. Sekansı SARS-CoV ile %88, MERS-CoV ile %50 benzerlik göstermekte olup SARS CoV ve MERS CoV gibi Betacoronavirus cinsine dahil edilmiştir(42).

SARS-CoV-2 virionu Spike (S), membran (M), envelope-zarf (E) ve nükleokapsit (N) proteinleri olmak üzere dört yapısal proteinden oluşmaktadır. İki alt birimden (S1, S2) oluşan S proteini, viral zarfa gömülü olarak bulunan ve dışa doğru uzantılar göstererek virüse karakteristik taç şeklini veren glikoproteinlerdir. Konak hücre zarına tutunmadan S1 ve füzyondan S2 alt ünitesi sorumludur. M proteini, virionların hücre içerisinde bir araya getirilmesinde ve virüsün tomurcuklanarak hücreden ayrılması aşamasında rol almaktadır. E proteini iyon kanalları olarak görev görür ve patogenez için önemliyken, N proteini viral replikasyon ve transkripsiyon basamaklarındaki görevinin yanı sıra interferon antagonistik etkisiyle konağın immün yanıtından virüsü korur(43–45).

Yapısal olmayan proteinler 16 adettir (nsp 1-16) ve ORF1a/b tarafından kodlanmaktadırlar. Yapısal olmayan proteinler RNA bağımlı RNA polimeraz (nsp 12), helikaz (nsp 13) gibi transkripsiyonda ve replikasyonda yer almaktadırlar (46,47)

SARS CoV-2 için, S proteinin hedefi kalp, akciğerler, böbrekler ve gastrointestinal sistem (GİS)'de bulunan anjiyotensin dönüştürücü enzim-2 (ACE-2) reseptörüdür. Kalp, akciğer, böbrekler ve bağırsak gibi çeşitli dokularda eksprese olan ACE-2, arteryel ve venöz endotelyal hücrelerde, arteryel düz kas hücrelerinde ve akciğerde tip I ve tip II alveolar epitel hücrelerinde bulunmaktadır. Bu yaygın ekspresyonun COVID-19 hastalarındaki çoklu organ disfonksiyonuna katkı sağladığı düşünülmektedir (48).

### 2.2.4. *Parainfluenza Virusu*

*Parainfluenza virus*leri (PIV), Paramyxoviridaie ailesinden zarflı, negatif polariteli, tek sarmallı RNA virüsleridir. Respirovirus cinsinden PIV-1 ve PIV-3 ve Rubulavirus cinsinden PIV-2 ve PIV-4 olmak üzere dört serolojik tipi insanda hastalık yapar(49). PIV-1 ve PIV-2 krup ile ortaya çıkarken, PIV-3 bronşiyolit ve pnömoninin yaygın bir nedenidir. PIV-4 daha nadir klinik olarak anlamlı solunum yolu enfeksiyonuna yol açar(49,50).

Viral RNA'nın kodladığı yapısal proteinler: nükleoprotein (NP), polimeraz fosfoprotein (P), matriks (M), füzyon (F), hemaglutinin-nöraminidaz (HN) ve büyük protein (L)'dir. Virüs konak hücre yüzeyindeki sialik asit içeren reseptörlere HN glikoproteinleri ile bağlanır(23). PIV'ler, üst ve alt solunum yollarının siliyer epitel hücrelerinde bağlanır ve çoğalırlar. Enfeksiyonun kapsamı, ilgili yer ile ilişkilidir. Mevsimsel PIV salgınları, çocuklarda önemli bir hastalık yüküne neden olur ve ASYE nedeniyle pediatrik hastaneye yatışların %40'ını ve krup vakalarının %75'ini oluşturmaktadır(51).

Serolojik araştırmalar, çocukların %80'inin 5 yaşına kadar PIV-1,2,3 ile enfekte olduğunu göstermiştir(52). Ülkemizde yapılan çalışmalarda en sık PIV-3'ün saptandığı, vakaların özellikle pediatrik yaş grubunda fazla olduğu bildirilmiştir. PIV-3'ün tüm yıl boyunca saptanabilmekle birlikte genellikle haziran-aralık arası dönemde daha yüksek oranda görüldüğü, PIV-1, PIV-2 ve PIV-4'ün ise sonbahar ve kış aylarında daha sık tespit edildiği gösterilmiştir(26,53,54).

### 2.2.5. *Respiratuvar Sinsityal Virus*

Paramyxoviridae ailesine ait zarflı, segmentsiz, negatif polariteli, tek iplikli RNA virüsleridir. Virüsün subtip A (grup 1) ve subtip B (grup 2) olarakiki major antijenik grubu tanımlanmıştır. Subtip A ve B arasında özellikle glikoprotein G aminoasit homolojisi %53, antijenik benzerlik ise yalnızca %5'tir. RSV subtip A'nın subtip B'ye göre daha yaygın olduğu bilinmesine rağmen, epidemilerin çoğunda her iki virüs subtipi birlikte görülmektedir(55).

RSV RSV esas olarak solunum epitelini tutar ve viral çoğalma hava yollarındaki epitellerden lümene doğru olur. Nazofarenkste replikasyon sonrası küçük bronşiyal

epiteli infekte eder, bu arada bazal hücreler etkilenmezken, daha sonra akciğerde tip 1 ve tip 2 alveoller pnömositlere yayılım olur. ASYE virusun üst solunum yollarına alınmasından 1-3 gün sonrasında gelişir. Patolojik olarak epitelyum hücre nekrozu bazen bronşiyal epitelyum proliferasyonun, bronşiyal ve pulmoner arteriol duvarlarında, monosit ve T hücre infiltrasyonu, hava yolları ve vasküler arasında nötrofil birikimi görülür. Bu bulgular hava yolu obstrüksiyonuna, hava kapanlarına, artmış hava yolu direncine ve bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvılarında sıvısında nötrofiliye yol açar(56).

Yenidoğanda ve küçük çocuklarda ciddi SYE'nin en önemli nedenidir ve klinikte en sık bronşiyolit tablosu ile ortaya çıkarlar(57). Ülkemizde *Respiratuvar Sinsityal Virus* (RSV) özellikle çocuklarda yatış gerektiren viral SYE'nin en sık nedenidir. Bebeklikte RSV infeksiyonu sonrasında ileride tekrarlayan "wheezing" veya reaktif hava yolu hastalığı veya astım gelişme riski olabilir. Erişkinlerde ise en sık soğuk algınlığı olarak karşımıza çıkarlar. RSV son zamanlarda yaşlı erişkinlerde, altta yatan kardiyopulmoner hastalığı olan ve immün yetmezliği olanlarda ciddi SYE'nin önemli bir nedeni olarak kabul edilmektedir(58).

RSV'nin bilinen tek rezervuarı insanlardır. Her yıl belirli dönemde salgın oluşturmakla karakterize tek solunum yolu virüsüdür. Salgınlar genellikle sonbahar sonu-ilkbahar başı arasında dört ay sürer. Bu dönem RSV mevsimi diye adlandırılır. Her yıl salgınların olması ve yaşamın ilk aylarında enfeksiyonun yüksek insidansı yalnız RSV gibi insan virüslerine özgüdür.

### 2.2.6. *Adenovirus*

*Adenovirüs*ler (AdV), Adenoviridae ailesinden zarfsız, pozitif polariteli, çift sarmallı DNA virüsleridir. AdV ikosahedral simetrili virüslerden olup kübik yapının her bir köşesinde bir fiber yer alır. 12 fibere sahiptir ve fiberin uzunluğu her bir alt cins üyesi için karakteristiktir(23). AdV türleri yedi grupta sınıflandırılır (A-G) ve bugüne kadar insanda hastalık yapan 110 AdV serotipi bildirilmiştir. AdV solunum organlarını, gözleri, böbreği, gastrointestinal sistemi ve kan hücrelerini enfekte edebilmektedir(59). Gastroenterit, faringokonjonktival ateş, febril solunum yolu enfeksiyonları ve/veya keratokonjonktivit salgınlarına neden olabilir(60). AdV B, C ve E SYE ile ilişkili olan sınıflardır(61). Komplike olmayan ÜSYE'den yaşamı tehdit

eden pnömoniye kadar yaygın enfeksiyon tablolarına yol açabilirler. AdV, dünyada olduğu gibi ülkemizde de yıl boyunca sporadik seyretmektedir(62). Daha yaygın olarak pediatrik hasta grubunda, genellikle kendi kendine sınırlanan hafif enfeksiyonlara neden olurlar.

### 2.2.7. *Human Metapneumovirus*

Paramyxoviridae ailesinden tek sarmallı, segmentsiz, negatif polariteli zarflı RNA virüslerdir(63). *Human Metapneumovirus* (hMPV) ilk olarak 2001 yılında Hollanda'da hastanede yatan çocuklardan izole edilerek rapor edilmiştir ve genelde 5 yaşın altındaki çocuklarda şiddetli pnömonilere neden olur(7,64). En sık kış ve erken ilkbahar döneminde görülür(64). Çocukluk döneminde bronşiolit ve pnömoninin RSV'den sonraki 2.sıklıktaki sebebidir(65).

### 2.2.8. *Human Bocavirus*

*Human Bocavirus* (HBoV) Parvovirüs ailesinden zarfsız, negatif polariteli, tek sarmallı DNA virüsüdür(66). Çoğunlukla çocuk hastalarda solunum yolu enfeksiyonu ve gastroenterit etyolojik etkeni olarak karşımıza çıkar. İlk olarak 2005 yılında çocuklardan izole edilmiş olan HBoV'nin patojenitesi, tam olarak açıklığa kavuşturulmamıştır(67).

## 2.3. Solunum Yolu Virüsleri İçin Tanı Testleri

Viral hastalıklarda klinik örneğin doğru seçilmesi, doğru zamanda ve doğru şekilde alınması ve uygun koşullarda laboratuvara ulaştırılması tanı başarısını artırmak için çok önemlidir. SYE şüpheli olguların laboratuvar tanısı için en uygun örnekler; nazofaringeal sürüntü (NFS), Nazofarengeal aspirat (NA), nazal aspirat (NA) veya orofaringeal sürüntü (OS) ile kombine olarak alınmış NFS örnekleridir. Bu örnekler alınamıyorsa, nazal sürüntü (NS) veya orofaringeal sürüntü kabul edilebilir. Entübe edilen hastalar için ise endotrakeal aspirat (ETA), BAL ve balgam örnekleri de kabul edilebilir. Bir örneğin alınması ile laboratuvara gönderilmesi arasındaki süre ne kadar kısa olursa virüsün tespit edilebilme şansı da o kadar fazla olur. Örnek alımı semptomlar başladıktan sonraki ilk 5 gün içinde (mümkünse ilk 48 saatte) olmalıdır. Örnek alımı sırasında aerosol oluşabileceğinden uygun enfeksiyon kontrol önlemlerinin izlenmesi önemlidir. Sürüntü örnekleri sentetik uçlu (ör. Polyester veya

Dacron®) ve alüminyum veya plastik şaftlı eküvyonlar kullanılarak alınmalıdır. Pamuk uçlu ve tahta şaftlı çubuklar tavsiye edilmemektedir. Kalsiyum aljinattan yapılmış pamuklu çubuklarla alınan örnekler kabul edilmemelidir. Örnekler 1-3 ml steril viral transport besiyeri (VTM) (örn; Protein stabilizatörü, bakteri ve mantar üremesini engellemek için antibiyotikler ve tampon çözelti içeren besiyerleri) içeren tüplere alınmalı ve laboratuvara gönderilmek üzere hemen kuru buz veya buz paketleri üzerine konulmalı veya 4 ° C'de (buzdolabında) saklanmalıdır(68,69).

Laboratuvar yöntemleri ile virüslerin hücrelerde oluşturduğu sitopatik etki tanımlanabilir, viral partiküller saptanabilir, virüs izole edilip çoğaltılabilir, viral yapılar (protein, enzim, genom vs.) saptanabilir ve hastanın virüse karşı immün yanıtı değerlendirilebilir. Bu amaçlara uygun olarak solunum yolu viral enfeksiyonlarını teşhis etmek için viral kültür, serolojik testler ve moleküler yöntemler kullanılmaktadır(70).

### 2.3.1. Virüs İzolasyonu ve Üretilmesi

Virüsler, hücre kültürlerinde, embriyonlu yumurtada ve deney hayvanlarında üretilebilmektedir. En sık kullanılan yöntem hücre kültürleridir. Embriyonlu yumurta sıklıkla serolojik testler için antijen üretmek ve aşı hazırlanması amacıyla kullanılırken, deney hayvanları viral patogenez çalışmaları ve ilaç-aşı çalışmaları için kullanılmaktadır.

**a) Hücre Kültürleri:**

Altın standart yöntem olarak bilinen viral kültür, etkenin varlığını ve türünü kesin olarak belirlemektedir. Hücre kültüründe sitopatik etki gözlemlenerek tanı konmaktadır, ancak bu etkinin saptanması diğer yöntemlere göre uzun sürmektedir(71). Virüsü üretebilmek için insan/hayvan kökenli embriyon ya da karsinoma dokusu veya hayvan dokuları kullanılır. Mekanik/enzimatik yöntemlerle hücreler ayrıştırıldıktan sonra üremeyi destekleyecek özel kültür sıvısı eklenerek hücreler şişe veya tüplere inoküle edilir ve klinik örnek eklenerek tek tabakalı (monolayer) üreme izlenir(72). Hücre kültürleri günlük olarak kontrol edilir ve üremesi halinde ortaya çıkabilecek sitopatik etki yönünden mikroskobik olarak incelenir. Bu sitopatik etki, virüslerin replikasyon özelliklerine ve viral yüke bağlı olarak farklı sürelerde ortaya çıkar. Bu nedenle hücre kültürü zaman alan, emek

yoğun, daha yüksek biyogüvenlik ve tecrübe gerektiren bir yöntem olup özgüllük oldukça yüksek olsa da kültürde çok zayıf üreyen ya da hiç üreyemeyen bazı virüsler nedeniyle duyarlılık düşüktür(70).

Bununla birlikte, viral kültür halk sağlığı laboratuvarlarında özellikle spesifik moleküler amplifikasyon testleri mevcut olmadığında, bilinmeyen veya yeni ortaya çıkan patojenlerin tanımlanması için önemli olmaya devam etmektedir. Aynı zamanda klinik numune içindeki virüsün canlı olup olamadığının anlaşılmasının gerekli olduğu durumlarda yapılabilir. Yıllar içinde, ters transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR), tercih edilen referans yöntem olarak yavaş yavaş viral kültürün yerini almıştır(73).

### 2.3.2 Viral Seroloji

Serolojik testler in vitro antijen-antikor birleşmesi prensibine dayanan immünolojik temelli yöntemlerdir. Klinik örneklerde mikroorganizma antijeninin saptanması ve hasta serumunda etkene özgül antikor varlığının gösterilmesi gibi 2 temel amaç için kullanılabilmektedir.

**b) Antijen Saptama Yöntemleri**

**İmmunfluoresans Antijen (FA) Testi:**

Bir antijen-antikor reaksiyonu olan bu yöntem de spesifik antikorlar flurokrom bir boya (FITC, Auramine, Rhodamin, vs) ile boyanır. Bir preparatta homolog antijenin bulunduğu durumlarda boyalı antikor konursa, boyalı antikorlar antijenle birleşir. UV ışınlı mikroskop altında sarı-yeşil parlak bir fluoresans görüntü verir. Doğrudan virüse özgü ise antikorlara bir florokrom konjuge edilip incelenirse buna Direkt İmmunfluoresans (DFA) Testi, virüse özgü antikorla reaksiyona giren ikinci bir antikor ise bir florokrom konjuge edilip incelenirse İndirekt İmmunfluoresans (IFA) Testi adı verilir(74).

FA testlerinin önemli avantajlarından biri, yeterli sayıda epitel hücresinin mevcut olup olmadığını gözlemleyerek numune kalitesinin belirlenebilmesidir. Diğer önemli avantajı da DFA testleri için hazır kitler bulunur, IFA testlerinin gerçekleştirilmesi ise 2-4 saat gibi kısa bir sürede gerçekleşmektedir. Dezavantajı ise özel ekipman ve

deneyim gerektirmesidir(74). İFV, RSV, PIV ve AdV'ler için FA testler yapılabilmekte olup, duyarlılıkları RSV ve İFV için %87-93, AdV ve PIV için %51-67 olarak bildirilmektedir(75).

**Hızlı Antijen Testleri:**

Antijen testleri ile klinik örnekte etkenin özgül proteinleri araştırılır. Teknik olarak nükleik asit amplifikasyon testlerine göre duyarlılık ve özgüllüklerinin daha düşük olması beklenir. Uygulama kolaylıkları ve daha hızlı sonuç verme kapasiteleri nedeniyle mikrobiyolojik tanıda yer almakla birlikte, enfeksiyon etkenine, enfeksiyonun dönemine ve klinik örneğe göre güvenilirlikleri değişir(76).

Başta immünokromatografik testler olmak üzere antijen saptama yöntemleri ile semptomların başlamasından sonraki saatler içinde etyolojik patojenler 30 dakikadan kısa bir süre içinde tespit edilebilmektedir. Klinik prognozu ciddi olup, hastaların morbidite ve mortalite riski açsısından erken tanı konulması gereken RSV, İFV A ve B, SARS CoV-2 virüslerinin antijenlerini saptamak için geliştirilmiş ticari kitler mevcut olup mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılmaktadır. Özellikle salgın dönemlerinde, yüksek duyarlılıkla tespit sağlayabildiği için RT-PCR testlerine alternatif olarak kullanılabilmektedir(76,77).

