

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

KRONİK OBSTRÜKTİF AKCİĞER HASTALIĞI AKUT ALEVLENMELERİNDE SOLUNUM YOLU VİRÜSLERİNİN MOLEKÜLER YÖNTEMLE ARAŞTIRILMASI

HAVVA AVCIKÜÇÜK

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ŞUBAT 2019


GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Gazi
1926

KRONİK OBSTRÜKTİF AKCİĞER HASTALIĞI AKUT ALEVLENMELERİNDE SOLUNUM YOLU VİRÜSLERİNİN MOLEKÜLER YÖNTEMLE ARAŞTIRILMASI

Havva AVCIKÜÇÜK

DOKTORA TEZİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ŞUBAT 2019

Havva AVCIKÜÇÜK tarafından hazırlanan "KRONİK OBSTRÜKTİF AKCİĞER HASTALIĞI AKUT ALEVLENMELERİNDE SOLUNUM YOLU VİRÜSLERİNİN MOLEKÜLER YÖNTEMLE ARAŞTIRILMASI" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof Dr. Gülendam BOZDAYI
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

Başkan : Prof.Dr. Kayhan ÇAĞLAR
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

Üye : Prof.Dr. Koray ERGÜNAY
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

Üye : Prof. Dr. Ayşe KALKANCI
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

Üye : Prof.Dr. Aydın KARAARSLAN
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

Tez Savunma Tarihi: 05/02/2019

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mustafa ASLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

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

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

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

Havva Avcıküçük
05.02.2019

KRONİK OBSTRÜKTİF AKCİĞER HASTALIĞI AKUT ALEVLENMELERİNDE SOLUNUM YOLU VİRÜSLERİNİN MOLEKÜLER YÖNTEMLE ARAŞTIRILMASI

(Doktora Tezi)

Havva AVCIKÜÇÜK

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Şubat 2019

ÖZET

Bu çalışmanın amacı; KOAH akut alevlenmelerinde etken olabilecek virüslerin, multipleks PZR yöntemi kullanılarak hızlı ve güvenilir olarak saptamaktır. Çalışmaya, 14 Ocak 2016 ile 31 Mayıs 2017 tarihleri arasında, Ankara 29 Mayıs Devlet Hastanesi'nin Acil ve Göğüs Hastalıkları Kliniklerine başvuran 90 hasta dahil edilmiştir. Balgamdan viral nükleik asit (DNA/RNA) izolasyonu için High Pure Viral Nucleic Acide Kiti (Roche Diagnostic, Almanya) kullanılmıştır. Virüslerinin amplifikasyonu için LightCycler® Multiplex RNA/DNA virus master kiti (Roche Diagnostic, Almanya) ve özgül primer-prob karışımları (TıbMolbiol, Almanya) kullanılmıştır. Toplam 20 (% 22,2) hastada bakteriyel üreme tespit edilmiş olup, en sık tespit edilen bakteriler Streptococcus pneumoniae ve Pseudomonas aeruginosa olmuştur. Örneklerin % 7,8'inde PZR yöntemi ile virüs tespit edilebilmiştir. Saptanan virüsler, influenza A (H1N1), HPIV-3, RSV ve RV şeklinde olmuştur. Çalışmamızda en fazla tespit edilen tür RV olmuştur. Virüs tespit edilen hastaların, en fazla KOAH evre B ve evre D hastalar olduğu görülmüştür. Virüs pozitifliği açışından, KOAH evreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Çalışmamızda dört hastada virüs ve bakteri birlikteliği tespit edilmiştir. Koenfeksiyon belirlenen hastalar; bir hastada RSV ve Streptococcus pneumoniae, iki hastada RV ve Streptococcus pneumoniae ve bir hastada RV ve Haemophilus influenza şeklindedir. Alevlenmelere yol açan viral etkenlerin belirlenmesi, alevlenmelerin önlenmesini ve erken tanı ve hızlı tedavisini sağlayarak hastaların yaşam kalitelerinin artırılmasını ve hastanede yatış ihtiyacının azaltılmasını sağlayacaktır.

Bilim Kodu : 1039.3

Anahtar Kelimeler : KOAH, akut alevlenme, solunum yolu virüsleri

Sayfa Adedi : 98

Danışman : Prof Dr Gülendam BOZDAYI

MOLECULAR DETECTION OF RESPIRATORY VIRUSES IN ACUTE EXACERBATIONS OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

(Ph. D. Thesis)

Havva AVCIKÜÇÜK

GAZI UNIVERSITY

INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

February 2019

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the rapid and reliable detection of the viruses that may cause acute exacerbations in COPD by using the multiplex PCR method. The study included 90 patients who were admitted to Ankara 29 Mayıs State Hospital Emergency and Chest Diseases Clinics, between 14 January 2016 and 31 May 2017. High Pure Viral Nucleic Acidide Kit (Roche Diagnostic, Germany) was used for the isolation of viral nucleic acid (DNA/RNA) from the sputum. LightCycler multiplex RNA/DNA virus master kit and specific primer-probe mixtures (Tibmolbiol, Germany)) was used for amplification of viruses (Roche diagnostic, Germany). A total of 20 patients (22,2%) had positive bacterial cultures, with the most commonly found bacteria being Streptococcus pneumoniae and Pseudomonas aeruginosa. In 7,8% of the samples, the virus was detected by PCR method. The detected viruses were influenza A (H1N1), HPIV-3, RSV and RV. In our study, RV was the most detected type. It was observed that virüs detected patients were mostly COPD stage B and stage D patients. However, there was no statistically significant difference between COPD stages in terms of virus positivity. In our study, both virus and bacteria were identified in four patients. Co-infection by RSV and Streptococcus pneumoniae was found in one patient, RV and Streptococcus pneumoniae in two patients and RV and Haemophilus influenza in one patient. The determination of viruses that causes exacerbations would prevent such exacerbations, and by making early detection and rapid treatment, it would yield an improve in patients life quality and a decrease in the demand for hospital stays.

Science Code : 1039.3

Key Words : COPD, acute exacerbation, respiratory viruses

Page Number : 98

Advisor : Prof. Dr. Gülendam BOZDAYI

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez çalışmam boyunca bilgi ve tecrübeleri ile her zaman yol gösterici olan değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Gülendam BOZDAYI'ya ve doktora eğitimimim boyunca, bilgilerini benimle paylaşan tüm Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tez İzleme Komitesinde bulunan hocalarım; Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Kayhan ÇAĞLAR ve Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Koray ERGÜNAY'a bilimsel katkılarından dolayı teşekkür ederim. Tez çalışmalarım sırasındaki yardımlarından dolayı Dr. Aylin ALTAY'a, Gazi Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı ve 29 Mayıs Devlet Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında çalışan tüm teknisyen arkadaşlarıma ve aileme sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET iv

ABSTRACT v

TEŞEKKÜR vi

İÇİNDEKİLER vii

ÇİZELGELERİN LİSTESİ ix

ŞEKİLLERİN LİSTESİ x

RESİMLERİN LİSTESİ xi

SİMGELER VE KISALTMALAR xii

1. GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİLER 5

2.1.KOAH 5

2.2. Patogenez 7

2.3. Patofizyoloji 9

2.4. Hastalığın Değerlendirilmesi 10

2.5. KOAH Akut Atağı 12

2.6. KOAH Alevlenmelerinde Virüslerin Rolü 14

2.7. Akut Atağa Neden Olan Viral Etkenler 16

2.7.1. Rhinovirus 16

2.7.2. İnfluenza virüs 19

2.7.3. Respiratuar sinsityal virüs 24

2.7.4. İnsan metapnömovirüsü 28

2.7.5. Parainfluenza virüs 30

2.7.6. Bokavirüs 32

2.8. Solunum Yolu Virüslerinin Tanısında Moleküler Yöntemler 35

Sayfa

3. GEREÇ VE YÖNTEM 39
3.1. Hasta Grubu 39
3.2. Örnekler 41
3.2.1. Örneklerin toplanması, saklanması ve laboratuvar testleri 41
3.2.2. Örneklerden DNA/RNA izolasyonu 41
3.2.3. Multipleks real time PZR/multipleks reverse transkriptaz real time PZR yöntemi ile çoğaltma işlemi (Amplifikasyon) 44
3.3. İstatistiksel Analiz 47
4. BULGULAR 49
4.1. Hastalar 49
4.2. Alevlenme Semptomları 54
4.3. Laboratuvar Bulguları 55
4.4. Balgam Örneklerinin Mikrobiyolojik İncelemeleri 56
4.5. Balgam Örneklerinin Multipleks PZR İncelemeleri 59
5. TARTIŞMA 65
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 75
KAYNAKLAR 77
EKLER 93
Ek-1. Etik Kurul Onay Belgesi 94
ÖZGEÇMİŞ 97

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 2.1. Bronkodilatör sonrası FEV1'e göre hava akımı kısıtlanmasının derecelendirilmesi 11

Çizelge 3.1. RNA virüslerinin amplifikasyonu için PZR programı 46

Çizelge 3.2. HBoV amplifikasyonu için PZR programı..... 47

Çizelge 4.1. Hastaların cinsiyetlere göre dağılımı..... 49

Çizelge 4.2. Hastaların yaş gruplarına göre dağılımı 50

Çizelge 4.3. Hastaların yaş gruplarının cinsiyelere göre dağılımı..... 50

Çizelge 4.4. Hastaların klinik özellikleri 54

Çizelge 4.5. Hastaların laboratuvar bulguları 56

Çizelge 4.6. Balgam kültüründe izole edilen mikroorganizmalar 56

Çizelge 4.7. Balgam kültüründen izole edilen mikroorganizmaların KOAH evrelerine göre dağılımları 57

Çizelge 4.8. Mikroorganizma pozitif ve negatif hastaların KOAH evrelerine göre dağılımları 58

Çizelge 4.9. Bazı değişkenlere göre mikroorganizma pozitif ve negatif hastaların değerlendirilmesi 59

Çizelge 4.10. Tüm hastalar içinde tespit edilen virüslerin oranı 60

Çizelge 4.11. Pozitif bulunan örneklerin virüslere göre dağılımı 60

Çizelge 4.12. Virüs saptanan hastaların KOAH evrelerine göre dağılımları 62

Çizelge 4.13. Virüs saptanan hastaların kültür sonuçları 62

Çizelge 4.14. Bazı değişkenlere göre virüs pozitif ve negatif hastaların dağılımı 64

Çizelge 4.15. Bazı değişkenlere göre virüs pozitif ve negatif hastaların dağılımı 64

Çizelge 4.16. Bakteri, virüs ve bakteri ile virüs birlikteliği tespit edilen hastaların CRP, WBC ve nötrofil değerleri 65

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 2.1. Tüm dünyada en sık görülen ilk 10 ölüm nedenine göre dağılım, 2016 6

Şekil 2.2. GOLD 2017'ye göre yeni KOAH değerlendirme şeması 11

Şekil 2.3. Virüsle indüklenen KOAH alevlenmesinin mekanizması 15

Şekil 3.1. Hasta takip formu 40

Şekil 4.1. Hastaların cinsiyetlere göre dağılımı 49

Şekil 4.2. Hastaların yaş gruplarına göre dağılımı 50

Şekil 4.3. Hastaların yaş gruplarının cinsiyelere göre dağılımı 51

Şekil 4.4. Hastaların başvuru şekillerine göre dağılımı 51

Şekil 4.5. Örneklerin toplanma tarihlerine göre dağılımı 52

Şekil 4.6. Hastaların sigara kullanma durumları 52

Şekil 4.7. Hastaların influenza aşısı uygulanma durumları 53

Şekil 4.8. Hastaların antibiyotik kullanma öyküleri 53

Şekil 4.9. Hastaların KOAH evrelerine göre dağılımları 54

Şekil 4.10. Hastaların klinik özellikleri 55

Şekil 4.11. Balgam kültüründe izole edilen mikroorganizmaların dağılımı 57

Şekil 4.12. Virüs tespit edilen örneklerin aylara göre dağılımı 63

Şekil 4.13. Tespit edilen virüs tiplerinin aylara göre dağılımı 63

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim **Sayfa**

Resim 4.1. Influenza A (H1N1) virüsüne ait amplifikasyon eğrisi. PK: Pozitif kontrol 60

Resim 4.2. HPIV-3 virüsüne ait amplifikasyon eğrisi. PK: Pozitif kontrol..... 61

Resim 4.3. RSV'ye ait amplifikasyon eğrisi. PK: Pozitif kontrol..... 61

Resim 4.4. RV'ye ait amplifikasyon eğrisi. PK: Pozitif kontrol..... 61

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	**Açıklamalar**
˚C	Santigrat (Celcius) derece
p	Olasılık (Ki kare testinde)
m^3	Milimetre küp
dl	Desilitre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	milimetre
mM	Milimol
nm	Nano metre
µl	Mikrolitre
µm	mikro metre

Kısaltmalar	**Açıklamalar**
AAT	Alfa-1 antitripsin
APV	Avian (kuş) pnömovirüsü
CAT	COPD Assessment Test
CRP	C reaktif protein
DNA	Deoksiribonükleik asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EMB	Eozin metilen blue
F	Füzyon proteini
FDA	Food and Drug Administration (Amerika Gıda ve İlaç Dairesi)

Kısaltmalar	Açıklamalar
FEV_1	Forced expiratory volume (Zorlu ekspiratuar volüm)
FVC	Forced vital capacity (Zorlu vital kapasite)
G	Glikozil proteini
GA	Güven Aralığı
GOLD	Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease
HA	Hemaglütinin
HBoV	Human bocavirus
HPIV	Human parainfluenza virus
hMPV	Human metapneumovirus
ICAM-1	Intracellular adhesion molecule-1 (İntrasellüler adezyon molekülü-1)
IL	İnterlökin
kb	Kilo baz
KOAH	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
L	Büyük veya polimeraz proteini
M	Matriks proteini
mMRC	Modified Medical Research Council
NA	Nöraminidaz
NF-κB	nükleer faktör κB
NP	Nükleoprotein
NS	Non-structural protein (Yapısal olmayan proteinler)
P	Phosphoprotein
PA	Polimeraz asidik protein
PB	Polimeraz bazik protein
PI3K	Phosphoinositide 3-kinase (Fosfoinosit 3-kinaz)
PK	Pozitif kontrol
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RNA	Ribonükleik asit
rpm	Revolutions per minute (Dakikadaki devir sayısı)
RR	Rölatif Risk

Kısaltmalar	Açıklamalar
RSV	Respiratuar sinsityal virüs
RV	Rinovirüs
SS	Standart sapma
TRR	Tahmini rölatif risk
VP	Viral protein
WBC	White blood cell (Beyaz küre)

1. GİRİŞ

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH); genellikle zararlı gaz ve/veya partiküllerin hava yollarında anormalliklere sebep olması sonucunda, kalıcı solunum semptomları ve hava akımı kısıtlılığının meydana geldiği bir hastalıktır.