**b) Antikor Saptama Yöntemleri:**

Enfeksiyonu geçirmiş kişilerin saptanması, toplumdaki yaygınlığın araştırılması (seroprevalans), bağışıklığın gösterilmesi için antikor testleri kullanılabilir. Antijenlere karşı geliştirilen antikorları kalitatif veya kantitatif olarak saptayan, lateral akım (kart test), ELISA, CMIA, CLIA, ECLIA temelli testlerdir. Bu testlerde patojenin çeşitli antijenlerine karşı oluşan IgG, IgM, IgA izotipinde veya total antikorlar saptanmaktadır(78).

### 2.3.3 Moleküler Yöntemler

Klinik örneklerde viral genomun belirli fragmentleri nükleik asit amplifikasyon testleri (NAAT) ile belirlenebilmektedir**.** Viral nükleik asitlerin moleküler tespiti, viral enfeksiyonların laboratuvar tanısında devrim yaratmıştır. PCR temelli moleküler testler, viral antijenler yerine virüse özgü genetik materyalleri

saptamaktadır. Geleneksel yöntemlere kıyasla hızlı ve duyarlıdır. NAAT'lerin geliştirilmesinden önce, klinik numunelerde viral nükleik asitlerin dot-blot hibridizasyonu gibi yöntemlerle tespit edilmesi için girişimlerde bulunulmuştur, ancak bunlar düşük duyarlılık nedeniyle büyük ölçüde başarısız olmuştur. 1986'da PCR'ın ortaya çıkmasıyla, nükleik asit amplifikasyon yönteminin nükleik asitleri kolayca tespit edilebileceği gösterilmiştir. Kısa bir süre sonra da bu yöntemin klinik örneklerde viral nükleik asitlerin saptanmasında kullanılmasının başarılı olduğunu kanıtlayan çok sayıda çalışma ortaya konmuştur (79,80).

Viral SYE'nin tanısında NAAT kullanımının çeşitli avantajları ve dezavantajları vardır. En önemli avantaj duyarlılığının çok yüksek olmasıdır. Diğer bir avantaj ise, HCoV veya RV gibi antijen saptama yöntemlerinin uygulanamadığı virüsleri saptayabilme yeteneğidir. Moleküler testlerin sağladığı hızlı, duyarlı ve özgül sonuçlar, antiviral tedavinin doğru ve zamanında başlanmasına, gereksiz antibiyotik kullanımının önüne geçilebilmesini sağlar. Ancak, NAAT testi ile ilgili dezavantajlardan biri yanlış negatif sonuca neden olabilen dizi varyantlarının ortaya çıkma potansiyelidir. Bir diğer dezavantaj ise geleneksel yöntemlerden daha pahalı olabilmeleridir (79).

**a) RT-PCR:**

Yıllar içinde, ters transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR), tercih edilen referans yöntem olarak yavaş yavaş viral kültürün yerini almıştır. PCR için uygun primerlerin kullanılmasıyla hedef dizi birkaç saat içinde milyonlarca kez çoğaltılabilir. Bir hastadaki viral genom miktarının kantitasyonu RT-PCR ile yapılabilir. Bu yöntemle hücre kültüründe üremesi zor olan, düşük konsantrasyonda üreyen ya da üretilmesi tehlikeli olan virüslerin saptanması mümkün olabilmektedir(106).

**b) Sendromik Multipleks PCR Testleri:**

Enfeksiyon etkenlerini saptamak için en ideal tanı sistemleri, özel laboratuvar donanımı ve nitelikli teknisyen gereksinimini en aza indiren; hızlı, duyarlı, özgül ve tekrarlanabilir sonuçlar sağlayan yöntemlerin kullanıldığı sistemlerdir. Son zamanlarda eş zamanlı olarak çok sayıda etkenin tespit edilebilmesi, basit test algoritması, uygulama kolaylığı, sensitivite ve spesifitesinin yüksek olması, hızlı

sonuç alınabilmesi nedeniyle MPSP kullanımı mikrobiyoloji laboratuvarlarında yaygınlaşmaya başlamıştır. (81).

Bazı testler sadece AdV, PIV, hMPV ve influenza virüsleri gibi tek bir viral türü tespit eder ya da İFV- RSV, RSV- hMPV gibi sınırlı multipleks testleri sunar(82). Bu testler, yalnızca en yaygın izole edilen virüsleri saptamayı hedeflemiştir. Bu durum SYE'nin tanısına yönelik hedeflenen yaklaşımın yararına olmasına rağmen, sadece en yaygın virüslerle sınırlı olmaları klinisyenleri birden fazla test istemeye zorlayabilir ve koenfeksiyonların saptanmasına engel olabilir(11). Bu nedenle olabilecek en etkili yaklaşım, tek bir testte daha geniş patojen aralığının eşzamanlı olarak saptanmasına izin veren kapsamlı MPSP kullanılmasıdır(78). MPSP, laboratuvarların üst solunum yolu hastalıklarına neden olan virüsler ve bakteriler için hızla son derece hassas ve spesifik test sonuçları sağlamasına olanak sağlamıştır(2). Bu testler, klinik kararlar almak için yeterlidir ve geleneksel yöntemlerin aksine bir kullanıcıdan diğerine farklılık gösterebilecek subjektif yorumları ortadan kaldırabilmektedir. MPSP kullanımı ile solunum yolu viral etkenlerinin tanımlanması %30-50 oranında arttığı literatürlerde bildirilmektedir(83,84).

**Bio-Speedy Solunum Yolu Rt-qPCR MX-24S Paneli:**

Bio-Speedy® Solunum Yolu RT-qPCR MX-24S Paneli, viral ve bakteriyel etkenlerin kalitatif tespiti için tasarlanmış tek basamaklı ters transkripsiyon ve gerçek zamanlı PCR (RT-qPCR) bir testtir. NFS, orofaringeal sürüntü, OS, BAL, NFA, tükürük, gargara ve balgam örneklerinden elde edilen nükleik asit izolatları çalışılabilmek üzere tasarlanmıştır.

Solunum yolu virüslerinin eşzamanlı tespiti için FilmArray (BioFire Diagnostics), Prodesse (Hologic Gen-Probe) ve xTAG (Luminex, Austin, TX) ve Verigene (Nanosphere) gibi çeşitli ticari kitler mevcuttur. Bio-Speedy® Solunum Yolu RT-qPCR MX-24S Paneli'nin avantajı standart RT-PCR cihazlarında aynı anda 10 solunum yolu örneğinin çalışılabilmesine ve 1 saatten kısa sürede sonuç alınmasına olanak sağlamaktadır. Bu nedenle, yüksek maliyetleri nedeniyle rutin uygulamada sadece kısıtlı sayıda örneğe uygulanabilen MPSP testlerininin maliyet etkin olarak gerekli tüm durumlarda kullanılmasını mümkün kılabilmektedir.

## 3. GEREÇ ve YÖNTEM

Araştırmamız prospektif ve tanımlayıcı bir çalışma olarak tasarlanmıştır. Çalışmamızın tasarımı, Microbiology Investigation Criteria for Reporting Objectively (MICRO) kılavuzuna uygun olarak yapılmıştır (MICRO, The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) kılavuzunun modifikasyonudur(85,86).

Uluslararası etik kurallarına uyulmuş ve Sağlık Bilimleri Üniversitesi Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulundan 11.03.2021tarihli 3157 sayılı karar ile etik kurul onayı alınmıştır.

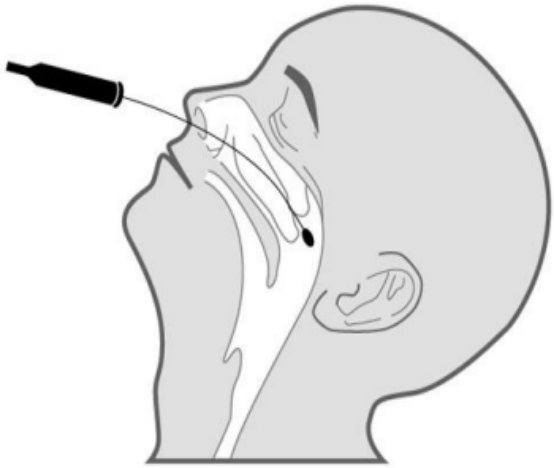
### 3.1. Hasta Grubu

Bu çalışmaya Ağustos 2021- Aralık 2021 tarihleri arasında İstanbul Sağlık Bilimleri Üniversitesi Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Acil Servisine solunum yolu semptomlarıyla ayaktan başvurmuş olan 173 erişkin hasta dahil edilmiştir. Hasta popülasyonu, hafta içi her gün saat 11.00-15.00 arasında gözlem yapılarak ateş, halsizlik, öksürük, burun tıkanıklığı /akıntısı, vücut ağrısı, kas-eklem ağrısı, tat/koku kaybı, baş ağrısı gibi semptomlardan en az 3 tanesi ile başvurmuş, rutinde kullanılan SARS-CoV-2 PCR testi negatif 5 hasta arasından 1 veya 2'sine ait nazofarengeal sürüntü (NFS) örneği random seçilerek oluşturulmuştur. Örnekler toplanırken hastaların demografik bilgilerinin yanı sıra örnek toplama tarihi, kullandığı ilaçlar, aşılanma durumu, varsa komorbid durumları gibi bilgiler kaydedilmiştir.

Covid-19 tanısı almış kişiler ile yakın teması olan bireyler, son 1 ay içinde Covid-19 tanısı almış olan hastalar, vaka tanımına uymayıp prosedür gereği numune veren kişiler, 14 günden uzun süren semptomu olan hastalar ve 18 yaşın altındaki hastalar çalışma dışı bırakılmıştır.

### 3.2. Solunum Yolu Örneklerinin Toplanması ve Saklanması:

Solunum yolu semptomu olan hastalardan NFS örnekleri prospektif olarak toplanmıştır. Örnekler aynı gün içerisinde işleme alınmış veya aynı gün içerisinde işleme alınamayan numuneler nükleik asit ekstraksiyonu sonrası çalışma gününe kadar -80 °C'de saklanmıştır. NFS örneğinin alım tekniği Şekil 3.1'de gösterilmiştir.

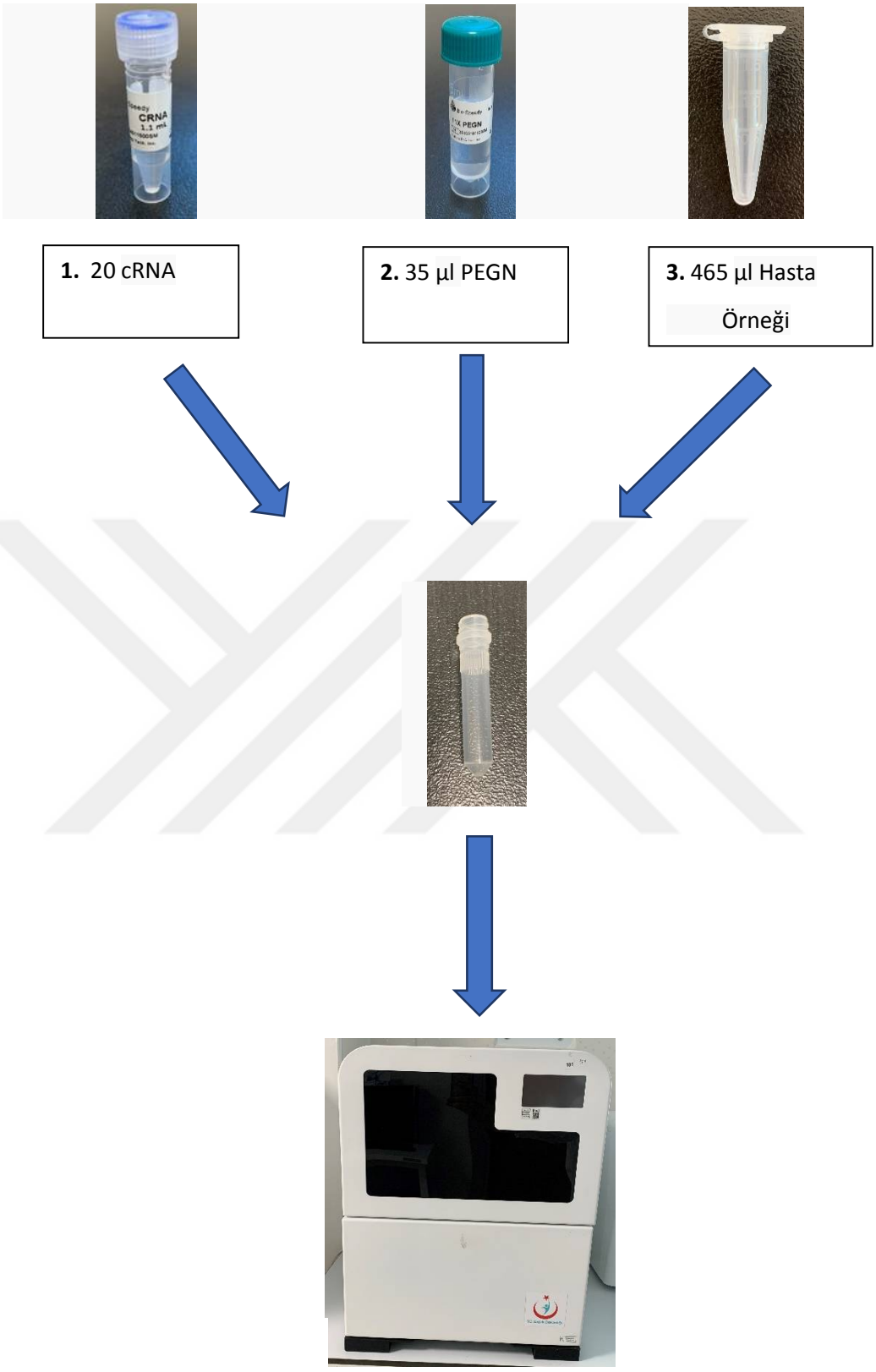


**Şekil 3.1:** Nazofarengeal Sürüntü Örneğinin Alınması

### 3.3. Solunum Yolu Multipleks RT-qPCR Testi İçin Örneklerin Ekstraksiyonu:

NFS örneklerinde nükleik asit ekstraksiyon işlemi RINA$^{TM}$ -M14 Nükleik Asit Ekstraksiyon Kiti (Bioeksen) ve RINA$^{TM}$ -M14 Nükleik Asit Ekstraksiyon Robotu (Bioeksen) kullanılarak, üretici firmanın önerdiği solunum yolu örnekleri nükleik asit ekstraksiyon prosedürü doğrultusunda yapılmıştır. Tüm işlemler Class IIA biyogüvenlik kabininde uygulanmıştır.

Viral Transport Media (VTM) içinde bulunan örnekten mikrosantrifüj tüpüne 1ml aktarılarak en yüksek hızda 20 saniye vortekslenmiştir. Öncesinde 20 µl cRNA (Carrier RNA) ve 35 µl PEGN (Polietilen Glikol+Sodyum Azide) koyulmuş örnek tüpüne 465 µl örnek pipetlenerek ekstraksiyon robotuna yerleştirilmiştir. RINA M14 Robotu, örnek tipine uygun kitten gelen kaotropik tuz, deterjan, taşıyıcı molekül ve proteinaz K'nın yanında lizis basamağında örnekleri ısıtarak ve pipetaj ile numunelerin lizisini sağlar. RINA M14 nükleik asitlerin kaotropik tuzlar ve alkol varlığında silika kaplı demir oksit manyetik partiküllerine bağlanması ve alkol ile yıkanmasının ardından düşük konsantrasyonlu tuz çözeltileri ile elüe olması prensibine göre tasarlanmıştır. Manyetik partiküllerin kontrolü için mıknatıs kullanırken, kurutma için pipetasyon kullanır. Ekstraksiyon işlemi sonucunda 100 µl elüsyon hacminde nükleik asit ekstraktı elde edilmiştir. Nükleik asit ekstraksiyonu Şekil 3.2'de şematize edilmiştir.




**Şekil 3.2:** Nükleik Asit Ekstraksiyonu İş Akışı

### 3.4. Bio-Speedy Solunum Yolu Rt-qPCR MX-24S Paneli

Ekstraksiyonu tamamlanmış olan örnekler Bio-Speedy Solunum Yolu Rt-qPCR MX-24S Paneli (Bioeksen, İstanbul, Türkiye) kullanılarak Bio-Rad CFX96 Touch™ RT-PCR cihazında çalışılmıştır.

**Tablo 3.1:** Bio-Speedy Solunum Yolu Rt-qPCR MX-24S Paneli'nin Tespit Ettiği Mikroorganizmalar

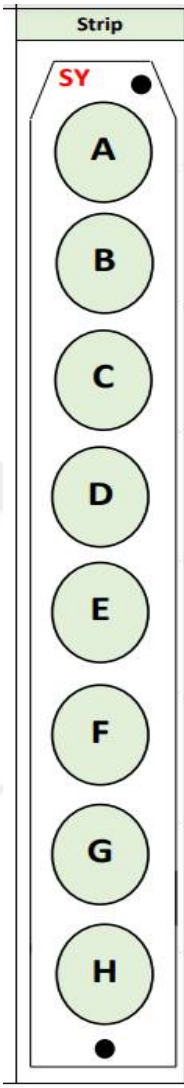
| VİRÜS | BAKTERİ |
|---|---|
| SARS CoV-2 | *Legionella pneumophila* |
| *İnfluenza A* | *Mycoplasma pneumoniae* |
| *İnfluenza B* | *Chlamydophlia pneumoniae* |
| *Human Coronavirus 229E* | *Haemophilus influenzae* |
| *Human Coronavirus OC43* | *Bordetella pertussis* |
| *Human Coronavirus NL63* | *Streptococcus pneumoniae* |
| *Human Coronavirus HKU1* | |
| *Parainfluenza 1* | |
| *Parainfluenza 2* | |
| *Parainfluenza 3* | |
| *Parainfluenza 4* | |
| *Human metapneumovirus (hMPV)* | |
| *Enterovirus* | |
| *Rhinovirus* | |
| *Human Bocavirus (HBoV)* | |
| *Human Parechovirus (HPeV)* | |
| *Adenovirus* | |
| *Respiratuvar Sinsityal Virus A/B* | |

### 3.4.1 RT-qPCR Reaksiyonunun Kurulması ve Amplifikasyon

Ekstraksiyonu tamamlanmış olan örnekler Bio-Speedy Solunum Yolu Rt-qPCR MX-24S Paneli (Bioeksen, İstanbul, Türkiye) kullanılarak Bio-Rad CFX96 Touch™ RT-PCR cihazında (Bio-Rad Laboratories, Kaliforniya, Amerika) çalışılmıştır.