KOAH gelişimi için major risk faktörü, sigara kullanımı olmakla birlikte, genetik duyarlılık ile diğer risk faktörlerinin etkileşimi hastalığın ortaya çıkmasında etkilidir. Mesleki olarak toz ve çeşitli kimyasallara (silika, kömür tozu, kadmiyum vb) maruz kalma, iyi havalanmayan evlerde ısınma amacıyla kömür kullanılması ile oluşan iç ortam kirliliği ve büyük kentlerdeki dış ortam kirliliği diğer risk faktörleri olarak sayılabilir. Ayrıca, yetersiz beslenme, iç ve dış hava kirliliğine maruz kalma ve sigara kullanımının düşük sosyoekonomik durum ile bağlantılı olduğu düşünüldüğünde, KOAH gelişimi ile düşük sosyoekonomik durum arasında da bir ilişki bulunmaktadır. Gebelik ve çocukluk döneminde akciğer büyümesini ve gelişimini etkileyen çeşitli faktörler (annenin sigara kullanımı, çocukluk döneminde sigara dumanına maruziyet, allerjik hastalıklar, uzun süreli astım hastalığı, solunum yolu enfeksiyonları) KOAH gelişme riskini artırabilir.

Akut bakteriyel ve viral enfeksiyonlar KOAH'lı hastalarda hava yolu kısıtlamasını artırarak KOAH alevlenmelerinde rol oynamaktadır. Bununla birlikte yetişkinlerde KOAH gelişiminde enfeksiyonların rolü olduğuna dair kanıtlar bulunmamaktadır. Ancak çocukluk döneminde geçirilen solunum sistemi hastalıklarının erişkin dönemde akciğerlerin fonksiyonlarında azalma ile ilişkili olduğu bildirilmektedir.

Solunumsal semptomların alevlenmesi KOAH'ta sık görülür. Alevlenme; hastanın solunum yolu semptomlarında günlük gözlemlenen normal değişikliğin ötesinde ve ilaç değişikliğine yol açan bir kötüleşme ile karakterize akut olay olarak tanımlanmaktadır. Alevlenmeler sağlık durumunda bozulma, komorbid hastalıkların kötüleşmesi, sağlık kaynaklarının kullanımında, hastaneye yatış ve mortalite riskinde artışa neden olmaktadır. Bu nedenle alevlenme sıklığı, ağırlığı ve nedenleri değerlendirilmelidir.

İleri yaş, KOAH süresi, daha önceki alevlenme sıklığı ve antibiyotik kullanım durumu, balgamlı öksürük varlığı, KOAH'a eşlik eden komorbid hastalıklar (iskemik kalp hastalığı, kronik kalp yetmezliği, diabetes mellitus) alevlenme için risk faktörleri arasında sayılabilir.

En sık karşılaşılan alevlenme nedenleri hava kirliliği ve bakteriyel-viral kaynaklı trakeobronşial enfeksiyonlardır. KOAH alevlenmelerinin yaklaşık % 5'inin nedeni hava kirliliğidir. Çapı 10 mikrondan küçük partiküllerin oluşturduğu hava kirliliği KOAH alevlenmelerinin en önemli nedenlerindendir. Bununla birlikte enfeksiyonlar KOAH alevlenmelerinde daha önemli yer tutar. Yaklaşık % 50-60 alevlenmede sebep, enfeksiyonlardır. En sık belirlenen bakteriyel etkenler; *S.pneumoniae, H.influenza, M.catarrhalis* olup daha ağır alevlenmelerde *Pseudomonas spp* ve diğer gram negatif enterik bakteriler de tespit edilebilmektedir. Viral etkenler arasında en sık tespit edilenler ise; rinovirüsler, influenza virüs, parainfluenza virüs, koronavirüsler, adenovirüs, respiratuar sinsityal virüstür. Solunum sistemi enfeksiyonuna yol açan virüslerin çok çeşitli olması ve virüslerin saptanmasının güç olması nedeniyle bu enfeksiyonlarda viral tanının konulması yakın zamana kadar gecikmiştir. Ancak viral tanının erken konulması ile gereksiz antibiyotik kullanımının büyük ölçüde önlenebilecek olması, belirli viral hastalıklar için etkin olarak kullanılabilen antivirallerin geliştirilmesi ve aynı zamanda uygulaması güç konvansiyonel yöntemler yerine, virüs tespitine olanak veren hızlı ve kolay yöntemlerin geliştirilmesi, solunum sistemi hastalıklarında viral tanı konulmasının önemini artırmıştır. Solunum yolu virüslerinin çok geniş sayıda olması ve bazılarının birden fazla alt tipinin bulunması, kalıcı antikor yanıtının oluşmaması veya antijenik değişimlerin görülebilmesi nedeniyle tanıda genellikle direkt virüs saptayan yöntemler tercih edilmektedir. Tanıda kullanılan konvansiyonel yöntemler içinde altın standart, hücre kültürüdür. Fakat bu yöntemin örnek kalitesinden çok etkilenmesi, zaman alıcı olması ve uygulamadaki zorlukları dezavantajlarıdır. Son yıllarda ise solunum yolu virüslerinin hızlı tanısının sağlanabilmesi için nükleik asit saptama testleri ön plana çıkmıştır. Moleküler tanı yöntemlerindeki gelişmelere paralel olarak, solunum sistemi hastalıklarındaki viral etkenlerin tanısında artış sağlanmış ve böylece viral enfeksiyonların önemi daha iyi anlaşılmıştır. Solunum virüslerinin saptanması için geliştirilen nükleik asit saptama yöntemlerinden polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), en fazla kullanılan yöntem olup hızlı ve aynı zamanda yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip bir yöntemdir. Özellikle birden fazla etkenin tek bir klinik örnekten saptanmasına olanak sağlayan multipleks PZR yöntemi ile aynı anda birden fazla etken tek bir reaksiyonda hızlı bir şekilde saptanabilmektedir.