Çalışmada kullanılan her strip 8 kuyucuktan oluşmaktadır. İnternal kontrol ilk kuyucukta yer almakla birlikte RNAse-P genini hedeflemektedir. Solunum yolu RT-qPCR kitinde yer alan, hasta numuneleri ve negatif kontrol için kullanılacak stripler SY olarak işaretlenmiş olup, her bir kuyucukta 5 µl araştırılan solunum yolu patojenlerine uygun farklı oligo mixler bulunmaktadır. Pozitif kontrol için kullanılacak stripler PC-SY olarak işaretlenmiş olup, her bir kuyucukta toplam 10 µl

araştırılan solunum yolu patojenlerine uygun oligo mix ile birlikte pozitif kontrol template bulunmaktadır. Striplerde bulunan her kuyucukta araştırılan patojenler ve hangi kanalda değerlendirildiği Şekil 3.3'de gösterilmektedir.




| Strip | Kuyu İçerik | Kanal | Hedef |
|---|---|---|---|
| | A: COVID/Flu Oligo Mix | FAM | SARS-CoV-2 (*Nükleokapsid* geni) |
| | | HEX | İnternal Kontrol (İnsan *RNase P* geni) |
| | | ROX | İnfluenza B |
| | | CY5 | İnfluenza A |
| | B: COR Oligo Mix | FAM | İnsan Coronavirüs 229E |
| | | HEX | İnsan Coronavirüs OC43 |
| | | ROX | İnsan Coronavirüs NL63 |
| | | CY5 | İnsan Coronavirüs HKU1 |
| | C: PAR Oligo Mix | FAM | Parainfluenza 1 |
| | | HEX | Parainfluenza 2 |
| | | ROX | Parainfluenza 3 |
| | | CY5 | Parainfluenza 4 |
| | D: MEA Oligo Mix | FAM | İnsan Metapneumovirüs |
| | | HEX | İnsan Enterovirüs /İnsan Rhinovirüs Set 1 |
| | | ROX | |
| | | CY5 | Adenovirüs |
| | E: BPR Oligo Mix | FAM | İnsan Bocavirüs |
| | | HEX | |
| | | ROX | İnsan Parechovirüs |
| | | CY5 | İnsan Enterovirüs/İnsan Rhinovirüs Set 2 |
| | F: LMC Oligo Mix | FAM | *Legionella pneumophila* |
| | | HEX | |
| | | ROX | *Mycoplasma pneumoniae* |
| | | CY5 | *Chlamydophila pneumoniae* |
| | G: HBS Oligo Mix | FAM | *Haemophilus influenzae* |
| | | HEX | |
| | | ROX | *Bordetella pertussis* |
| | | CY5 | *Streptococcus pneumoniae* |
| | H: RSV Oligo Mix | FAM | |
| | | HEX | |
| | | ROX | Respiratory syncytial virüs A/B |
| | | CY5 | |

**Şekil 3.3:** RT-qPCR striplerinin kuyucuk içerikleri (87)

Üretici firma talimatlarına göre, her hasta için bir mikrosantrifüj tüpü içerisine 90 µl 2xPrime Script Mix (DNA polimeraz, dNTP miks, reaksiyon tamponu, ters transkriptaz ve ribonükleaz inhibitörü) ve 45 µl hasta örneği nükleik asit ekstraktı eklenip pipetajla karıştırıldıktan sonra hastaya ait stripte bulunan her kuyucuğa 15'er µl dağıtılmıştır. Negatif kontrol için, 90 µl 2xPrime Script Mix ve 45 µl NTC eklenip pipetajla karıştırıldıktan sonra her kuyucuğa karışımdan 15'er µl dağıtılmıştır. Pozitif kontrol için ise 90 µl 2xPrime Script Mix her kuyucuğa 10 µl olarak dağıtılmıştır. Reaksiyon kurulumu Tablo 3.2'de gösterilmiştir.

**Tablo 3.2:** Reaksiyon Kurulumu(87)

| Reaksiyon Tipi | Kullanılacak Strip | Aşağıda verilen bileşenler, belirtilen miktarlarda bir tüp içerisinde birleştirilir, pipetajla karıştırılır, sağ kolonda verilen miktarda strip kuyularına dağıtılır. | | A, B, C, D, E, F, G ve H kuyularına dağıtılacak miktar |
|---|---|---|---|---|
| | | Kullanılacak Bileşen | 1 Strip için hazırlanacak miktar (µL/strip) | 1 kuyu için pipetlenecek miktar (µL/kuyu) |
| Hasta Numunesi | SY Her hasta için 1 strip | 2X Prime Script Mix | 90 µL | 15 µL |
| | | Hasta örneğinden elde edilen nükleik asit ekstraktı | 45 µL | |
| | | Toplam | 135 µL | |
| Negatif Kontrol (NTC) | SY Her işletim için 1 strip | 2X Prime Script Mix | 90 µL | 15 µL |
| | | NTC | 45 µL | |
| | | Toplam | 135 µL | |
| Pozitif Kontrol (PC) | PC-SY Her işletim için 1 strip | 2X Prime Script Mix | - | 10 µL |

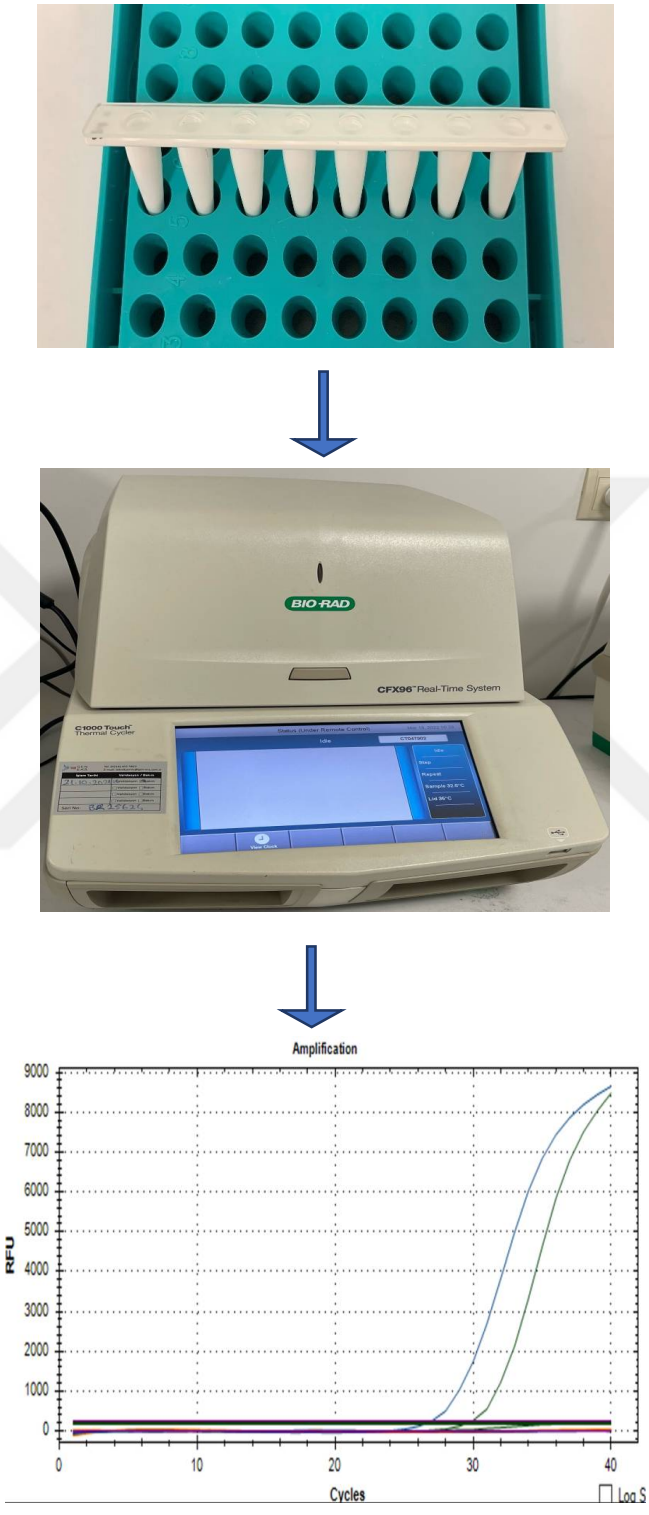
Reaksiyon hacmi 20 µl olup, Bio-Rad CFX96 Touch$^{TM}$ RT-PCR cihazında Tablo 3'te gösterilen ters transkripsiyon ve gerçek zamanlı PCR aşamalarını içeren RT-qPCR protokolü kullanılmıştır.

**Tablo 3.3:** Solunum Yolu Paneli RT-qPCR protokolü (87)

| Ters Transkripsiyon/1 Döngü | Ön İnkübasyon/1 döngü | Çoğalma/40 döngü | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Denatürasyon | Bağlanma ve Uzama | Floresan Okuma |
| 52°C-5 dk | 95°C-10 sn | 95°C-1 sn | 55°C-10 sn | FAM/HEX/ROX/CY5 |

İlk basamakta 52 °C'de RNA virüsleri ve bu virüslerin mRNA'ları, ters transkriptaz enzimi kullanılarak cDNA'ya dönüştürülür. İlk denatürasyon ise 95 °C'de gerçekleştirilmekte olup Taq DNA polimeraz enzimleri, enzimi oda sıcaklığında inaktif tutan antikorlardan kurtarılır. 95°C-55°C'de 40 döngü olarak gerçekleştirilen amplifikasyon ve tespit adımında, organizmaya spesifik olarak tasarlanan primer prob setleri ve taq polimeraz enzimi cDNA'yı kalıp olarak kullanarak, hedef bölgenin spesifik amplifikasyonunu gerçekleştirirler. Bu amplifikasyon sırasında üzerinde floresan boya ve quencher (sönümleyici) bulunan prob hidrolize olur. Hidrolize olan prob içerisinde floresan boya ve sönümleyici birbirinden uzaklaşarak floresan ışıma gerçekleştirir, RT-PCR cihazları bu floresan boyayı algılar ve rapor ederler. Her PCR döngüsünde kalıp olarak kullanılan nükleik materyal arttığı için daha fazla floresan ışıma meydana gelir ve RT-PCR cihazı bu okumaları her döngüde tespit eder. Çalışma sonucunda RT-PCR cihazı bu okumaları sigmodial bir eğri olarak rapor etmektedir. Sigomaidal eğri, hangi hedef için oluşmuş ise o hedefin numune içerisinde varlığı tespit edilmektedir. Üretici tarafından kitin tespit limiti

(LoD: Limit of Detection) değeri NFS örneklerinde bulunan DNA hedefleri için 10 kopya/ml, RNA hedefleri için 100 kopya/ml olarak belirtilmektedir.




**Şekil 3.4:** Solunum Yolu Paneli RT-qPCR İş Akışı

### 3.5. Sonuçların Yorumlanması

Üretici talimatları doğrultusunda threshold döngü sayısını (Cq) hesaplamak için önerilen threshold seviyesi Bio-Rad CFX96 Touch ™ cihazı için 200 RFU (relative fluorescence units) olarak alınmıştır. Tüm çalışmalarda öncelikle pozitif ve negatif kontroller değerlendirilmiştir. Kontrollerin geçerli olması halinde hasta sonuçları yorumlanmıştır. Hedef gen ve internal kontrole (IC) ait amplifikasyon eğrilerinin grafikleri incelenmiş olup IC için sigmoidal amplifikasyon eğrisine sahip ve IC Cq≤34 olması veya IC Cq≥34 ise hedef Cq≤38 olması durumunda reaksiyon geçerli kabul edilmiştir. Hedef gen için sigmoidal amplifikasyon eğrileri saptanan, Cq değeri <38 olan numuneler pozitif olarak kabul edilmiştir. Cq değeri ≥38 olan veya sigmoidal olmayan eğrilere sahip numuneler negatif olarak değerlendirilmiştir.

Kalan klinik örnekler ve nükleik asit ekstraktları -80 °C'de dondurularak saklanmıştır.

### 3.6. Kalite kontrol

Aynı periyot içerisinde araştırmada kullanılan cihaz, kit ve protokol kullanılarak 10 adet QCMD (Quality Control for Molecular Diagnostics) dış kalite örneği de çalışılmıştır.

### 3.7. İstatistik analiz

İstatistiksel analiz için SPSS 15.0 for Windows programı kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler; kategorik değişkenler için sayı ve yüzde, sayısal değişken için ortalama, standart sapma, minumum, maksimum, median olarak verilmiştir. Gruplarda oranlar Ki Kare testi ile karşılaştırılmıştır. Risk etkileri Lojistik Regresyon Analizi ile incelenmiştir. Alfa anlamlılık seviyesi $p<0,05$ olarak kabul edilmiştir.

# 4. BULGULAR

## 4.1. Araştırma Popülasyonu

Bu araştırma kapsamında Ağustos 2021- Aralık 2021 tarihleri arasında İstanbul Sağlık Bilimleri Üniversitesi Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında, 96'sı kadın (55,5%), 77'si erkek (44,5%) olmak üzere 173 erişkin hasta NFS örneği ve 10 adet QCMD örneği test edilmiştir. Hastaların yaş aralığı 18-67, yaş ortalaması 33.5, medyan yaş 28 idi. Hastaların yaş, cinsiyet gibi demografik verileri ile kronik hastalık durumu, aşılanma durumu, antibiyotik reçete edilme ve hastaneye yatış durumları Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.1:** Hastaların Demografik ve Klinik Bilgileri

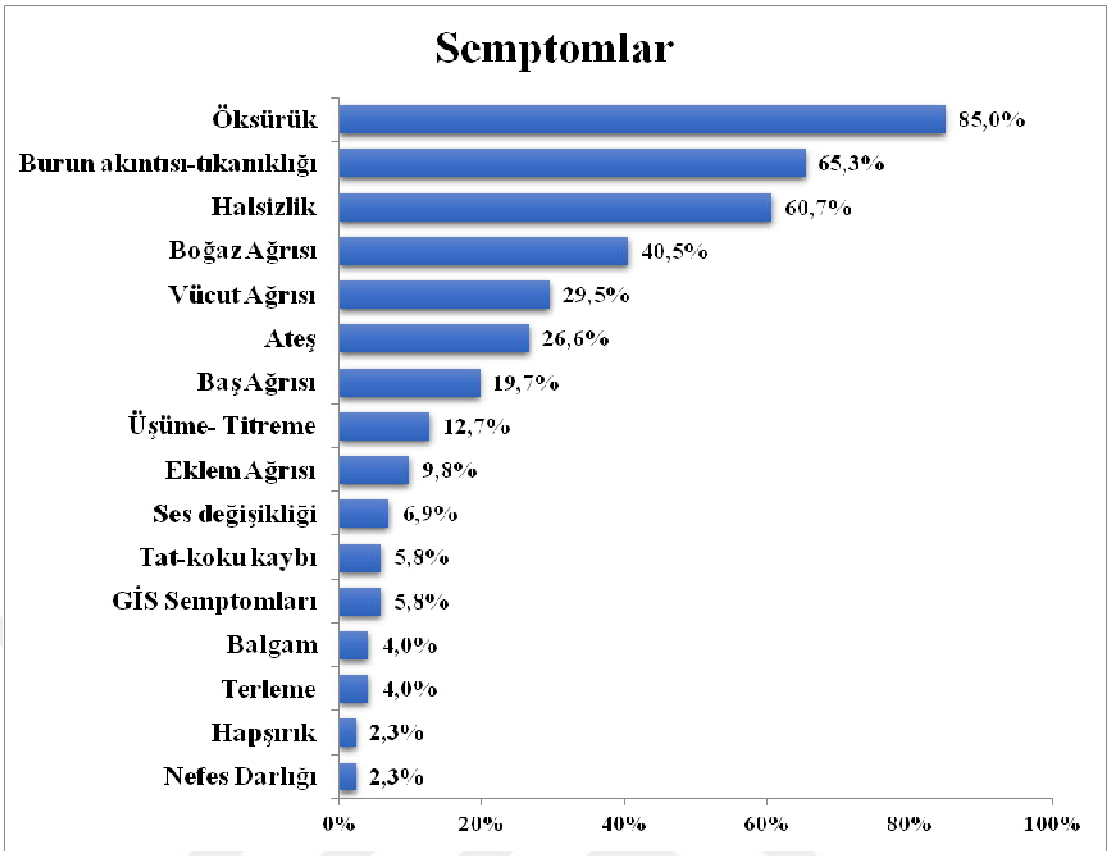
| | | |
|---|---|---|
| **Yaş** Ort.±SD (min-maks) | | 33,5±10,9 30 (18-67) |
| **Yaş Grup** n (%) | 18-19 yaş | 8 (4,6%) |
| | 20-29 yaş | 77 (44,5%) |
| | 30-39 yaş | 35 (20,2%) |
| | 40-49 yaş | 36 (20,8%) |
| | 50-59 yaş | 14 (8,1%) |
| | 60-69 yaş | 3 (1,7%) |
| **Cinsiyet** n (%) | Erkek | 77 (44,5%) |
| | Kadın | 96 (55,5%) |
| **Kronik Hastalık** n (%) | Yok | 147 (85,0%) |
| | Var | 26 (15,0%) |
| | DM | 6 (3,5%) |
| | HT | 9 (5,2%) |
| | Astım | 7 (4,0%) |
| | Hashimato | 3 (1,7%) |
| | KBY | 2 (1,2%) |
| | PCOS | 1 (0,6%) |
| | MS | 1 (0,6%) |
| **Aşılanma Durumu** n (%) | 1 Doz Biontech | 31 (17,9%) |
| | 2 Doz Biontech | 91 (52,6%) |
| | 2 Doz Sinovac | 11 (6,4%) |
| | 2 Doz Sinovac + 1 Doz Biontech | 10 (5,8%) |
| | 2 Doz Sinovac + 2 Doz Biontech | 3 (1,7%) |
| | Aşısız | 27 (15,6%) |
| **Hastaneye Yatış İhtiyacı** | | 0 (0,0%) |
| **Antibiyotik Reçete Edilme** | | 9 (5 %) |