Ülkemizde KOAH akut alevlenmelerinde viral etiyolojiyi araştıran çalışmalar bulunmakla birlikte, sınırlı sayıdadır ve moleküler yöntemler kullanılarak yapılan tek çalışmada ise yalnızca adenovirüs ve RSV araştırılmıştır. Bu çalışmadaki amacımız; KOAH akut

alevlenmelerinde viral solunum yolu hastalıklarının önemli bir alevlenme tetikleyicisi olduğu göz önünde tutularak, KOAH akut alevlenmesi tanısıyla hastaneye başvuran hastalarda etken olabilecek virüslerin rolünü tespit etmektir. Birden fazla etkenin tek bir reaksiyonla belirlenmesini sağlayan multipleks PZR yöntemi kullanılarak, etken olabilecek virüslerin hızlı ve güvenilir olarak saptanması amaçlanmıştır. KOAH alevlenmelerinde etken olabilecek virüslerin multipleks PZR yöntemi ile kısa sürede belirlenerek bunlara karşı çeşitli koruyucu önlemlerin alınması ile enfeksiyonlar engellenebilir. Bunun sonucunda alevlenmeler önlenebileceği gibi hastalık etkenlerinin tespit edilmesi ile gereksiz antibiyotik kullanımı engellenebilir ve KOAH'lı hastaların takip ve tedavisinde yol gösterici sonuçlara ulaşılabilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.KOAH

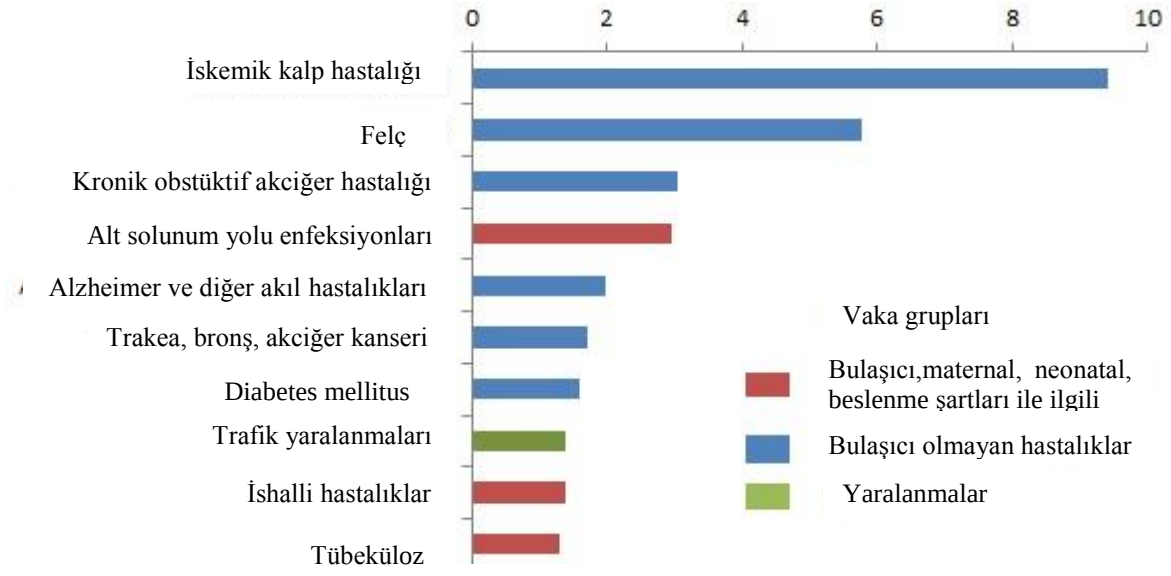
Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH); zararlı gaz ve partiküllere maruziyet sebebiyle oluşan, havayolları ve/veya alveoler anormalliklere bağlı kalıcı solunum semptomları ve hava akımı kısıtlılığı ile karakterize, yaygın, önlenebilir ve tedavi edilebilir bir hastalıktır [1].

KOAH'ın ana nedeni sigara kullanımı olmakla birlikte sigara içenlerin az bir kısmında KOAH gelişmesi genetik bir yatkınlığın olması gerektiğini düşündürür [2]. KOAH'ta en bilinen genetik bozukluk alfa-1 antitripsin (AAT) eksikliği olup sigara içenlerde AAT eksikliği panlobuler amfizem riskinde artışa yol açar [3]. Sigara kullanımı major risk faktörü olmasına rağmen, yine genetik duyarlılık temelinde çocukluk çağında geçirilen solunum yolu enfeksiyonları, astım, hava yolunun allerjik inflamasyonu, hava kirliliği ve yaş, KOAH gelişimi için diğer risk faktörleridir [2]. Önceleri erkek hastalığı olarak bilinen KOAH'ın son 20 yılda kadınlar arasında prevalansında ve mortalitesinde artış gözlenmiş ve bu da sigara içme alışkanlığındaki değişime bağlanmıştır [3]. Enfeksiyonlar KOAH gelişiminde primer rol oynamamakla birlikte, hastalığın ilerlemesinde önemli role sahiptir. Normalde steril olan akciğerler, KOAH'lı hastalarda potansiyel patojen mikroorganizmalar ile kolonize olabilir. Stabil KOAH ve akut alevlenme dönemlerinde enfeksiyonların rolü olduğu bilinmekle birlikte, altta yatan mekanizma açık olarak bilinmemektedir [4].

Hastalığın en sık görülen semptomları; nefes darlığı, kronik öksürük ve kronik balgam çıkarmadır [5]. Bazı hastalarda kronik öksürük ve balgam çıkarma olmaksızın hava akım kısıtlaması olabilir. Öksürük, başlangıçta aralıklı ve non prodüktüf iken ilerleyen dönemde her gün olabilir ve kronik kuru öksürük görülebilir. Balgam genelde yapışkan, çıkartılması zor ve mukoid özellikte olup, balgam pürülansı bakteriyel enfeksiyonu düşündürebilir. Semptomlar en fazla sabah saatlerinde olmakla birlikte, gün içinde ve günden güne değişiklik gösterebilir. Hışıltılı solunum ve göğüste sıkıntı hissi, kilo kaybı, yorgunluk, iştahsızlık, görülebilecek diğer belirtilerdir [6]. Genellikle orta ve ileri yaşları etkileyen KOAH'ta, fizik muayenede akciğerlerde aşırı havalanma belirtileri, yardımcı solunum kaslarının belirgin şekilde devreye girmesi, solunum seslerinde azalma, zorlu ekspiryumda belirginleşen yaygın wheezing bulguları görülür. Akciğer fonksiyon testlerine bakıldığında

vital kapasitede azalma, ekspiryum akım hızında azalma, rezidüel volüm, fonksiyonel rezidüel kapasite ve total akciğer kapasitesinde artma görülür. Arter kan gazı değerleri hipoksemi yönünde olmakla birlikte, ağır durumdaki bazı hastalarda kan gazı değerleri korunur [7].