### 4.2. Semptomların Görülme Sıklığı

Araştırmaya dahil edilen 173 hastanın 147'sinde öksürük, 113'ünde burun akıntısı-tıkanıklığı, 105'inde halsizlik, 70'inde boğaz ağrısı, 51'inde vücut ağrısı, 46'sında ateş, 34'ünde baş ağrısı, 22'sinde üşüme-titreme, 17'sinde eklem ağrısı, 12'sinde ses değişikliği, 10'unda GİS semptomları, 10'unda tat ya da koku kaybı, 7'sinde terleme, 7'sinde balgam, 4'ünde nefes darlığı, 4'ünde hapşırık gözlemlenmiştir. Semptomların görülme yüzdeleri Tablo 4.2 ve Şekil 4.1'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.2:** Hastalarda Gözlemlenen Semptomların Sayı ve Yüzdeleri

| **Semptomlar** | n=173 | n | % |
|---|---|---|---|
| Öksürük | | 147 | 85,0% |
| Burun akıntısı-tıkanıklığı | | 113 | 65,3% |
| Halsizlik | | 105 | 60,7% |
| Boğaz ağrısı | | 70 | 40,5% |
| Vücut ağrısı | | 51 | 29,5% |
| Ateş | | 46 | 26,6% |
| Baş ağrısı | | 34 | 19,7% |
| Üşüme-titreme | | 22 | 12,7% |
| Eklem ağrısı | | 17 | 9,8% |
| Ses değişikliği | | 12 | 6,9% |
| GİS semptomları | | 10 | 5,8% |
| Tat-koku kaybı | | 10 | 5,8% |
| Terleme | | 7 | 4,0% |
| Balgam | | 7 | 4,0% |
| Nefes darlığı | | 4 | 2,3% |
| Hapşırık | | 4 | 2,3% |




**Şekil 4.1:** Semptomların Dağılım Yüzdesi

Erkek cinsiyette öksürük, burun akıntısı-tıkanıklığı kadınlara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanırken (p=0,001 p=0,031), kadın cinsiyette tat-koku kaybı erkeklere göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (p=0,002). Cinsiyete göre semptomların görülme sıklığı aşağıdaki Tablo 4.3'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.3:** Cinsiyete Göre Semptomların Görülme Sıklığı

| | Cinsiyet | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Erkek | | Kadın | | |
| | n | % | n | % | p |
| Öksürük | 73 | 94,8% | 74 | 77,1% | 0,001 |
| Halsizlik | 45 | 58,4% | 60 | 62,5% | 0,587 |
| Burun akıntısı-tıkanıklığı | 57 | 74,0% | 56 | 58,3% | 0,031 |
| Boğaz Ağrısı | 31 | 40,3% | 39 | 40,6% | 0,961 |
| Ateş | 19 | 24,7% | 27 | 28,1% | 0,610 |
| Baş Ağrısı | 14 | 18,2% | 20 | 20,8% | 0,663 |
| Vücut Ağrısı | 18 | 23,4% | 33 | 34,4% | 0,115 |
| Eklem Ağrısı | 6 | 7,8% | 11 | 11,5% | 0,421 |
| Ses değişikliği | 5 | 6,5% | 7 | 7,3% | 1,000 |
| Üşüme- Titreme | 10 | 13,0% | 12 | 12,5% | 1,000 |
| GİS Semptomları | 4 | 5,2% | 6 | 6,3% | 1,000 |
| Tat-koku kaybı | 0 | 0,0% | 10 | 10,4% | 0,002 |
| Nefes Darlığı | 1 | 1,3% | 3 | 3,1% | 0,630 |
| Terleme | 2 | 2,6% | 5 | 5,2% | 0,464 |
| Hapşırık | 2 | 2,6% | 2 | 2,1% | 1,000 |
| Balgam | 5 | 6,5% | 2 | 2,1% | 0,244 |

Semptomlar hastaların yaş dekatlarına göre değerlendirildiğinde, burun akıntısı-tıkanıklığı ve terleme oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0,030 p=0,027). Burun akıntısı-tıkanıklığı 50-59 yaş aralığında düşük, terleme 50-59 yaş ve 60-69 yaş dekatlarında yüksek bulunmuştur. Dekatlara ayrılmış yaşlara göre semptomların görülme sıklığı aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

**Tablo 4.4:** Yaş Dekatlarına Göre Semptomların Dağılım Sıklığı

| | | 18-19 yaş | 20-29 yaş | 30-39 yaş | 40-49 yaş | 50-59 yaş | 60-69 yaş | p |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Öksürük | n | 5 | 65 | 32 | 30 | 13 | 2 | 0,259 |
| | % | 62,5% | 84,4% | 91,4% | 83,3% | 92,9% | 66,7% | |
| Halsizlik | n | 6 | 44 | 26 | 17 | 11 | 1 | 0,088 |
| | % | 75,0% | 57,1% | 74,3% | 47,2% | 78,6% | 33,3% | |
| Burun akıntısı-tıkanıklığı | n | 8 | 47 | 25 | 26 | 5 | 2 | 0,030 |
| | % | 100% | 61,0% | 71,4% | 72,2% | 35,7% | 66,7% | |
| Boğaz Ağrısı | n | 3 | 25 | 21 | 16 | 5 | 0 | 0,076 |
| | % | 37,5% | 32,5% | 60,0% | 44,4% | 35,7% | 0,0% | |
| Ateş | n | 1 | 18 | 11 | 10 | 5 | 1 | 0,769 |
| | % | 12,5% | 23,4% | 31,4% | 27,8% | 35,7% | 33,3% | |
| Baş Ağrısı | n | 3 | 18 | 5 | 8 | 0 | 0 | 0,179 |
| | % | 37,5% | 23,4% | 14,3% | 22,2% | 0,0% | 0,0% | |
| Vücut Ağrısı | n | 2 | 26 | 6 | 12 | 4 | 1 | 0,553 |
| | % | 25,0% | 33,8% | 17,1% | 33,3% | 28,6% | 33,3% | |
| Eklem Ağrısı | n | 1 | 6 | 2 | 6 | 2 | 0 | 0,520 |
| | % | 12,5% | 7,8% | 5,7% | 16,7% | 14,3% | 0,0% | |
| Ses değişikliği | n | 0 | 4 | 6 | 1 | 0 | 1 | 0,064 |
| | % | 0,0% | 5,2% | 17,1% | 2,8% | ,0% | 33,3% | |
| Üşüme- Titreme | n | 1 | 13 | 4 | 4 | 0 | 0 | 0,657 |
| | % | 12,5% | 16,9% | 11,4% | 11,1% | 0,0% | 0,0% | |
| GİS Semptomları | n | 1 | 5 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0,619 |
| | % | 12,5% | 6,5% | 8,6% | 2,8% | 0,0% | 0,0% | |
| Tat-koku kaybı | n | 1 | 5 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0,220 |
| | % | 12,5% | 6,5% | 2,9% | 2,8% | 7,1% | 33,3% | |
| Nefes Darlığı | n | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0,472 |
| | % | 0,0% | 1,3% | 2,9% | 2,8% | 7,1% | 0,0% | |
| Terleme | n | 0 | 4 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0,027 |
| | % | 0,0% | 5,2% | 0,0% | 0,0% | 14,3% | 33,3% | |
| Hapşırık | n | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0,896 |
| | % | 0,0% | 3,9% | 0,0% | 2,8% | 0,0% | 0,0% | |
| Balgam | n | 0 | 2 | 1 | 3 | 1 | 0 | 0,568 |
| | % | 0,0% | 2,6% | 2,9% | 8,3% | 7,1% | 0,0% | |

### 4.3. Bio-Speedy MPSP ile Etken Saptanan Hastalar

Test edilen 173 hastadan 59'unun sonucu negatif bulunurken, 114 hastada 116 etken tespit edilmiştir. Üst solunum yollarında kolonize olabilen mikroorganizmalar olmaları ve kullandığımız örnek türünün NFS olması nedeniyle *H. influenzae* tespit edilen 9 hasta ile ve *S. pneumoniae* tespit edilen 12 hastanın sonucu değerlendirme dışı bırakılmıştır . Pozitif olan 114 hastanın 66'sı kadın (57,9%), 48'i erkek (42,1%) iken; yaş aralığı 18-67, ortalama yaş 33, medyan yaş 30 olarak saptanmıştır. En sık etken tespit edilen yaş grubu 20-29, en az etken tespit edilen yaş grubu 60-69 olarak değerlendirilmiştir.

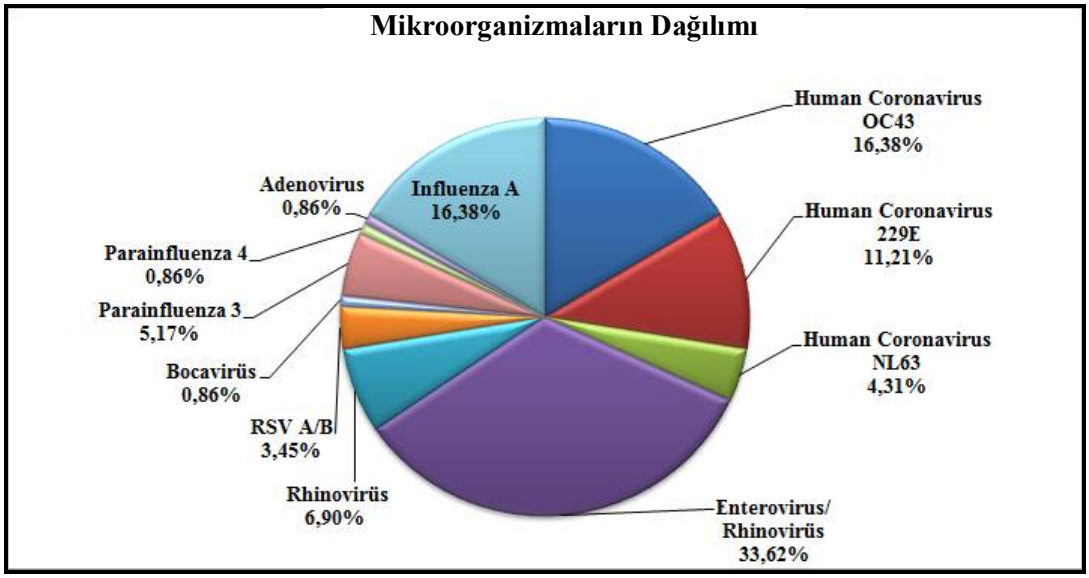
Hastaların sadece 18'inde eşlik eden kronik hastalık mevcut olup Hastane Bilgi Yönetim Sistemindeki (HBYS) hasta kayıtları incelendiğinde hiçbir vakada hastaneye yatış ihtiyacı olmadığı görülmüştür. Hastalardan 6'sına rutin SARS CoV-2 PCR testinin negatif sonuçlanması üzerine acil serviste antibiyotik reçete edilmiş olup, reçete edilen 6 antibiyotikten 5'inin amoksisilin-klavulanik asit, 1'inin moksifloksasin olduğu görülmüştür.

#### 4.3.1. Etkenlerin Dağılımı

MPSP sonucu pozitif olan 114 hastanın 112'sinde tek enfeksiyon etkeni, 2'sinde ise *Human Coronavirus OC43* ve *Human Coronavirus 229E* koinfeksiyonu saptanmış olup toplam 116 etken tespit edilmiştir. Bio-Speedy MPSP ile SARS CoV-2 de araştırılmakta olup, rutinde kullanılan SARS CoV-2 PCR sonuçları ile paralel olacak şekilde hiçbirinde SARS CoV-2 saptanmamıştır. Araştırmamızda saptanan mikroorganizmaların sayıları ve yüzdeleri Tablo 4.5 ve Şekil 4.2'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.5:** Mikroorganizmaların Dağılımı

| **Mikroorganizma** | n | % |
|---|---|---|
| *Human Coronavirus OC43* | 19 | 16,38 |
| *Human Coronavirus 229E* | 13 | 11,21 |
| *Human Coronavirus NL63* | 5 | 4,31 |
| *Enterovirus/Rhinovirus* | 39 | 33,62 |
| *Rhinovirus* | 8 | 6,90 |
| *RSV A/B* | 4 | 3,45 |
| *Bocavirus* | 1 | 0,86 |
| *Parainfluenza 3* | 6 | 5,17 |
| *Parainfluenza 4* | 1 | 0,86 |
| *Adenovirus* | 1 | 0,86 |
| *Influenza A* | 19 | 16,38 |
| TOPLAM | 116 | 100 |

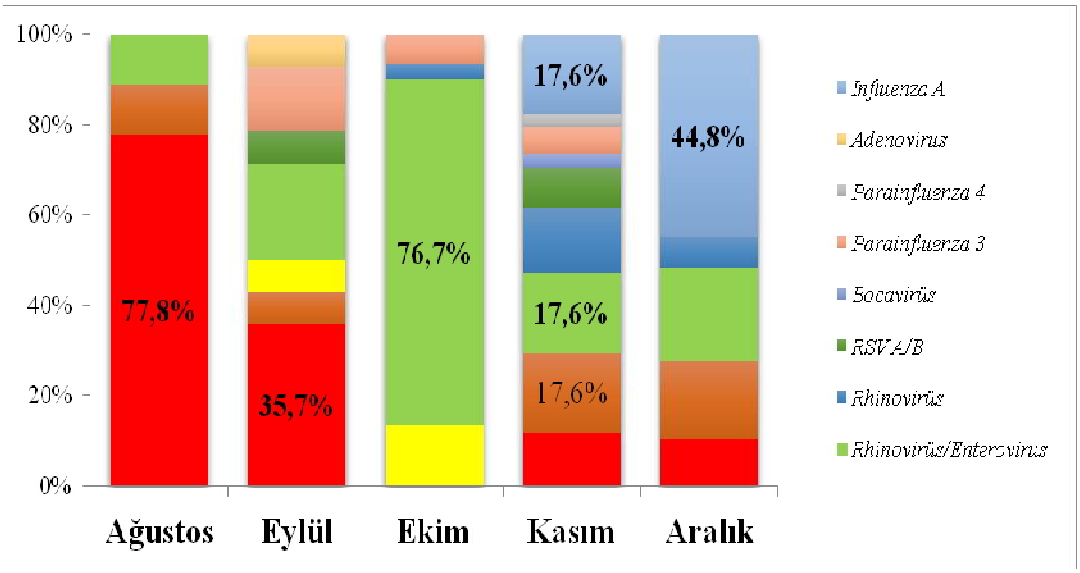



**Şekil 4.2:** Mikroorganizmaların Dağılımı

Etkenlerin 9'u ağustos, 14'ü eylül, 30'u ekim, 34'ü kasım, 29'u aralık ayında tespit edilmiştir. Ağustos ve eylül aylarında en sık *Human Coronavirus OC43* (77,8%, 35,7%), ekim ayında en sık *Rhinovirus/Enterovirus* (76,7%), aralık ayında en sık *İnfluenza A* (44,8%) tespit edilirken, kasım ayında *Human Coronavirus 229E*, *Rhinovirüs/Enterovirus*, *İnfluenza A* eşit sıklıkta (17,6%) tespit edilmiştir. Etkenlerin aylara göre sayı ve yüzde olarak dağılımı Tablo 4.6'da ve Şekil 4.3'te gösterilmiştir.