KOAH, tam olarak geri dönüşümlü olmayan hava akım kısıtlaması ile karakterize bir hastalıktır. Bronkodilatör sonrası FEV_1 (saniyedeki zorlu ekspiratuar volüm)/FVC (Zorlu vital kapasite) oranı < % 70 ise, hava akımı kısıtlaması olarak tanımlanır [8]. Küçük hava yollarında daralmaya bağlı olarak akciğerlerin oksijenlenme kapasitesi düşer. Aynı zamanda alveolar yıkım sonucunda, akciğerin elastik geri çekim gücünde azalma meydana gelir ve bunun sonucunda akciğerler ekspirasyonda yeterince boşalamaz. Genellikle zararlı gazlara ve partiküllere karşı hava yolunun oluşturduğu ilerleyici ve anormal inflamatuar cevap görülür [4]. KOAH, tüm dünyada önde gelen mortalite ve morbidite nedenlerinden biridir. Dünya sağlık örgütüne (DSÖ) göre 65 milyon insan KOAH'lıdır ve 2016 yılında 3 milyon insan KOAH'a bağlı olarak hayatını kaybetmiştir. KOAH ile ilgili veriler genellikle gelir seviyesi yüksek ülkelerden elde edilmesine rağmen, bu ülkelerden de yeterli veri elde etmek güç ve maliyetlidir. KOAH'a bağlı ölümlerin yaklaşık % 90'ının düşük ve orta gelirli ülkelerde meydana geldiği bilinmektedir. Tüm dünyadaki ölüm nedenleri arasında 2000 yılı itibari ile KOAH dördüncü sırada bulunurken, 2016 yılında üçüncü sıraya çıkmıştır (Şekil 2.1.) [9].



Şekil 2.1. Tüm dünyada en sık görülen ilk 10 ölüm nedenine göre dağılım, 2016 [9].

Türkiye İstatistik Kurumu verilerine göre 2017 yılında ülkemizde meydana gelen ölümlerin % 12'si solunum sistemi hastalıklarına bağlı olarak gerçekleşmektedir. Solunum sistemi hastalıklarına bağlı meydana gelen ölümlerin % 49,51'i KOAH'a bağlı olarak gerçekleşmiştir. Toplam ölüm nedenleri içinde ölümlerin % 6'sını KOAH oluşturmaktadır. KOAH' a bağlı olarak gerçekleşen ölümlerin % 64,1'i erkek, % 35,9'unun ise kadın olduğu görülmüştür [10].

Hastalık genellikle yavaş seyirli olduğu için, hastalar erken dönemde ortaya çıkan belirtilerin sigara içimine veya yaşlanmaya bağlı olduğunu düşünürler. Bu sebeple de hastalığın ileri evrelerinde doktora başvururlar. KOAH, önemli bir halk sağlığı sorunu olmakla birlikte, yeterince bilinmemekte, teşhis edilememekte ve genellikle de yanlış tedavi edilmektedir [3].

2.2. Patogenez

KOAH patogenezinde, zararlı partikül ve gazlara karşı hava yolları ve akciğer parankiminde gelişen anormal inflamatuar yanıt temel rolü oynamaktadır. Bu anormal inflamatuar yanıta bağlı olarak, akciğerin normal tamir ve savunma mekanizmaları bozularak doku hasarı meydana gelir. Hastalığın ciddiyetine göre değişen kronik inflamasyonda rol alan esas hücreler; makrofaj, nötrofil ve CD8+T hücrelerdir. Hastalığın daha ileri evrelerinde küçük hava yollarının duvarında B lenfosit agregatları da meydana gelmektedir [4]. Makrofajlar daha çok lümende, bronş duvarı ve parankimde, nötrofiller hava yolu lümeninde, lenfositler ise parankim ve bronş duvarında artmıştır [11].

İnflamasyon predominant olarak akciğer parankimi ve küçük hava yollarında meydana gelmekle birlikte, stabil KOAH'lı hastaların bronş mukozasında makrofaj ve başta CD8+ T lenfositler olmak üzere lenfosit infiltrasyonunun arttığı görülmüştür [2]. Sigara içen ve KOAH gelişen bireylerde, sigara içen ancak hastalık gelişmemiş bireylere göre CD8+ T lenfosit artışının fazla olduğu ve alveolar yıkım ve hava yolu kısıtlılığının derecesi ile T lenfosit artışı arasında korelasyon olduğu belirlenmiştir. Normal akciğer fonksiyonlarına sahip olup sigara içen bireyler, sigara içmeyen kontrol grupları ile karşılaştırıldığında bu grupta da CD 8+ T hücre artışı olduğu görülmektedir [12].

KOAH'ta bu hücrelerin ne ölçüde patogeneze katkıda bulunduğu çok açık olmamakla beraber, bu hücreler ve hücrelerden salgılanan çeşitli mediatörler arasında bir etkileşim vardır. Makrofajların kemotaktik faktörler ve mediatörler ya da proteolitik enzimler üreterek KOAH'taki inflamasyonu yönlendirdiği düşünülmektedir [11]. Kemotaktik faktörler aracılığıyla hava yollarına çekilen nötrofiller, nötrofil elastaz, katepsin G, proteinaz 3 ve matriks metalloproteinazlar gibi çeşitli serum proteinazları sekrete ederler. Bu proteinazlar, alveolar yıkıma katkı sağlamak yanında, mukus sekresyonu için güçlü bir uyaran görevi görürler. Nötrofillerin KOAH patogenezinde oynadığı rol tamamen aydınlatılamamış olmakla birlikte, dolaşımdaki nötrofil sayısı ile düşük FEV_1 değerleri arasında ve benzer şekilde indüklenmiş balgam ve bronşiyal biyopsi örneklerindeki nötrofil sayıları ile hastalığın ciddiyeti ve akciğer fonksiyonlarındaki azalma oranları arasında ilişki olduğu görülmüştür. T lenfositlerin ise, salgıladıkları enzimler ve sitokinler ile hücre hasarına katkıda bulundukları ve inflamasyonun devamını sağladıkları düşünülmektedir [12].

KOAH'ta sigara dumanı anahtar role sahiptir. Sigara dumanı başta olmak üzere çeşitli çevresel ajanlar konak hücresel cevabı tetikler ve artmış inflamasyon ve oksidatif strese yol açar. Örnek olarak; sigara dumanında bulunan oksidanlar, nükleer faktör-κB bağımlı inflamatuar cevabı tetikleyerek inflamasyona katkıda bulunmanın yanında, indüklenebilir nitrik oksit sentetazı aktive eder ve peroksinitrit gibi oksidanların oluşumu ile alveolar zarara yol açarlar. Oluşan oksidatif stres ve artmıs inflamasyona ek olarak, sigara dumanında bulunan oksidanlar ile aktive olmuş inflamatuar hücreler ve akciğer hücreleri, özellikle elastaz tarafından elastinin parçalanmasına neden olmak üzere ektrasellüler matriks proteolizine yol açarlar [13].

KOAH'ta hastalığın ortaya çıkmasında bakteriyel ve/veya viral solunum yolu hastalıkları primer olarak sorumlu olmamakla birlikte, hastalığın ilerlemesindeki rolleri yadsınamaz [4]. Geleneksel kültür temelli çalışmalara göre, sağlıklı bireylerde bronşial ağaç sterildir ve yalnızca enfeksiyon sırasında potansiyel patojenler düşük düzeyde bulunabilir. Ancak son zamanlarda kültür bağımsız mikrobiyolojik analizler (16srRNA sekans analizleri gibi) sağlıklı bireylerde de bronşial ağacın steril olmadığını göstermiştir. Akciğer mikrobiyomu kalıcı olmayıp değişken bir özelliktedir [14]. Mikrobiyomun içeriğinin belirlenmesine bakteri inhalasyonu, mikroaspirasyon, direkt mukozal temas gibi mikrobiyal migrasyonu

etkileyen faktörler yada öksürük, mukosiliyer temizlenme, doğal yada kazanılmış immünite gibi savunma mekanizmaları veya bölgesel üreme şartları etkilidir [15].

Bozulmuş mikrobiyomun KOAH patogenezine katkı sağladığına inanılmakta olup, stabil KOAH'lıların alt solunum yolu örneklerinin % 29'unda, akut alevlenmelerin ise % 54'ünde potansiyel patojen mikroorganizmalar tespit edilmiştir [16,17]. Stabil dönemde en sık tespit edilen kolonizan bakteriler *S.pneumoniae, H.influenza ve M.catarrhalis*'dir [18]. Adenovirüs gibi bazı DNA virüslerinin latent enfeksiyon oluşturduğu kesin olarak bilinmesine rağmen, solunum yolu enfeksiyonuna neden olan RNA virüsleri ile kronik enfeksiyon ihtimali tartışmalıdır. Ancak hayvanlar üzerinde yapılan bir kaç çalışma, respiratuar sinsityal virüs (RSV) ile latent enfeksiyon oluşma olasılığını göstermiştir. İnsanlarda RSV latensisi ile ilgili kanıtlar sınırlı olmakla birlikte, KOAH'lı hastalarda yapılan bir çalışmada stabil ve alevlenme dönemlerinde toplanan solunum yolu örneklerinde % 24 ile % 28 oranında RSV RNA tespit edilmiştir. Bu hastalarda virüs tespiti ile inflamatuar mediatörlerin artışı arasında ilişki görülmüş, ancak virüs kopya sayılarının düşük olduğu görülmüştür. Bu bilgiler, KOAH'lı hastalarda düşük düzeyli bir persistant RSV enfeksiyonu olasılığını göstermiştir [19]. Latent adenoviral enfeksiyonun KOAH'taki rolünün incelendiği bir çalışmada ise hem stabil hem de akut alevlenme dönemlerinde eşit oranda tespit edildiği görülmüştür [20].

Mikrobiyotanın çeşitliliğindeki azalma ile inflamasyon artışı arasında ilişki bulunmaktadır. Bazı veriler, akciğer mikrobiyotasının KOAH'taki inflamatuar ve/veya immün süreçleri etkileyerek patogeneze katkı sağladığı fikrini uyandırmaktadır. Bilim insanlarının mikrobiyotadaki bozulma-inflamasyon döngüsüne ilişkin önerileri; viral hastalıklar, sigara dumanı ve diğer toksik maddelere bağlı olarak tetiklenen inflamasyonun hava yollarındaki mikroçevreyi değiştirdiği, değişen üreme şartlarına bağlı olarak akciğer mikrobiyotasının bozularak inflamasyon artışına yol açtığı şeklindedir [21].

2.3. Patofizyoloji

KOAH'ta farklı mekanizmalara bağlı olarak ortaya çıkan patolojik değişiklikler, çeşitli fizyolojik değişikliklerin oluşmasına yol açar. Bunlar; hava akımı kısıtlanması ve hava hapsi, mukus sekresyonunda artış, siliyer fonksiyon bozukluğu, gaz değişim anormallikleri, pulmoner hipertansiyon ve kor pulmonale ve sistemik etkilerdir.

Patogenezde rol alan birçok mediatör mukus sekresyonundaki artışla ilişkili olup, mukus hipersekresyonu, genişlemiş mukozal bezler ve goblet hücre sayısındaki artışa bağlı olarak gelişir. Kronik öksürük ve balgam çıkarma şikayeti, her zaman hava akımı kısıtlanması ile birlikte olmayabilir. KOAH'ın temel fizyolojik özelliği olan ilerleyici ve geri dönüşümsüz hava akımı kısıtlaması; hava yolundaki inflamasyon, ödem, fibrozis gibi nedenlerle hava yolundaki yapısal değişiklikler ve ekspiratuar itici gücün azalması sonucu oluşur. Hava hapsi ise, hava yollarındaki darlık, alveollerin hava yoluna uyguladıkları elastik geri çekilme basıncında ve ekspiratuar itici güçte azalmaya bağlı olarak inspirasyonla alınan havanın ekspirasyonda tamamıyla dışarı atılamaması durumudur. KOAH'ta hava akımı kısıtlaması en iyi spirometri ile ölçülmektedir [11]. KOAH'ta anormal gaz değişimi, ventilasyon/perfüzyon oranlarının dengesizliğine bağlı olarak ortaya çıkar. Gaz değişim anormallikleri, hiperkapni ve hipoksemi ile sonuçlanır ve hastalık ilerledikçe oksijen ve karbondioksit gaz değişimi kötüleşir. Hastalığın ileri evrelerinde hafif-orta şiddette pulmoner hipertansiyon gelişebilir. Esas olarak, küçük pulmoner arterlerin hipoksik vazokonstrüksiyonuna bağlı olarak oluşur ve progresif seyrettiği durumlarda sağ ventrikül dilatasyonu ve kor pulmonale ile sonuçlanabilir. KOAH'ta mekanizması kesin olmamakla birlikte, düşük şiddette sistemik bir inflamasyon da gelişmektedir. Sistemik inflamasyona bağlı olarak; iskemik kalp hastalığı, kalp yetmezliği, osteoporoz, anemi, diyabet, metabolik sendrom ve depresyon gibi komorbiditeler gelişebilir veya şiddeti artabilir. Ayrıca inflamasyon, iskelet kas atrofisi ve kaşeksi gelişimine katkıda bulunabilir [3].