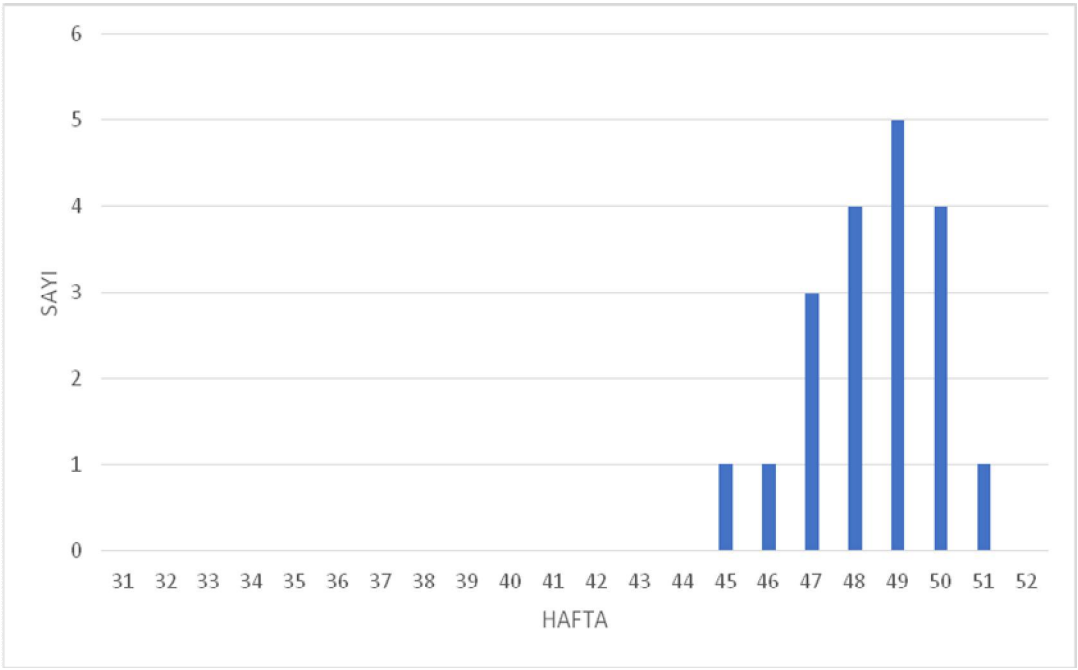
**Tablo 4.6:** Etkenlerin Aylara Göre Dağılımı

| | **Ağustos** | | **Eylül** | | **Ekim** | | **Kasım** | | **Aralık** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **MİKROORGANİZMA** | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % |
| *Human Coronavirus OC43* | 7 | 77,8 | 5 | 35,7 | 0 | 0,0 | 4 | 11,8 | 3 | 10,3 |
| *Human Coronavirus 229E* | 1 | 11,1 | 1 | 7,1 | 0 | 0,0 | 6 | 17,6 | 5 | 17,2 |
| *Human Coronavirus NL63* | 0 | 0,0 | 1 | 7,1 | 4 | 13,3 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 |
| *Rhinovirus/Enterovirus* | 1 | 11,1 | 3 | 21,4 | 23 | 76,7 | 6 | 17,6 | 6 | 20,7 |
| *Rhinovirus* | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 1 | 3,3 | 5 | 14,7 | 2 | 6,9 |
| *RSV A/B* | 0 | 0,0 | 1 | 7,1 | 0 | 0,0 | 3 | 8,8 | 0 | 0,0 |
| *Bocavirus* | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 1 | 2,9 | 0 | 0,0 |
| *Parainfluenza 3* | 0 | 0,0 | 2 | 14,3 | 2 | 6,7 | 2 | 5,9 | 0 | 0,0 |
| *Parainfluenza 4* | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 1 | 2,9 | 0 | 0,0 |
| *Adenovirus* | 0 | 0,0 | 1 | 7,1 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 |
| *Influenza A* | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 6 | 17,6 | 13 | 44,8 |
| **TOPLAM** | 9 | 100 | 14 | 100 | 30 | 100 | 34 | 100 | 29 | 100 |




**Şekil 4.3:** Etkenlerin Aylara Göre Dağılım Yüzdeleri

*İnfluenza A* ilk olarak 2021/45. haftada tespit edilmeye başlanmış olup giderek sıklığı artmış, 50. haftada en baskın virüs haline gelmiş olup Omicron varyantının pik yaptığı 51 ve 52. haftalarda sıklığında keskin bir düşüş yaşanmıştır. İFV A'nın haftalık tespit edilme sıklığı Şekil 4.4'te gösterilmiştir.




**Şekil 4.4:** İFV A'nın Haftalık Tespit Edilme Sıklığı

Etkenlerin yaş gruplarına göre dağılma sıklığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamış olup (p=0,969) saptanan etkenlerin sayı ve yüzdeleri Tablo 4.7'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.7:** Etkenlerin Yaş Dekatlarına Göre Dağılımı

| | | ***Rhinovirus/ Enterovirus*** | | ***İnfluenza A*** | | **İnsan Koronavirüsleri** | | **Diğer** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | n | % | n | % | n | % | n | % |
| **Yaş** | 18-19 yaş | 3 | 50,0% | 1 | 16,7% | 2 | 33,3% | 0 | 0,0% |
| | 20-29 yaş | 20 | 45,5% | 8 | 18,2% | 11 | 25,0% | 5 | 11,4% |
| | 30-39 yaş | 10 | 37,0% | 5 | 18,5% | 9 | 33,3% | 3 | 11,1% |
| | 40-49 yaş | 10 | 35,7% | 4 | 14,3% | 11 | 39,3% | 3 | 10,7% |
| | 50-59 yaş | 4 | 50,0% | 1 | 12,5% | 1 | 12,5% | 2 | 25,0% |
| | 60-69 yaş | 0 | 0,0% | 0 | 0,0% | 1 | 100,0% | 0 | 0,0% |

p=0,969

### 4.3.2. Semptomların Görülme Sıklığı

Solunum yolu panelinde etken saptanan 114 hastanın 97'sinde öksürük, 76'sında burun akıntısı-tıkanıklığı, 76'sinde halsizlik, 50'sinde boğaz ağrısı, 27'sinde ateş, 31'sinde vücut ağrısı, 22'sinde baş ağrısı, 17'sinde üşüme-titreme, 10'unda eklem ağrısı, 9'unda ses değişikliği, 6'sında tat ya da koku kaybı, 5'inde GİS semptomları, 4'ünde nefes darlığı, 4'ünde terleme, 4'ünde hapşırık, 3'ünde balgam semptomu gözlemlenmiştir.

Etkenlere göre semptomlar değerlendirildiğinde eklem ağrısı ve hapşırık görülme sıklığında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür (p=0,017, p=0,045). *İnfluenza A* ile enfekte hastalarda eklem ağrısı, insan koronavirüsleri ile enfekte hastalarda ise hapşırık görülme oranı diğer etkenlere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. Etkenlere göre semptom sıklıkları ve yüzdeleri Tablo 4.8'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.8:** Etkenlere Göre Septomların Sıklığı

| | ***Rhinovirüs/ Enterovirüs*** | | ***İnfluenza A*** | | **İnsan Koronavirüsleri** | | **DİĞER** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | n | % | n | % | n | % | n | % | p |
| Öksürük | 41 | 87,2% | 16 | 84,2% | 27 | 77,1% | 13 | 100% | 0,259 |
| Halsizlik | 31 | 66,0% | 12 | 63,2% | 26 | 74,3% | 7 | 53,8% | 0,574 |
| Burun akıntısı/tıkanıklığı | 36 | 76,6% | 13 | 68,4% | 21 | 60,0% | 6 | 46,2% | 0,153 |
| Boğaz ağrısı | 21 | 44,7% | 7 | 36,8% | 15 | 42,9% | 7 | 53,8% | 0,817 |
| Ateş | 11 | 23,4% | 4 | 21,1% | 7 | 20,0% | 5 | 38,5% | 0,595 |
| Baş ağrısı | 6 | 12,8% | 5 | 26,3% | 9 | 25,7% | 2 | 15,4% | 0,384 |
| Vücut ağrısı | 10 | 21,3% | 8 | 42,1% | 11 | 31,4% | 2 | 15,4% | 0,241 |
| Eklem Ağrısı | 1 | 2,1% | 5 | 26,3% | 3 | 8,6% | 1 | 7,7% | 0,017 |
| Ses değişikliği | 2 | 4,3% | 0 | 0,0% | 6 | 17,1% | 1 | 7,7% | 0,085 |
| Üşüme-titreme | 8 | 17,0% | 4 | 21,1% | 3 | 8,6% | 2 | 15,4% | 0,583 |
| GİS semptomları | 1 | 2,1% | 1 | 5,3% | 3 | 8,6% | 0 | 0,0% | 0,424 |
| Tat-koku kaybı | 4 | 8,5% | 0 | 0,0% | 1 | 2,9% | 1 | 7,7% | 0,458 |
| Nefes darlığı | 2 | 4,3% | 1 | 5,3% | 0 | 0,0% | 1 | 7,7% | 0,309 |
| Terleme | 3 | 6,4% | 0 | 0,0% | 0 | 0,0% | 1 | 7,7% | 0,272 |
| Hapşırık | 0 | 0,0% | 0 | 0,0% | 4 | 11,4% | 0 | 0,0% | 0,045 |
| Balgam | 1 | 2,1% | 1 | 5,3% | 0 | 0,0% | 1 | 7,7% | 0,287 |

## 4.4. MPSP ile Sonucu Negatif ve Pozitif Olan Hastaların Semptomlarının Karşılaştırılması

İnsan koronavirüsleri ile enfekte hastalarda halsizlik ve hapşırık görülme sıklığı negatif hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. (p=0,017 p=0,017) Etken saptanmayan ve saptanan hastaların semptomları Tablo 4.9'da detaylı olarak gösterilmiştir.

**Tablo 4.9:** Etken Saptanmayan Hastalar ile Etken Saptanan Hastaların Semptomlarının Kıyaslanması

| | **Negatif vs. İnsan Koronavirüsleri** | **Negatif vs. *İnfluenza A*** | **Negatif vs. *Rhinovirus/Enterovirus*** | **Negatif vs. Diğer** |
|---|---|---|---|---|
| | p | p | p | p |
| Öksürük | 0,355 | 1,000 | 0,715 | 0,197 |
| Halsizlik | 0,017 | 0,288 | 0,083 | 0,759 |
| Burun akıntısı tıkanıklığı | 0,794 | 0,652 | 0,125 | 0,271 |
| Boğaz Ağrısı | 0,385 | 0,815 | 0,257 | 0,214 |
| Ateş | 0,201 | 0,354 | 0,318 | 0,749 |
| Baş Ağrısı | 0,545 | 0,750 | 0,302 | 1,000 |
| Vücut Ağrısı | 0,806 | 0,517 | 0,152 | 0,319 |
| Eklem Ağrısı | 0,617 | 0,152 | 0,074 | 1,000 |
| Ses değişikliği | 0,074 | 1,000 | 1,000 | 0,558 |
| Üşüme Titreme | 1,000 | 0,210 | 0,183 | 0,602 |
| GİS Semptom | 1,000 | 1,000 | 0,224 | 0,577 |
| Tat koku kaybı | 0,648 | 0,567 | 1,000 | 1,000 |
| Nefes Darlığı | - | 0,244 | 0,194 | 0181 |
| Terleme | 0,291 | 1,000 | 1,000 | 0,558 |
| Hapşırık | 0,017 | - | - | - |
| Balgam | 0,293 | 1,000 | 0,379 | 1,000 |

## 4.5. SARS-CoV2 ve En Sık Tespit Edilen Üç Etkende Semptomların Görülme Sıklığı

Çalışma popülasyonu oluşturulurken semptom ve sonuçları gözlemlenen SARS-CoV-2 pozitif 24 hasta ile en sık saptanan 3 etken ile enfekte 98 hastanın semptomları kıyaslanmıştır. Gruplarda eklem ağrısı, ses değişikliği, tat-koku kaybı, hapşırık görülme sıklığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0,022 p=0,033 p=0,001 p=0,041). Eklem Ağrısı *İnfluenza A*'da, ses değişikliği ve hapşırık insan koronavirüslerinde, tat-koku kaybı ise SARS-CoV-2'de daha sıklıkla gözlenmiştir. SARS CoV-2 ve diğer etkenler ile enfekte hastaların semptomlarının sıklığı Tablo 4.10'da gösterilmiştir.

**Tablo 4.10:** SARS CoV-2 ve Diğer Etkenlerde Gözlemlenen Semptomlarının Kıyaslanması

| | | *SARS CoV-2* (n=24) | *Rhinovirus/ Enterovirus* (n=47) | *İnfluenza A* (n=19) | İnsan koronavirüsleri (n=35) | p |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Öksürük** | n | 18 | 41 | 16 | 27 | 0,510 |
| | % | 75,0% | 87,2% | 84,2% | 77,1% | |
| **Halsizlik** | n | 10 | 31 | 12 | 26 | 0,079 |
| | % | 41,7% | 66,0% | 63,2% | 74,3% | |
| **Burun akıntısı-tıkanıklığı** | n | 16 | 36 | 13 | 21 | 0,450 |
| | % | 66,7% | 76,6% | 68,4% | 60,0% | |
| **Boğaz Ağrısı** | n | 7 | 21 | 7 | 15 | 0,615 |
| | % | 29,2% | 44,7% | 36,8% | 42,9% | |
| **Ateş** | n | 1 | 7 | 4 | 5 | 0,419 |
| | % | 4,2% | 14,9% | 21,1% | 14,3% | |
| **Baş Ağrısı** | n | 5 | 7 | 5 | 10 | 0,473 |
| | % | 20,8% | 14,9% | 26,3% | 28,6% | |
| **Vücut Ağrısı** | n | 10 | 10 | 8 | 11 | 0,218 |
| | % | 41,7% | 21,3% | 42,1% | 31,4% | |
| **Eklem Ağrısı** | n | 2 | 1 | 5 | 3 | 0,022 |
| | % | 8,3% | 2,1% | 26,3% | 8,6% | |
| **Ses değişikliği** | n | 0 | 2 | 0 | 6 | 0,033 |
| | % | 0,0% | 4,3% | 0,0% | 17,1% | |
| **Üşüme- Titreme** | n | 5 | 10 | 4 | 4 | 0,647 |
| | % | 20,8% | 21,3% | 21,1% | 11,4% | |
| **GİS Semptomları** | n | 0 | 1 | 1 | 3 | 0,314 |
| | % | 0,0% | 2,1% | 5,3% | 8,6% | |
| **Tat-koku kaybı** | n | 8 | 4 | 0 | 1 | 0,001 |
| | % | 33,3% | 8,5% | 0,0% | 2,9% | |
| **Nefes Darlığı** | n | 0 | 2 | 1 | 0 | 0,424 |
| | % | ,0% | 4,3% | 5,3% | ,0% | |
| **Terleme** | n | 1 | 3 | 0 | 0 | 0,406 |
| | % | 4,2% | 6,4% | 0,0% | ,0% | |
| **Hapşırık** | n | 2 | 0 | 0 | 4 | 0,041 |
| | % | 8,3% | 0,0% | 0,0% | 11,4% | |
| **Balgam** | n | 1 | 1 | 1 | 0 | 0,488 |
| | % | 4,2% | 2,1% | 5,3% | 0,0% | |

### 4.6. QCMD Sonuçları

Araştırmada hasta örneklerinin yanı sıra 10 adet QCMD solunum yolu örneği aynı kit ve cihaz ile çalışılmıştır. Kalite kontrol örneklerinden 8'inde geçerli sonuç elde edilirken, *Adenovirüs* Tip 4 sonucuna sahip örnekte Parainfluenza 1 (Ct: 35,2) için sinyal alınmıştır. *Adenovirüs* Tip 1 sonucuna sahip diğer örnekte ise *Adenovirüs* (Cq:38.65) ve *Human Coronavirüs* OC43 (Cq: 36.86) için sinyal alındı ancak sigmoidal olmayan eğriler nedeniyle örnek negatif kabul edilmiştir. Test edilen QCMD örneklerinin Bio-Speedy paneli ile karşılaştırmalı sonuçları Tablo 4.11'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.11:** QCMD Karşılaştırmalı Sonuçlar

| Numune | Bio-Speedy | QCMD Sonuçları |
|---|---|---|
| resp 2-1 | *Rhino/Enterovirus* | *Enterovirus D68* |
| resp 2-2 | *Parainfluenza 1* | *Adenovirus Tip 4* |
| resp 2-3 | *Parainfluenza 1* | *Parainluenza 1* |
| resp 2-4 | Negatif | *Adenovirus Tip 1* |
| resp 2-5 | Negatif | Negatif |
| resp 2-2-1 | *S.pneumoniae* | *S.pneumoniae* |
| resp 2-2-2 | *H.influenzae* | *H.influenzae* |
| resp 2-2-3 | Negatif | Negatif |
| resp 2-2-4 | *Legionella pneumophila* | *Legionella pneumophila sg1(ST47)* |
| resp 2-2-5 | *H.influenzae* | *H.influenzae* |

## 5. TARTIŞMA

Aralık 2019'da ilk olarak Çin'in Hubei Eyaleti'ne bağlı Wuhan şehrinde etiyolojisi bilinmeyen pnömoni vakaları rapor edilmiştir. Ocak 2020'de etkenin yeni bir koronavirüs (SARS-COV-2) olduğu tespit edilmiş, DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) enfeksiyonu Covid-19 (Coronavirus Disease 2019) olarak adlandırmıştır. Dünya genelinde 100'den fazla ülkede Covid-19 vakalarının görülmesi sonrası Mart 2020'de DSÖ pandemi ilan etmiştir (88,89). Covid-19 solunum sistemi dışında kardiyovasküler sistem, sinir sistemi başta olmak üzere tüm sistemleri etkileyen bir hastalıktır. Pandeminin başlangıcında enfeksiyonun kliniği ateş, nefes darlığı, bulantı, kusma, ishal, kas ağrısı, baş ağrısı, tat ve koku kaybının yanı sıra pnömoni, ARDS (Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu) gibi ağır semptom ve bulgular ile seyretmekte iken, zamanla gelişen mutasyonlara bağlı oluşan varyantlar ve aşılanma oranlarının artması ile birlikte öksürük, burun akıntısı/tıkanıklığı, hapşırık, boğaz ağrısı gibi diğer viral solunum yolu etkenlerinden ayırt edici olmayan daha hafif klinik bulgu ve semptomlar görülmeye başlanmıştır (90).

Bu çalışmada viral solunum yolu patojenlerinin pandeminin ikinci yılındaki epidemiyolojisini gözlemlenmesi amaçlanmıştır. Araştırmamız Delta varyantı kaynaklı Covid-19 vakalarının azalma trendine girdiği dönem ile Omicron varyantına bağlı vakaların artışa geçtiği dönem arasında (Ağustos 2021-Aralık 2021) gerçekleştirilmiştir. Hastanemize ayaktan solunum yolu semptomları ile başvurmuş ve SARS CoV2 RT-PCR testi negatif olan 173 hasta örneğinde MPSP kullanılarak prospektif olarak solunum yolu enfeksiyon patojenlerinin varlığı araştırılmıştır.