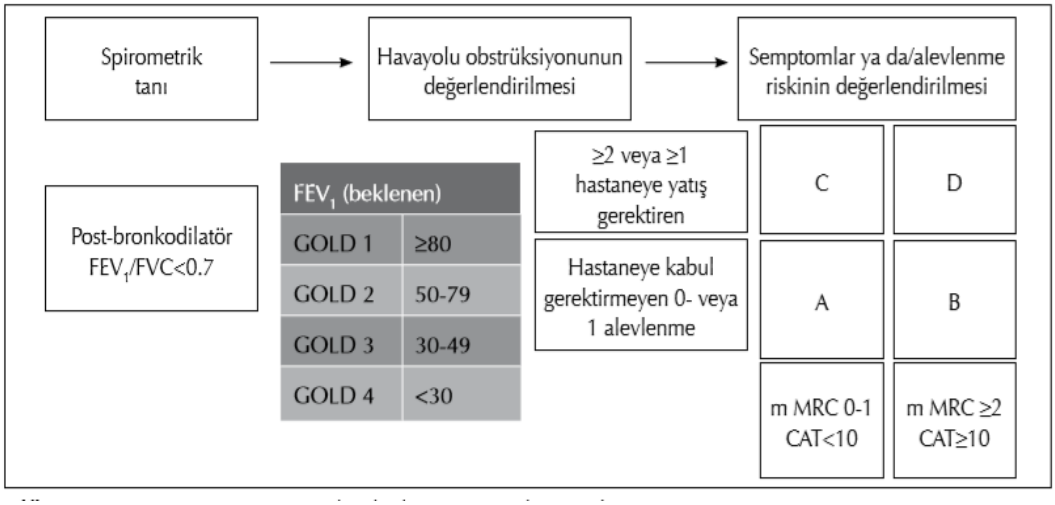
2.4. Hastalığın Değerlendirilmesi

Hastalığın şiddetinin belirlenmesi için; semptomların düzeyi, spirometrik olarak hava akımı kısıtlamasının durumu, alevlenme riski ve komorbiditelerin varlığının belirlenmesi gereklidir. Hastalık şiddetinin derecelendirilmesinde; semptomların değerlendirilmesiyle birlikte hastanın spirometrik olarak sınıflandırılması ve/veya alevlenme riskine dayalı birleşik değerlendirme sistemi GOLD (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease) tarafından önerilmektedir. Semptomları değerlendirmek için KOAH Değerlendirme Testi (COPD Assessment Test, CAT) veya mMRC Dispne Ölçeği (Modified Medical Research Council,) kullanılması önerilmektedir. Hava akım kısıtlanmasına göre KOAH ağırlığının sınıflandırılması, spirometrik değerlendirme olup; Çizelge 2.1'de görülmektedir. Spirometrik ölçümlerin kısa etkili bronkodilatör inhalasyonu sonrasında yapılarak, değişkenliğin en aza indirilmesi önerilmektedir [22]. GOLD 2017

raporunda birleşik değerlendirme sistemi güncellenmiş olup, farmakolojik tedaviyi yönlendirmede FEV_1 dışarıda bırakılmıştır. Bu durumda spirometrinin, tanı, prognoz takibi ve nonfarmakolojik tedavi takibinde kullanımı sürerken, farmakolojik tedavi kararının verilmesinde kullanımı önerilmemektedir. Bu yeni değerlendirme sistemi Şekil 2.2.'de görülmektedir [1].

Çizelge 2.1. Bronkodilatör sonrası FEV_1'e göre hava akımı kısıtlanmasının derecelendirilmesi (Bronkodilatör sonrası FEV_1/FVC< %70 olan hastalarda)

	Spirometri (bronkodilatör sonrası)
I: Hafif	$FEV_1 \geq$%80 (beklenenin)
II: Orta	%50 ≤ FEV_1 <%80 (beklenenin)
III: Ağır	%30 ≤ FEV_1 <%50 (beklenenin)
IV: Çok ağır	FEV_1 <%30 (beklenenin)



Şekil 2.2. GOLD (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease) 2017'ye göre yeni KOAH değerlendirme şeması FEV_1: Zorlu ekspiratuar volüm birinci saniye, FVC: Zorlu vital kapasite, mMRC: Modifiye Medical Research Council, CAT: KOAH değerlendirme testi

2.5. KOAH Akut Atağı

KOAH akut atağı, hastalığın semptomlarında ek bir tedavi gerektirecek, akut bir kötüleşme olması şeklinde tanımlanmaktadır ve alevlenmeler; hafif, orta ve ağır olarak 3 gruba ayrılmaktadır. Hafif alevlenmeler; kısa etkili beta$_2$ agonistler ile tedavi gerektirenler, orta alevlenmeler; kısa etkili beta$_2$ agonistlere ek olarak antibiyotikler ve/veya oral kortikosteroidler ile tedavi gerektirenler, ağır alevlenmeler ise acil servise başvuru veya hastanede yatış gerektiren durumlar olarak tanımlanmıştır [23]. Sık alevlenmenin en önemli belirleyicisi daha önce meydana gelen alevlenmelerdir. Alevlenme nedeniyle hastane yatışı mortalite riskinde artışa yol açmaktadır [6].

Alevlenmeler; sağlık durumunda bozulma, yaşam kalitesinin düşmesi, komorbid hastalıkların kötüleşmesi, sağlık kaynaklarının kullanımında, hastaneye yatış ve mortalite riskinde artışa neden olmaktadır. KOAH'ta majör tedavi yaklaşımı alevlenmelerin önlenmesi olup, alevlenme sıklığı, ağırlığı ve nedenleri iyi değerlendirilmelidir [24-27].

Ciddi KOAH alevlenmelerinin klinik ve ekonomik önemine rağmen, etiyolojisi ve mekanizması tam anlaşılamamıştır [26]. KOAH'ta alevlenme nedenleri; enfeksiyonlar, hava kirliliği, pulmoner emboli, kalp yetmezliği, pnömotoraks, düzensiz oksijen kullanımı, reflü ve/veya aspirasyon, kullanılan bazı ilaçlar (diüretikler, hipnotik ilaçlar), eşlik eden metabolik hastalıklar (diabetes mellitus, elektrolit dengesizlikleri), beslenme bozukluğu ve son dönem akciğer hastalıkları olarak sayılabilir [28]. Hava kirliliğinin arttığı dönemlerde KOAH' a bağlı mortalite ve hastaneye başvuru sıklığında artış görülmektedir [8].

KOAH alevlenmelerinde enfeksiyonlar önemli rol oynamaktadır. Viral ve bakteriyel enfeksiyonlar alevlenmelerin en önemli nedenleri arasındadır [29]. Önceki çalışmalarda, virüs araştırmaları, hücre kültürü ya da serolojik yöntemler ile yapıldığından, tanıdaki güçlüğe bağlı olarak virüslerin önemi tam olarak anlaşılamamıştır. KOAH alevlenmelerinde solunum yolu virüslerinin rolünü araştıran ve yukarıda bahsedilen konvansiyonel tanı yöntemlerinin kullanıldığı çalışmalarda, alevlenmelerde yaklaşık % 20 oranında virüs tespit edildiği görülmüştür [30]. Son yıllarda moleküler tanı yöntemlerindeki gelişmeler sayesinde PZR temelli çalışmalar, viral enfeksiyonların daha kolay tanımlanabilmesini sağlamıştır. Böylece viral enfeksiyonların önemi daha iyi

anlaşılmış olup, akut alevlenmelerin % 60'tan fazlasından viral enfeksiyonların sorumlu olduğu görülmüştür [31]. PZR yöntemi, hem nazal örneklerde hem de balgam örneklerinde kullanılabilmektedir. Balgamda virüs tespit oranı daha yüksek olmakla birlikte solunum yolu virüslerinin tespitinde balgam örneği nadiren kullanılır. Tanıda balgamın tercih edilmeme nedenleri; yeterli miktarda elde edilmesindeki zorluk ve yüksek vizkozitesi nedeniyle işlenmesinin zor olmasıdır [8,32]. KOAH'ta en sık belirlenen etkenler; rinovirüsler, influenza virüs, koronavirüsler, adenovirüs, respiratuar sinsityal virüstür [28]. Daha nadir olarak parainfluenza virüs ve insan metapnömovirüsü de tespit edilmiştir [26].