Araştırmaya dahil edilen 173 hastanın 114'ünde solunum yolu paneli ile etken saptanmış olup, bu hastaların 112'sinde tek enfeksiyon etkeni, 2'sinde ise *Human Coronavirus OC43* ve *Human Coronavirus 229E* koinfeksiyonu olmak üzere toplam 116 etken tespit edilmiştir. En sık saptanan viral patojenler sırasıyla, *Rhinovirus/Enterovirus*, insan koronavirüsleri ve *İnfluenza A* olarak belirlenmiştir. Ağustos ve eylül aylarında *Human Coronavirus OC43* sık saptanırken, ekim ayında *Rhinovirus/Enterovirus* piki oluştuğu, kasım ayından itibaren dolaşıma tekrar katılan *İnfluenza A*'nın ise aralık ayında en baskın mevsimsel viral etken haline geldiği saptanmıştır. Hastalarda en sık görülen semptomlar öksürük, burun akıntısı/tıkanıklığı ve halsizlik olarak dikkat çekmiştir. Cinsiyete göre

değerlendirildiğinde, erkeklerde öksürük ve burun akıntısı/tıkanıklığı, kadın cinsiyette tat/koku kaybı istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Etkenlerin yaş dekatlarına göre dağılım sıklığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Semptomlar etkenlere göre değerlendirildiğinde, eklem ağrısı *İnfluenza A* ile enfekte hastalarda, hapşırık ise insan koronavirüsleri ile enfekte hastalarda diğer etkenlere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede sık olarak gözlemlenmiştir. Solunum yolu viral etkeni saptanamayan hastaların semptomlarıyla kıyasladığımızda insan koronavirüsleriyle enfekte bireylerde halsizlik ve hapşırık görülme oranı istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur.

Dünyada yirminci yüzyılın başından günümüze kadar solunum yolu virüsleri kaynaklı 5 pandemi görülmüştür. Bunlardan ilk dördü *İnfluenza A* virüslerinden, günümüzde devam etmekte olan COVID-19 pandemisi ise bir koronavirüs suşundan kaynaklanmıştır(91). Solunum yolu virüslerinin mevsimi ağustos-eylül aylarında RV enfeksiyonlarındaki artışla başlayıp, nisan-mayıs aylarındaki bahar pikinden sonra sona erdiği; PIV'ün mevsimsel insidansının genellikle sonbaharın sonlarında ve ilkbaharın sonlarında pik yaptığı; RSV ve İFV'ün aralık ile nisan arasında en yüksek seviyede seyrettiği bilinmektedir(92)

Pandemi öncesi dönemde solunum yolu virüslerinin mevsimsel dağılımı ile ilgili yapılmış çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Tai ve ark. tarafından Kasım 2016-Ekim 2018 tarihleri arasında Tayvan'da yapılan bir çalışmada NFS, ETA ve BAL örneklerinde MPSP ile prospektif olarak solunum yolu virüsleri araştırılmıştır. YBÜ, yataklı servisler ve acil servisten toplam 2019 hastadan 2292 örnek toplanmış, genel pozitiflik oranı solunum yolu virüsleri için %22 bulunmuştur. RV/EV'ün en sık saptanan virüs olup belirgin bir mevsimsel değişiklik göstermediği, CoV'ün kış, hMPV ve PIV'ün ilkbahar, RSV'nin sonbahar mevsiminde dolaşımda bulunduğu bildirilmiştir(93). Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı, Ulusal Viroloji Referans Merkez Laboratuvar'ı 2009-2012 yılları arasında solunum yolu virüslerinin mevsimsel dağılımını irdelemiştir. Retrospektif yapılan bu araştırmanın verilerine göre; RV'ün tüm yıl boyunca görülebildiği; RSV'nin kasım ayının sonunda başlayıp, kış ayları ve yaz başına kadar dolaşımda kalabildiği; hMPV'nin RSV ile benzer dolaşım gösterdiği; AdV'ün geç sonbahar, kış ve ilkbahar ayları arasında görüldüğü; PIV-3'ün tüm yıl boyunca görülebildiği, PIV-1 ve PIV-2'nin ender olarak tespit edilen virüsler

arasında olup genellikle kış aylarında görülebildikleri, PIV-4'ün ise sonbahar, kış ve ilkbahar aylarında dolaşımda kalabildiği; HCoV OC43, HKU1 ve NL63'ün kasım-temmuz ayları arasında görülebildiği; HCoV 229E ve HBoV'un tüm yıl boyunca dolaşımda kalabildiği; EV'ün sonbahar, kış, ilkbahar aylarında görülebildiği; İFV-A ve B'nin sonbahar, kış ve ilkbaharın son aylarına kadar dolaşımda kaldığı bildirilmiştir(54). Kanada'da Lagacé-Wiens ve ark. tarafından Ağustos 2010-Nisan 2020 ulusal sürveyans verilerinin değerlendirildiği bir araştırmada ise, İFV A mevsiminin kasım başında başlayıp aralık sonunda pik yaptığı, İFV B'nin kasım sonunda başlayıp nisan ayında pik yaptığı, endemik insan koronavirüsleri ve RSV'nin ekim sonu başlayıp ocak sonunda zirve yaptığı, koronavirüslerin pik yaptığı dönemlerde ise RV/EV ve PIV'lerin en düşük seviyede dolaşımda oldukları bildirilmiştir(94).

Pandeminin ilk yılında, özellikle 1. ve 2. pik dönemlerinde, Türkiye'nin de içinde bulunduğu Kuzey Yarım Küre'den farklı ülkelerde yapılmış çalışmalara göre mevsimsel viral patojenlerin görülme sıklığında azalma tespit edilmiştir. Almanya'da Bavarian İnfluenza Sentinel tarafından gerçekleştirilen, 2020-2021 İFV sezonunda SARS-CoV2 ile İFV birlikteliğinin incelendiği araştırmada, 470 NFS örneğinin 3'ünde (%0,6) İnfluenza (2'si İFV A, 1'i İFV B), 454 NFS örneğinin 30'unda (%6,6) SARS CoV-2'nin pozitif olduğunu bildirilmiştir. Covid-19 pandemisi öncesi 2019-2020 influenza sezonunda aynı merkeze araştırılmak üzere gönderilen örnek sayısı 1376 iken İFV saptanan örnek sayısının 517 (%37,6) olduğu, 2020/2021 sezonunda Covid-19 pandemisi esnasında ise İFV'ün neredeyse dolaşımdan silindiği bildirilmiştir(95). ABD'de Covid-19 pandemisinin ilk yılında Olsen ve ark. tarafından İFV aktivitesinin değerlendirildiği çalışmada, 29 Eylül 2019-29 Şubat 2020 döneminde haftalık ortalama 49.696 örnek incelenirken, 1 Mart-16 Mayıs 2020'de örnek sayısının 19.537'ye düştüğü (%61'lik azalma), İFV pozitif örnek oranının ise %19,34'ten %0,33'e düştüğü (%98'lik azalma) gözlemlenmiştir(96). İtalya Brescia'da De Francesco ve ark. tarafından gerçekleştirilen, Ocak 2017-Mayıs 2021 tarihleri arasında pandemi öncesi ile pandemi döneminin kıyaslandığı, farklı solunum yolu virüslerinin prevalansının ve mevsimsel dolaşım paterninin incelenmesinin amaçlandığı retrospektif bir çalışmada, 12.483 erişkin hastadan alınan NFS ve BAL örnekleri incelenmiştir. Analiz edilen örnek sayısının Ocak 2017-Şubat 2020 tarihleri arasında 10.121, Mart 2020-Mayıs

2021 tarihleri arasında 2.362 olduğu, önceki yıllarda pozitiflik oranı %14,6 iken, pandemi döneminde %2,7'ye düştüğü bildirilmiştir. Aynı zamanda pandemi öncesi dönemle kıyaslandığında İFV A (%7,6-%0,18), İFV B (%3-%0,06), hMPV (%1,1-%0,27), PIV (%4-%0,14), RSV (%7,3-%1,4), HCoV (%5-%0,14) sıklığının anlamlı derecede azaldığı, normal mevsimsel dolaşım aylarında neredeyse hiç görülmedikleri, AdV için anlamlı bir fark olmadığı (%1,4-%0,6), RV sıklığının ise diğer solunum yolu virüslerinin aksine artış gösterdiği (%3,8-%5,6) saptanmıştır(97).

Yine İtalya Parma'da Calderaro ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada Aralık 2019-Mart 2020 tarihleri arasında, SARS CoV-2 ve diğer solunum yolu virüslerinin prevalansını belirlemek amacıyla 332'si yetişkin, 574'ü çocuk toplam 906 hastadan alınan TS, NS, NFA, balgam, BAL ve BAS örneklerinin prospektif analizi yapılmış, 474 örnekte 583 etken tespit edilmiştir. Çocuklarda en sık tespit edilen etkenlerin RSV ve RV, erişkinde en sık tespit edilen etkenlerin SARS CoV-2 ve RV olduğu, bunu İFV A ile HCoV'lerin takip ettiği ve SARS CoV-2'nin ortaya çıkmasıyla beraber diğer tüm solunum yolu virüslerinin sıklığında azalma görüldüğü bildirilmiştir(98). Çin'in Hangzhou kentinde Wu ve ark. tarafından yapılan, pandeminin AdV, RSV ve İFV virüslerinin sıklığına olan etkisinin incelendiği bir çalışmada ise Ekim 2017-Şubat 2021 tarihleri arasında ayaktan ve yatan hastalardan alınan 121.529 OS veya NS örneğine ait hızlı antijen test sonuçları retrospektif analiz edilmiş, 13.200'ü İFV A, 8.402'si İFV B, 6.056'sı AdV, 4.739'u RSV olmak üzere 32.397 etken tespit edilmiştir. İFV A 2018 ve 2019'da şubat, 2020'de aralık ayında pik yaparken, Aralık 2020'den Şubat 2021'e kadar pozitiflik oranının önemli ölçüde azaldığı ve anlamlı bir pik görülmediği gözlemlenmiştir. İFV B için Aralık 2017, Ocak 2018, Nisan 2019 ve Ocak 2020'de pik görülmüş, Aralık 2020'den Şubat 2021'e kadar herhangi pik görülmediği bildirilmiştir. AdV pozitifliğinin Ocak 2020'den sonra önceki yıllara göre azaldığı, RSV'nin ise her yıl olduğu gibi aralık ve ocak aylarında pik yaptığı, pandemi öncesi dönem ile aynı oranda pozitiflik oranına sahip olduğu bildirilmiştir(99).

Türkiye'de ilk Covid-19 vakası 11 Mart 2020'de rapor edilmiştir. Ağca ve ark. tarafından ülkemizde yapılan çalışmada, Mart 2020 ile Şubat 2021 tarihleri arasında 319 hastanın NFS örneği retrospektif olarak analiz edilmiş, pozitiflik olanlarının diğer çalışmalarla benzer şekilde bir önceki İFV sezonuna göre %17,3'ten %2,3'e düştüğü gözlemlenmiştir. Aynı çalışmada Mart 2020'den sonra sadece 1 tane İFV A

tespit edildiği, SARS CoV-2 dışında hiç HCoV tespit edilmediği, RSV, PIV, AdV ve HBoV'nin nadir görüldüğü, ancak hMPV ve RV/EV aktivitesinin SARS CoV-2'den etkilenmediği bildirilmiştir(100).

SARS CoV-2 dışındaki solunum yolu virüslerinin dolaşım paterninin değişmesinin, hatta bazılarının dolaşımdan silinmesinin birçok sebebinin olabileceği bildirilmektedir. Özellikle pandeminin başından itibaren sıkı bir şekilde uygulanan sosyal mesafe; el hijyeni ve maske kullanımı; şehirler arası ve ülkeler arası seyahat kısıtlamaları; yüz yüze eğitime ara verilmesi; kafe, restaurant gibi iş yerlerinin kapatılması; sinema, tiyatro, konser gibi toplu etkinliklere ara verilmesi; vaka ve temaslı takibi; karantina gibi SARS CoV-2'nin yayılmasını sınırlamak için uygulanan önlemler esas olarak temas ve damlacık yollarıyla bulaşan, solunum yolu virüslerinin yayılmasını kontrol altına almış olabilir(97,100) EV ve RV sıklığının azalmaması, aksine bazı dönemlerde artış göstermesi de bu virüslerin zarfsız olması ve uygulanan önlemlere dirençli olması ile açıklanabileceği yapılan çalışmalarda bildirilmektedir(97). Ayrıca Covid-19 pandemisinde solunum yolu semptomları olan hastalardan rutin olarak yalnızca SARS CoV-2 PCR testi istenmesi de diğer etkenlerin gözden kaçmasına neden olmuş olabilir. Bunun dışında SARS CoV-2 enfeksiyonu ve gelişen viral interferans nedeniyle diğer solunum yolu virüslerinin hücre içine girişi ve enfeksiyon oluşturmasının güçleşebileceği de öne sürülmüştür(101).

Pandeminin ikinci yılına gelindiğinde bir önceki yıla göre sayıca az da olsa, her iki yarım küreden solunum yolu virüslerinin prevelansını araştıran çalışmalar bildirilmiştir. ABD'de Burstein ve ark. tarafından 11 Kasım 2018-20 Ağustos 2021 tarihleri arasında solunum yolu etkenlerinin prevelansının değerlendirildiği çalışmada 115.087 örnek toplanmış, 32.894'ünde en az 1 patojen saptanırken, en sıklıkla RV (%33,5), *S.pneumoniae* (%29,0), SARS CoV-2 (%13,8), IFV A (%9,6), IFV B (%7,8) tespit edilmiştir. Araştırmaya dahil edilmiş örneklerin çoğunun 2018-19 ve 2019-20 kış sezonlarına ait olduğu ve Mart 2020'den itibaren büyük ölçüde farmasötik olmayan müdahalelere bağlı olarak RV, *S.pneumoniae*, AdV ve SARS CoV-2 hariç diğer etkenlerin neredeyse hiç dolaşımda olmadığı ancak Şubat 2021'den sonra ise yeniden dolaşıma katıldıkları bildirilmektedir(102). ABD, Kaliforniya'da Cooksey ve ark.'ın, 10 Mayıs 2020–12 Haziran 2021 tarihleri arasında

8662 hasta örneği ile yaptıkları bir çalışmada, RV/EV pozitiflik oranlarının Kaliforniya için en yüksek olduğu ayların mayıs-ağustos arası olduğu ancak 2020 yılında bu dönemde RV/EV oranının çok düşük kaldığı, eylül ayından itibaren tekrar artışa geçerek Haziran 2021'e kadar pandemiden önceki pozitiflik oranlarına yaklaştığı bildirilmektedir. İnsan koronavirüsleri aktivitesi ise kış aylarında zirve yapıp ve geç ilkbahar-yaz döneminde minimum seviyelere inerken, Mayıs 2020–Şubat 2021 döneminde yalnızca 11 örnekte tespit edilmiş, Mart–Haziran 2021 döneminde 100'ün üzerine çıktığı bildirilmiştir. Mayıs 2020-Haziran 2021 tarihleri arasında 10'dan az sayıda AdV, hMPV, PIV ve RSV tespit edilirken, hiç IFV saptanmadığı bildirilmektedir(103). Bu çalışmalar bizim araştırmamızdan önceki sürece denk gelmekle birlikte pandemi için alınan tedbirlerin hafifletilmesinden sonra çalışmamızda da uyumlu olarak diğer solunum yolu virüslerinin tekrar dolaşıma girdiği tespit edilmiştir. Yine çalışmamızda uyumlu olarak RV/EV en sık tespit edilen virüs olup ekim ayında pik yaptığı gözlemlenmiştir. Aynı zamanda benzer şekilde HCoV'lere yaz aylarında sık rastlanmış, PIV, RSV ve AdV gibi virüslerin saptanan hasta sayısı düşük kalmışken benzer virüslerin dolaşımda olması dikkat çekmektedir.

Kanada'da Bancej ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, 2020 yılının ortasından itibaren İFV tespit edilmezken, ilk kez 2021 yılının 35. haftasında tespit edildiği, 49. haftaya kadar yavaş yavaş artan oranda sporadik influenza vakalarına rastlandığı fakat salgın oluşturmadan, omicron varyantının dolaşıma katılmasıyla birlikte artan halk sağlığı tedbirleri sonrası keskin bir düşüş yaşandığını bildirilmiştir. Bancej ve ark. 2021-2022 Kuzey Yarım Küre influenza mevsimi ve sonrası için pandemik potansiyele sahip mevsimsel olmayan influenza virüslerinin ortaya çıkması ve mevsimsel influenzanın yeniden ortaya çıkması konusunda ülkelerin tetikte olmasının esas olduğunu belirtmişlerdir(104) 2021 yılının 31. haftasında başlayan araştırmamızda benzer şekilde ilk İFV A vakasına 45. haftada rastlanmıştır. 50. haftaya kadar IFV sayıları artmış ve aralık ayında en baskın mevsimsel virüs haline geldiği gözlemlenmiştir. Yine bu çalışmayla uyumlu olarak Omicron varyantının pik yapmasıyla 51 ve 52. haftalarda İFV A nadir olarak saptanmıştır.

Güney Yarım Küre ülkesi olan Brezilya'da Nott ve ark. tarafından yapılan çalışmada, SARS-CoV-2 Delta ve Omicron varyantı piklerinin arasında kalan Ekim-Kasım 2021 tarihlerinde sezon dışı H3N2 tip İFV A epidemisinin meydana geldiği; İFV aşılama

oranlarının düşük kaldığı ve aşının dolaşımdaki virüsü kapsamadığı, bu dönemdeki sıcaklıkların son beş yılın ortalamasından belirgin şekilde daha düşük olduğu, aynı zamanda Covid-19 pandemisi için alınan tedbirlerin hafifletildiği ve havaların soğuk olması nedeniyle insanların kapalı ortamlarda kümelenerek bulaşı hızlandırmış olabileceği bildirilmiştir (105) Araştırmada ayrıca, COVID-19 pandemisinin remisyon dönemlerinde diğer solunum yolu virüslerinin sezon dışı salgınlarına karşı hazırlıklı olunması gerektiği ve pandemi çağında hastalık dinamiklerinin değişkenlik gösterdiğinin altı çizilmiştir. THSGM sentinel sürveyans verileri *İnfluenza* sezonlarını irdeleyecek şekilde oluşturulmakta olup yaz aylarını kapsamamaktadır. Aynı zamanda HCoV OC43 ile ilgili yayın bulunmamakta olup ülkemizdeki sürveyans verilerine ulaşılamamıştır. ABD verilerine göre Monto tarafından yazılan bir derlemede, insan koronavirüslerinin sıklıkla kış ve ilkbaharda enfeksiyon etkeni olduğu, fakat HCoV-OC43 ve HCoV 229E'nin 2-3 yılda bir sezon dışı lokalize salgınlar meydana getirebileceği bildirilmiştir. Araştırmamızda, normalde dolaşımda olduğu kış aylarından farklı olarak, ağustos ve eylül aylarında sık rastlanan HCoV OC43'ün de sezon dışı salgın oluşturmuş olması muhtemeldir(106).

Aynı zamanda Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (ECDC) ve ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC)'ne ait Aralık 2021 tarihli gözetim raporları, Kuzey Yarımküre'nin çeşitli bölgelerinde İFV mevsimsel salgın faaliyetinin başladığını ve yoğunlaştığını göstermiştir(107,108). THSGM Bulaşıcı Hastalıklar Daire Başkanlığının verilerine göre, sentinel sürveyans kapsamında ülkemizde 2020/40.hafta ile 2021/39.hafta arasında çalışılan 1045 örnekte yalnızca 1 tane İFV B tespit edildiği bildirilmiş olup, bu tarihten itibaren ilk defa 2021/46. haftada İVF A pozitifliği tespit edilmiş, aralık ayında İFV sıklığının arttığı gözlemlenmiştir(109,110). Çalışmamızda da benzer şekilde 2021/45. haftadan itibaren İFV A tespit edilmiş olup 2021/50. haftaya kadar sıklığı artarak devam etmiştir. Yine THSGM verilerine göre 2021/40.hafta ile 2021/52.hafta arasında çalışılan 620 örnekten; 94'ünün İFV A; 166'sının diğer solunum yolu virüsleri (DSYV); 7'sinin ise İFV A ve DSYV koinfeksiyonu olduğu bildirilmiştir. Tespit edilen DSYV'lerinden en sık tespit edilenlerin sırasıyla HCoV (%30,7), RV (%28,9) ve RSV (%7,8) olduğu saptanmıştır. Başvuran hastalarda ise en sık görülen semptomların halsizlik, boğaz ağrısı ve öksürük olduğu gözlemlenmiştir. Araştırmamız 2021/31.hafta ile 2021/52.hafta arasında yapılmış ve THSGM verileri

ile uyumlu olarak en sık tespit edilen viral etkenler RV/EV (%40,52), HCoV (%31,9) ve İFV A (%16,38) olarak saptanmıştır. Semptomlar dikkate alındığında araştırmamızda öksürük, burun akıntısı/tıkanıklığı ve halsizlik şikayetlerinin ön planda olduğu gözlemlenmiştir. Örneklem oluşturulurken, SARS-CoV-2 PCR testi pozitif olup çalışma dışı bırakılan 24 hasta ile, RV/EV (47), İnsan koronavirüleri (35) ve İFV A (19) olmak üzere en sık tespit edilen 3 etken ile enfekte 98 hastanın semptomları kıyaslandığında, eklem ağrısı İFV A'da, ses değişikliği ve hapşırık insan koronavirüslerinde, tat-koku kaybı ise SARS CoV-2'de daha sıklıkla gözlemlenmiştir.

Araştırmamızda etkenlerin aylara göre dağılımı incelendiğinde bazı virüslerin bazı aylarda baskın halde olduğu gözlemlenmiştir. Daha önceki paragrafta tartıştığımız gibi HCoV OC43'ün sezon dışı salgınlar yaptığı bildirilmiştir. Pandeminin ilk yılında görülme sıklığı azalmış olan HCoV'lerin normalde dolaşımda olduğu kış aylarından farklı olarak ağustos ve eylül ayında dolaşımda daha yaygın olduğu gözlemlenmiştir. Buna sebep olarak bu ayların Türkiye için tatil mevsimi olması ve normalleşme nedeniyle alınan tedbirlerin gevşetilmesi akıllara gelmektedir. EV ve RV'nin pandemi süresince dolaşımda olduğu diğer çalışmalarda bildirilmiştir(97,100). Bizim çalışmamızda da normal mevsimsel dolaşım paterninden 1 ay gecikmeli olarak ekim ayında RV/EV piki görülmesi, ülkemizde yüz yüze eğitimin başlaması, sınıfların kalabalık ve kapalı ortam olması, çocukların yakın mesafelerde oturarak eğitim almasıyla bulaşın kolaylaşmasına bağlı olduğunu düşündürtmektedir. Çocukların pandemi için alınan tedbirlere uyumu düşük olabilir ve okulda enfekte olduktan sonra aile içi bulaşa neden olmaları muhtemeldir.

Ülkemizde kullanılmakta olan BioFire RP2.1-EZ Panel (BioFire Diagnostics, ABD) NFS ve NFA örneklerinde, ÜSYE yapan 16 viral, 4 bakteriyel etkeni, QIAstat-Dx SARS-CoV2 Panel (Qiagen, Almanya) NFS örneklerinde, ÜSYE yapan 18 viral, 3 bakteriyel etkeni tespit etmektedir. Çalışmamızda kullanılan Bio-Speedy Solunum Yolu Rt-qPCR MX-24S Paneli ise NFS, NFA, OPS, BAL ve balgam örneklerinden hem ÜSYE hem de ASYE etkenlerini saptamak amacıyla tasarlanmış, 19 viral, 6 bakteriyel etkenin tespitini sağlamaktadır. Araştırmamızda 12 hastada *S.pneumonie*, 9 hastada *H.influenzae* saptanmış olup bu sonuçlar, etkenlerin NFS örneklerinde tespit edilmiş olması nedeniyle kolonizasyon-etken ayrımı yapılamayacağı için negatif olarak kabul edilmiştir. Hastaların takibi 10-14 gün süre ile HBYS üzerinden

yapılmış olup, yapılan takiplerde bu hastalara ait herhangi bir radyolojik görüntüleme, solunum yolu kültürü istemi veya bakteriyel etkeni işaret eden ICD kodlu tanı bulunmamaktadır. Hastalardan 2'sinde eşlik eden viral etken saptanmış (*Rhinovirüs* ve *Human Coronavirüs OC43*), bu iki hasta ile birlikte *H.influenzae* tespit edilmiş diğer 2 hastaya Amoksisilin-Klavulanik asit reçete edilmiştir. Balgam kültür istemi yapılmadan antibiyotik reçete edilmiş olması uygunsuz antibiyotik kullanımı olarak değerlendirilmiştir. Tüm hastalar arasında sadece 9 (%5) hastaya antibiyotik reçete edilmiş olup, hastanemizde genel olarak uygunsuz antibiyotik kullanımının kabul edilebilir seviyede olduğu gözlemlenmiştir.

MPSP'ler çok sayıda bakteri ve virüsü aynı anda saptanabilmekle birlikte, duyarlılık ve özgüllüklerinin etkenden etkene değiştiği bildirilmiştir. Çalışmamız on adet standart kalite kontrol örneği test edilmiştir. 8 tanesinin sonucu doğru iken, AdV Tip 1 ve AdV Tip 4 olmak üzere iki örnek yanlış isimlendirilmiştir. Yeterli numune olmadığı için test tekrarı yapılamamıştır. Elimizde fazla sayıda pozitif örnek olmadığından kitin adenovirus için duyarlılığı ve özgüllüğü ile ilgili veri oluşturulamamıştır. Tüm ticari kitler yeni versiyonları ile duyarlılık ve özgüllüklerini artırmaktadır. Nitekim kullandığımız kitin yeni versiyonlarında Adenovirus primer ve prob dizaynları değiştirilerek duyarlılık ve özgüllüğünün yükseltildiği bilgisi firmadan alınmıştır.

Çalışmamızda bazı limitasyonlar bulunmaktadır. Araştırmamız için tedarik edilebilen kit sayısı 200 ile sınırlı olup, araştırmaya 173 hasta dahil edilebilmiş, örneklem sayısı düşük kalmıştır. Ayrıca servis ve yoğun bakımlardaki Covid-19 hasta yoğunluğu nedeniyle yalnızca ayaktan hastalar dahil edilebilmiş, yatan hastalarda mevsimsel solunum yolu virüslerinin sıklığı gözlemlenememiştir. Bu nedenle hastalardan radyolojik tetkik, kültür ve biyokimyasal parametreler çoğu kez istenmemiş olduğundan çalışmaya dahil edilememiştir. Hastaların semptomları, eşlik eden komorbid durumları, varsa kullandığı ilaçları yerinde gözlemlenip, oluşturulan standart sorularla tespit edilebildiği için araştırmanın örnekleminin iyi seçilmiş ve evreni iyi temsil ettiği görülmektedir.

## 6. SONUÇ

Sonuç olarak verilerimiz, SARS CoV-2 ile mücadelede alınan halk sağlığı tedbirleri ve viral interferansın diğer solunum yolu virüslerinin mevsimsel dolaşım modellerini değiştirdiğini, pandeminin ilk yılında dolaşımdan silinmiş olan başta İFV olmak üzere mevsimsel viral etkenlerin alınan tedbirlerin hafifletilmesiyle pandeminin 2.yılında yeniden ortaya çıktığını göstermektedir. Solunum yolu virüsleri ve SARS CoV-2 ile enfekte hastaların semptomlarının büyük oranda benzediği gözlemlenmiştir. Solunum yolu patojenlerinin kısa sürede ve doğru tespit edilmesi ile uygun olmayan antimikrobiyal tedaviyi önlemek, zamanında antiviral tedaviye başlamak, toplumsal bulaşı en aza indirmek ve tedavi maliyetlerini azaltmak mümkün olabilmektedir. Tüm bunlar göz önüne alındığında kısa sürede yüksek duyarlılık ve özgüllük ile çok sayıda viral etkeni eş zamanlı saptayabilen, MPSP salgın döneminde kullanımının hasta yönetimi ve toplum sağlığı açısından etkin bir uygulama olabileceği düşünülmüştür.

**KAYNAKLAR**


1. Charlton CL, Babady E, Ginocchio CC, et al. Practical Guidance for Clinical Microbiology Laboratories: Viruses Causing Acute Respiratory Tract Infections. *Clin Microbiol Rev*. 2018;32(1):e00042-18. Published 2018 Dec 12. doi:10.1128/CMR.00042-18

2. Dien Bard J, McElvania E. Panels and Syndromic Testing in Clinical Microbiology. *Clin Lab Med*. 2020;40(4):393-420. doi:10.1016/j.cll.2020.08.001

3. Gündoğmuş İ, Ünsal C, Bolu A, et al. The comparison of anxiety, depression and stress symptoms levels of healthcare workers between the first and second COVID-19 peaks. *Psychiatry Res*. 2021;301:113976. doi:10.1016/j.psychres.2021.113976

4. The top 10 causes of death [Internet]. [cited 2022 Jul 17]. Available from: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death

5. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard | WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard With Vaccination Data [Internet]. [cited 2022 Jul 17]. Available from: https://covid19.who.int/

6. Zhang N, Wang L, Deng X, et al. Recent advances in the detection of respiratory virus infection in humans. *J Med Virol*. 2020;92(4):408-417. doi:10.1002/jmv.25674

7. Panda S, Mohakud NK, Pena L, Kumar S. Human metapneumovirus: review of an important respiratory pathogen. *Int J Infect Dis*. 2014;25:45-52. doi:10.1016/j.ijid.2014.03.1394

8. Wang CC, Prather KA, Sznitman J, et al. Airborne transmission of respiratory viruses. *Science*. 2021;373(6558):eabd9149. doi:10.1126/science.abd9149

9. Leber AL, Everhart K, Daly JA, et al. Multicenter Evaluation of BioFire FilmArray Respiratory Panel 2 for Detection of Viruses and Bacteria in Nasopharyngeal Swab Samples. *J Clin Microbiol*. 2018;56(6):e01945-17. Published 2018 May 25. doi:10.1128/JCM.01945-17

10. Zhao H, Yang Y, Lyu J, Ren X, Cheng W. Development and application of a method to detect 27 respiratory pathogens using multiplex RT-PCR combined with MassARRAY technology. *BMC Infect Dis*. 2021;21(1):870. Published 2021 Aug 25. doi:10.1186/s12879-021-06404-0

11. Babady NE. The FilmArray® respiratory panel: an automated, broadly multiplexed molecular test for the rapid and accurate detection of respiratory pathogens. *Expert Rev Mol Diagn*. 2013;13(8):779-788. doi:10.1586/14737159.2013.848794

12. Babady NE, England MR, Jurcic Smith KL, et al. Multicenter Evaluation of the ePlex Respiratory Pathogen Panel for the Detection of Viral and Bacterial Respiratory Tract Pathogens in Nasopharyngeal Swabs. *J Clin Microbiol*. 2018;56(2):e01658-17. Published 2018 Jan 24. doi:10.1128/JCM.01658-17

13. 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;24(10):1055-1063. doi:10.1016/j.cmi.2017.11.018

14. Kaku N, Hashiguchi K, Iwanaga Y, et al. Evaluation of FilmArray respiratory panel multiplex polymerase chain reaction assay for detection of pathogens in adult outpatients with acute respiratory tract infection. *J Infect Chemother*. 2018;24(9):734-738. doi:10.1016/j.jiac.2018.05.006

15. Vandendriessche S, Padalko E, Wollants E, Verfaillie C, Verhasselt B, Coorevits L. Evaluation of the Seegene Allplex™ Respiratory Panel for diagnosis of acute respiratory tract infections. *Acta Clin Belg*. 2019;74(6):379-385. doi:10.1080/17843286.2018.1531605

16. Moriyama M, Hugentobler WJ, Iwasaki A. Seasonality of Respiratory Viral Infections. *Annu Rev Virol*. 2020;7(1):83-101. doi:10.1146/annurev-virology-012420-022445

17. Jacobs SE, Lamson DM, St George K, Walsh TJ. Human rhinoviruses. *Clin Microbiol Rev*. 2013;26(1):135-162. doi:10.1128/CMR.00077-12

18. Rahamat-Langendoen J, Riezebos-Brilman A, Borger R, et al. Upsurge of human enterovirus 68 infections in patients with severe respiratory tract infections. *J Clin Virol*. 2011;52(2):103-106. doi:10.1016/j.jcv.2011.06.019

19. Nafisa S, Paul P, Sovani M. A Case Report of Acute Flaccid Paralysis Caused by Enterovirus D68 Infection: The Beginning of a Polio-Like Epidemic?. *Cureus*. 2021;13(6):e15625. Published 2021 Jun 13. doi:10.7759/cureus.15625

20. Kuchar E, Miśkiewicz K, Nitsch-Osuch A, Szenborn L. Pathophysiology of Clinical Symptoms in Acute Viral Respiratory Tract Infections. *Adv Exp Med Biol*. 2015;857:25-38. doi:10.1007/5584_2015_110

21. Litwin CM, Bosley JG. Seasonality and prevalence of respiratory pathogens detected by multiplex PCR at a tertiary care medical center. *Arch Virol*. 2014;159(1):65-72. doi:10.1007/s00705-013-1794-4

22. Basnet S, Palmenberg AC, Gern JE. Rhinoviruses and Their Receptors. *Chest*. 2019;155(5):1018-1025. doi:10.1016/j.chest.2018.12.012

23. Bozkaya, E. (2006). Parainfluenza, adeno, korona ve rinoviruslar. *ANKEM Derg 2006;20(Ek 2):248-253.*

24. Krammer F, Smith GJD, Fouchier RAM, et al. Influenza. *Nat Rev Dis Primers*. 2018;4(1):3. Published 2018 Jun 28. doi:10.1038/s41572-018-0002-y

25. Hutchinson EC. Influenza Virus. *Trends Microbiol*. 2018;26(9):809-810. doi:10.1016/j.tim.2018.05.013

26. Kuşkucu, M. A., Mete, B., Tabak, F., & Midilli, K. (2020). Prevalence and seasonal distribution of respiratory viruses in adults between 2010–2018. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, *50*(1), 021-026.

27. Wu NC, Wilson IA. Influenza Hemagglutinin Structures and Antibody Recognition. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2020;10(8):a038778. Published 2020 Aug 3. doi:10.1101/cshperspect.a038778

28. Hsieh YC, Wu TZ, Liu DP, et al. Influenza pandemics: past, present and future. *J Formos Med Assoc*. 2006;105(1):1-6. doi:10.1016/S0929-6646(09)60102-9

29. Johnson NP, Mueller J. Updating the accounts: global mortality of the 1918-1920 "Spanish" influenza pandemic. *Bull Hist Med*. 2002;76(1):105-115. doi:10.1353/bhm.2002.0022

30. Lewandowski K, Xu Y, Pullan ST, et al. Metagenomic Nanopore Sequencing of Influenza Virus Direct from Clinical Respiratory Samples. *J Clin Microbiol*. 2019;58(1):e00963-19. Published 2019 Dec 23. doi:10.1128/JCM.00963-19

31. Petrova VN, Russell CA. The evolution of seasonal influenza viruses. *Nat Rev Microbiol*. 2018;16(1):60. doi:10.1038/nrmicro.2017.146

32. McFee RB. Human pathogen coronaviruses - An overview. *Dis Mon*. 2020;66(9):101066. doi:10.1016/j.disamonth.2020.101066

33. Ye ZW, Yuan S, Yuen KS, Fung SY, Chan CP, Jin DY. Zoonotic origins of human coronaviruses. *Int J Biol Sci*. 2020;16(10):1686-1697. Published 2020 Mar 15. doi:10.7150/ijbs.45472

34. Li G, Fan Y, Lai Y, et al. Coronavirus infections and immune responses. *J Med Virol*. 2020;92(4):424-432. doi:10.1002/jmv.25685

35. Hamre D, Procknow JJ. A new virus isolated from the human respiratory tract. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1966;121(1):190-193. doi:10.3181/00379727-121-30734

36. McIntosh K, Dees JH, Becker WB, Kapikian AZ, Chanock RM. Recovery in tracheal organ cultures of novel viruses from patients with respiratory disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1967;57(4):933-940. doi:10.1073/pnas.57.4.933

37. Abdul-Rasool S, Fielding BC. Understanding Human Coronavirus HCoV-NL63. *Open Virol J*. 2010;4:76-84. Published 2010 May 25. doi:10.2174/1874357901004010076

38. Lau SK, Woo PC, Yip CC, et al. Coronavirus HKU1 and other coronavirus infections in Hong Kong. *J Clin Microbiol*. 2006;44(6):2063-2071. doi:10.1128/JCM.02614-05

39. Cheng VC, Lau SK, Woo PC, Yuen KY. Severe acute respiratory syndrome coronavirus as an agent of emerging and reemerging infection. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20(4):660-694. doi:10.1128/CMR.00023-07

40. Hilgenfeld R, Peiris M. From SARS to MERS: 10 years of research on highly pathogenic human coronaviruses. Vol. 100, Antiviral Research. 2013. p. 286–95.

41. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China [published correction appears in Lancet. 2020 Jan 30;:]. *Lancet*. 2020;395(10223):497-506. doi:10.1016/S0140-6736(20)30183-5.

42. Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020;382(8):727-733. doi:10.1056/NEJMoa2001017

43. Tekol, S. D. (2020). SARS-CoV-2: Virology and Microbiological Diagnostic Tools. *Southern Clinics of Istanbul Eurasia*. ID: covidwho-925986

44. Jin Y, Yang H, Ji W, et al. Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19. *Viruses*. 2020;12(4):372. Published 2020 Mar 27. doi:10.3390/v12040372

45. Woo PC, Lau SK, Chu CM, et al. Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. *J Virol*. 2005;79(2):884-895. doi:10.1128/JVI.79.2.884-895.2005

46. Wu A, Peng Y, Huang B, et al. Genome Composition and Divergence of the Novel Coronavirus (2019-nCoV) Originating in China. *Cell Host Microbe*. 2020;27(3):325-328. doi:10.1016/j.chom.2020.02.001

47. Chan JF, Kok KH, Zhu Z, et al. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan [published correction appears in Emerg Microbes Infect. 2020 Dec;9(1):540]. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):221-236. Published 2020 Jan 28. doi:10.1080/22221751.2020.1719902

48. Zhang H, Penninger JM, Li Y, Zhong N, Slutsky AS. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. *Intensive Care Med*. 2020;46(4):586-590. doi:10.1007/s00134-020-05985-9

49. Tsukagoshi H, Ishioka T, Noda M, Kozawa K, Kimura H. Molecular epidemiology of respiratory viruses in virus-induced asthma. *Front Microbiol*. 2013;4:278. Published 2013 Sep 12. doi:10.3389/fmicb.2013.00278

50. Branche AR, Falsey AR. Parainfluenza Virus Infection. *Semin Respir Crit Care Med*. 2016;37(4):538-554. doi:10.1055/s-0036-1584798

51. Vilchez RA, Dauber J, McCurry K, Iacono A, Kusne S. Parainfluenza virus infection in adult lung transplant recipients: an emergent clinical syndrome with implications on allograft function. *Am J Transplant*. 2003;3(2):116-120. doi:10.1034/j.1600-6143.2003.00024.x

52. Schomacker H, Schaap-Nutt A, Collins PL, Schmidt AC. Pathogenesis of acute respiratory illness caused by human parainfluenza viruses. *Curr Opin Virol*. 2012;2(3):294-299. doi:10.1016/j.coviro.2012.02.001

53. Çiçek, C., Arslan, A., Saz, E. U., Pullukçu, H., & Gürsel, Ç. O. K. (2015). Üst ve alt solunum yolu enfeksiyonu olan hastalarda solunum virüslerinin multipleks PCR

yöntemi ile eşzamanlı saptanması. *Ege Tıp Dergisi*, *54*(1), 8-14. https://doi.org/10.19161/etd.344100

54. Bayrakdar, F., Altaş, A. B., & Korukluoğlu, G. (2013). Solunum yolu virüslerinin 2009-2012 yılları arasında ülkemizdeki mevsimsel dağılımı. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2013; 43 (2): 56-66. doi:10.5222/TMCD.2013.056

55. Walsh EE, McConnochie KM, Long CE, Hall CB. Severity of respiratory syncytial virus infection is related to virus strain. *J Infect Dis*. 1997;175(4):814-820. doi:10.1086/513976

56. Hacımustafaoğlu, M. RSV İNFEKSİYONLARI ANKEM Derg 2014;28(Ek 2):33-44

57. Patel NA. Pediatric COVID-19: Systematic review of the literature. *Am J Otolaryngol*. 2020;41(5):102573. doi:10.1016/j.amjoto.2020.102573

58. Walsh EE. Respiratory Syncytial Virus Infection: An Illness for All Ages. *Clin Chest Med*. 2017;38(1):29-36. doi:10.1016/j.ccm.2016.11.010

59. Greber UF. Adenoviruses - Infection, pathogenesis and therapy. *FEBS Lett*. 2020;594(12):1818-1827. doi:10.1002/1873-3468.13849

60. Crenshaw BJ, Jones LB, Bell CR, Kumar S, Matthews QL. Perspective on Adenoviruses: Epidemiology, Pathogenicity, and Gene Therapy. *Biomedicines*. 2019;7(3):61. Published 2019 Aug 19. doi:10.3390/biomedicines7030061

61. Yenen O Ş. Adenovirus'lar. In: Jawetz, Melnick ve Adelberg Tıbbi Mikrobiyoloji.; 2015:457-465.

62. Ciçek C, Arslan A, Saz E, PULLUKÇU H, Cok G. Üst ve alt solunum yolu enfeksiyonu olan hastalarda solunum virüslerinin multipleks PCR yöntemi ile eşzamanlı saptanması. Ege Tıp Dergisi. 2015;54:8-14. doi:10.19161/etd.344100

63. Hermos CR, Vargas SO, McAdam AJ. Human metapneumovirus. *Clin Lab Med*. 2010;30(1):131-148. doi:10.1016/j.cll.2009.10.002

64. Schildgen V, van den Hoogen B, Fouchier R, et al. Human Metapneumovirus: lessons learned over the first decade. *Clin Microbiol Rev*. 2011;24(4):734-754. doi:10.1128/CMR.00015-11

65. Schuster JE, Williams JV. Human Metapneumovirus. *Microbiol Spectr*. 2014;2(5):10.1128/microbiolspec.AID-0020-2014. doi:10.1128/microbiolspec.AID-0020-2014

66. Allander T, Tammi MT, Eriksson M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A, Andersson B. Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples [published correction appears in Proc Natl Acad Sci U S A. 2005 Oct 25;102(43):15712]. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(36):12891-12896. doi:10.1073/pnas.0504666102

67. Guido M, Tumolo MR, Verri T, et al. Human bocavirus: Current knowledge and future challenges. *World J Gastroenterol*. 2016;22(39):8684-8697. doi:10.3748/wjg.v22.i39.8684

68. Us, A. D. (2010). Pandemik influenza infeksiyonunda etyopatogenez ve laboratuvar tanı yöntemleri. *Hacettepe Tıp Derg*, *41*(1), 13-27.

69. CDC H1N1 Flu | Interim Guidance on Specimen Collection, Processing, and Testing for Patients with Suspected Novel Influenza A (H1N1) (Swine Flu) Virus Infection [Internet]. [cited 2022 Jul 5]. Available from: https://www.cdc.gov/h1n1flu/specimencollection.htm

70. Appak Ö, Duman M, Belet N, Sayiner AA. Viral respiratory infections diagnosed by multiplex polymerase chain reaction in pediatric patients. *J Med Virol*. 2019;91(5):731-737. doi:10.1002/jmv.25379

71. Mahony JB. Detection of respiratory viruses by molecular methods. *Clin Microbiol Rev*. 2008;21(4):716-747. doi:10.1128/CMR.00037-07

72. Chartrand C, Leeflang MM, Minion J, Brewer T, Pai M. Accuracy of rapid influenza diagnostic tests: a meta-analysis. *Ann Intern Med*. 2012;156(7):500-511. doi:10.7326/0003-4819-156-7-201204030-00403

73. Merckx J, Wali R, Schiller I, et al. Diagnostic Accuracy of Novel and Traditional Rapid Tests for Influenza Infection Compared With Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction: A Systematic Review and Meta-analysis. *Ann Intern Med*. 2017;167(6):394-409. doi:10.7326/M17-0848

74. Atmar, R. L., & Lindstrom, S. E. (2015). Influenza viruses. *Manual of clinical microbiology*, 1470-1486.

75. Kim SR, Ki CS, Lee NY. Rapid detection and identification of 12 respiratory viruses using a dual priming oligonucleotide system-based multiplex PCR assay. *J Virol Methods*. 2009;156(1-2):111-116. doi:10.1016/j.jviromet.2008.11.007

76. KLİMUD Pandemi Rehberi 1. Baskı, 2021 / ANKARA KLİMUD - PAN.REH.10/21.Ver1.0

77. Kesson AM. Respiratory virus infections. *Paediatr Respir Rev*. 2007;8(3):240-248. doi:10.1016/j.prrv.2007.07.003

78. Zhang N, Wang L, Deng X, et al. Recent advances in the detection of respiratory virus infection in humans. *J Med Virol*. 2020;92(4):408-417. doi:10.1002/jmv.25674

79. Buller RS. Molecular detection of respiratory viruses. *Clin Lab Med*. 2013;33(3):439-460. doi:10.1016/j.cll.2013.03.007

80. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, et al. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*. 1988;239(4839):487-491. doi:10.1126/science.2448875

81. Locher K, Roscoe D, Jassem A, et al. FilmArray respiratory panel assay: An effective method for detecting viral and atypical bacterial pathogens in bronchoscopy specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2019;95(4):114880. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2019.114880

82. Popowitch EB, O'Neill SS, Miller MB. Comparison of the Biofire FilmArray RP, Genmark eSensor RVP, Luminex xTAG RVPv1, and Luminex xTAG RVP fast multiplex assays for detection of respiratory viruses. *J Clin Microbiol*. 2013;51(5):1528-1533. doi:10.1128/JCM.03368-12

83. Nolte FS, Marshall DJ, Rasberry C, et al. MultiCode-PLx system for multiplexed detection of seventeen respiratory viruses. *J Clin Microbiol*. 2007;45(9):2779-2786. doi:10.1128/JCM.00669-07

84. Ali SA, Gern JE, Hartert TV, et al. Real-world comparison of two molecular methods for detection of respiratory viruses. *Virol J*. 2011;8:332. Published 2011 Jun 29. doi:10.1186/1743-422X-8-332

85. Turner P, Fox-Lewis A, Shrestha P, et al. Microbiology Investigation Criteria for Reporting Objectively (MICRO): a framework for the reporting and interpretation of clinical microbiology data. *BMC Med*. 2019;17(1):70. Published 2019 Mar 29. doi:10.1186/s12916-019-1301-1

86. von Elm E, Altman DG, Egger M, et al. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) Statement: guidelines for reporting observational studies. *Int J Surg*. 2014;12(12):1495-1499. doi:10.1016/j.ijsu.2014.07.013

87. Solunum Yolu RT-qPCR MX-24S Panel Kullanım Talimatı .

88. Liu R, Han H, Liu F, et al. Positive rate of RT-PCR detection of SARS-CoV-2 infection in 4880 cases from one hospital in Wuhan, China, from Jan to Feb 2020. *Clin Chim Acta*. 2020;505:172-175. doi:10.1016/j.cca.2020.03.009

89. Chen X, Yu B. First two months of the 2019 Coronavirus Disease (COVID-19) epidemic in China: real-time surveillance and evaluation with a second derivative model. *Glob Health Res Policy*. 2020;5:7. Published 2020 Mar 2. doi:10.1186/s41256-020-00137-4

90. Hasöksüz M, Kiliç S, Saraç F. Coronaviruses and SARS-COV-2. *Turk J Med Sci*. 2020;50(SI-1):549-556. Published 2020 Apr 21. doi:10.3906/sag-2004-127

91. Temel, M. K., & Ertin, H. (2020). 1918 Grip Pandemisi Kıssasından COVID-19 Pandemisine Hisseler. *Anadolu Kliniği Tıp Bilimleri Dergisi, Ocak 2020; Cilt 25, Özel Sayı 1* DOI: 10.21673/anadoluklin.716868

92. Turner, R. B. (2015). The common cold. *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*, 748-752

93. 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;54(5):858-864. doi:10.1016/j.jmii.2020.07.020

94. Lagacé-Wiens P, Bullard J, Cole R, Van Caeseele P. Seasonality of coronaviruses and other respiratory viruses in Canada: Implications for COVID-19. *Can Commun Dis Rep*. 2021;47(3):132-138. Published 2021 Mar 31. doi:10.14745/ccdr.v47i03a02

95. Heinzinger S, Eberle U, Angermeier H, et al. Reciprocal circulation pattern of SARS-CoV-2 and influenza viruses during the influenza seasons 2019/2020 and 2020/2021 in the Bavarian Influenza Sentinel (Germany) [published correction appears in Epidemiol Infect. 2022 Feb 11;150:e24]. *Epidemiol Infect*. 2021;149:e226. Published 2021 Oct 26. doi:10.1017/S0950268821002296

96. Olsen SJ, Azziz-Baumgartner E, Budd AP, et al. Decreased influenza activity during the COVID-19 pandemic-United States, Australia, Chile, and South Africa, 2020. *Am J Transplant*. 2020;20(12):3681-3685. doi:10.1111/ajt.16381

97. De Francesco MA, Pollara C, Gargiulo F, Giacomelli M, Caruso A. Circulation of Respiratory Viruses in Hospitalized Adults before and during the COVID-19 Pandemic in Brescia, Italy: A Retrospective Study. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(18):9525. Published 2021 Sep 9. doi:10.3390/ijerph18189525

98. Calderaro A, De Conto F, Buttrini M, et al. Human respiratory viruses, including SARS-CoV-2, circulating in the winter season 2019-2020 in Parma, Northern Italy. *Int J Infect Dis*. 2021;102:79-84. doi:10.1016/j.ijid.2020.09.1473

99. Du X, Wu G, Zhu Y, Zhang S. Exploring the epidemiological changes of common respiratory viruses since the COVID-19 pandemic: a hospital study in Hangzhou, China. *Arch Virol*. 2021;166(11):3085-3092. doi:10.1007/s00705-021-05214-8.

100. Agca H, Akalin H, Saglik I, Hacimustafaoglu M, Celebi S, Ener B. Changing epidemiology of influenza and other respiratory viruses in the first year of COVID-19 pandemic. *J Infect Public Health*. 2021;14(9):1186-1190. doi:10.1016/j.jiph.2021.08.004

101. Schultz-Cherry S. Viral Interference: The Case of Influenza Viruses. *J Infect Dis*. 2015;212(11):1690-1691. doi:10.1093/infdis/jiv261

102. Burstein R, Althouse BM, Adler A, et al. Interactions among 17 respiratory pathogens: a cross-sectional study using clinical and community surveillance data. Preprint. *medRxiv*. 2022;2022.02.04.22270474. Published 2022 Feb 6. doi:10.1101/2022.02.04.22270474

103. Cooksey GLS, Morales C, Linde L, et al. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 and Respiratory Virus Sentinel Surveillance, California, USA, May 10, 2020-June 12, 2021. *Emerg Infect Dis*. 2022;28(1):9-19. doi:10.3201/eid2801.211682

104. Bancej C, Rahal A, Lee L, Buckrell S, Schmidt K, Bastien N. National FluWatch mid-season report, 2021-2022: Sporadic influenza activity returns. *Can Commun Dis Rep*. 2022;48(1):39-45. Published 2022 Jan 26. doi:10.14745/ccdr.v48i01a06

105. Nott R, Fuller TL, Brasil P, Nielsen-Saines K. Out-of-Season Influenza during a COVID-19 Void in the State of Rio de Janeiro, Brazil: Temperature Matters. *Vaccines (Basel)*. 2022;10(5):821. Published 2022 May 23. doi:10.3390/vaccines10050821

106. McIntosh, K., & Perlman, S. (2015). Coronaviruses, including severe acute respiratory syndrome (SARS) and Middle East respiratory syndrome (MERS). *Mandell, douglas, and bennett's principles and practice of infectious diseases*, 1928.

107. Joint European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC)/World Health Organization (WHO). Europe Weekly influenza update. Week 52/2021 (27 December 2021 – 2 January 2022).

108. United States Centers for Disease Control and Prevention, National Centre for Immunization and Respiratory Diseases. FluView Summary ending on January 1, 2022. Key Updates for week 52, ending January 1, 2022

109. Bakanliği TCS, Sağlığı H, Müdürlüğü G, Hastalıklar B, Uyarı E, Başkanlığı D. Haftalık İnfluenza (Grip) Sürveyans Raporu. 2021/39.hafta

110. Bakanliği TCS, Sağlığı H, Müdürlüğü G, Hastalıklar B, Uyarı E, Başkanlığı D. Haftalık İnfluenza (Grip) Sürveyans Raporu. 2021/52.hafta