Akut alevlenmelerin mevsimsel değişimine bakıldığında kış aylarında daha sık olması ve alevlenmelerde semptom olarak öncelikle soğuk algınlığı belirtilerinin görülmesi, viral enfeksiyonlar ile alevlenmenin ilişkili olduğunu düşündürmektedir [33]. Viral enfeksiyonların toplumdaki prevalansının yüksek olduğu sonbahar ve kış aylarında KOAH alevlenmelerinin daha sık meydana geldiği ve bu periyotta KOAH olanların hastanede yatış oranlarında dramatik bir artışın olduğu görülmüştür [34]. Yapılan çalışmalarda virüsle indüklenen alevlenmelerde, virüs tespit edilmeyenlere göre semptomların daha ciddi olduğu, akciğer fonksiyon kaybında artış olduğu, hastanede yatış süresinin ve iyileşme periyodunun uzadığı görülmüştür [24]. Ayrıca virüs enfeksiyonu, önceden kolonize olmuş bakterilere bağlı alevlenmelere de yol açabilir. Alevlenmeye yol açan sebeplerin belirlenmesi, uygun antibiyotik veya antiviral kullanımının sağlanması açısından bilgi verebilir. Çünkü akut alevlenme tedavisinde uygunsuz olarak antibiyotik kullanımı yaygındır [26].

Daha önce yapılan çeşitli çalışmalarda, KOAH'lı hastalar ile kontrol grubu arasında viral solunum sistemi enfeksiyon insidansları açısından çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Bazı çalışmalarda KOAH'lı hastalardaki viral solunum yolları hastalıklarının insidansında herhangi bir artış görülmezken, diğer bazı çalışmalar, KOAH hastalarının viral solunum yolu hastalıklarına karşı daha duyarlı olduğunu öne sürmektedir [35,36]. Yapılan bir çalışmada alevlenme sıklığı ile soğuk algınlığı sıklığı arasında ilişki gösterilmiştir. Bu çalışmada; artmış alevlenme sıklığı, esas olarak soğuk algınlığı geçirme riskindeki artış ile ilişkili bulunmuştur. Bu durumdan esas sorumlu olan, hava yollarının soğuk algınlığına karşı artmış duyarlılığı değil, alevlenmeye sebep olan durumların soğuk algınlığı için predispozan faktör olarak rol oynamasıdır. Bu duruma sebep olan mekanizmanın ise, KOAH'lılarda nazal inflamasyonda artış olduğu ve buna bağlı olarak bazı hücre yüzey

reseptörlerinin (intraselliler adezyon molekülü-1) ifadelenmesinde artış meydana geldiği ve bu yüzey molekülleri de bazı virüsler için reseptör vazifesi gördüğü şeklindedir. Artmış soğuk algınlığı geçirme riskine sahip hastalar, daha fazla sigara dumanına maruz kalan kişilerdir. Aktif olarak sigara içme ile soğuk algınlığı virüslerinin kazanılması ve hastalık semptomları arasında ilişki gösterilmiştir [37].

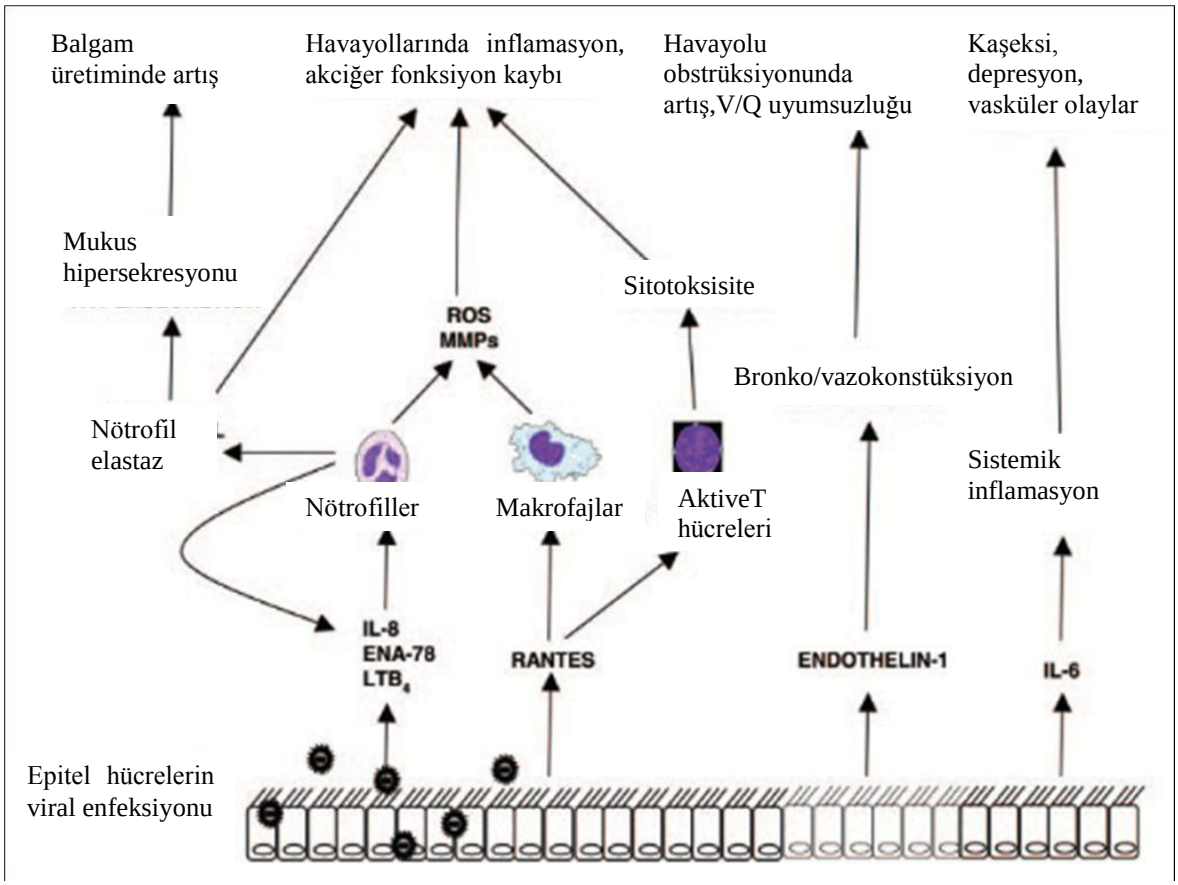
KOAH alevlenmelerinde sigara içmenin etkisi, solunum sistemindeki savunma mekanizmalarını etkileyerek olabilir. Sigara, doğal ve kazanılmış immüniteyi etkiler [38]. Sigaranın IgG'nin serum seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir. Sigara içen ve içmeyen kişiler arasında yapılmış bir çalışmada, sigara içen bireylerde daha düşük IgG seviyeleri tespit edilmiştir [39]. Ancak sigaranın T hücre cevabına etkisi konusunda ise çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Sigara dumanının solunum sistemindeki savunma mekanizması üzerine etkisini araştıran bir çalışmada, sıçanlar sigara dumanına maruz bırakılmış, sonuçta sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlarda akciğerdeki antijen sunucu hücreler olan dendritik hücrelerin sayısında dramatik bir düşüş ve kostimülatör molekül profilinde de değişim olduğu görülmüştür. Ayrıca sigara dumanının adaptif immünite üzerindeki etkisini görebilmek için, bu sıçanlara adenovirüs inokule edilmiş; CD4+ ve CD8+ T hücre sayısında azalma olduğu ve antijen spesifik immunglobulin üretiminin değiştiği görülmüştür. Sigaranın immün sistem üzerindeki bu etkisi, KOAH hastalarında viral solunum yolu enfeksiyon prevalansındaki artışı açıklayabilir [40].

2.6. KOAH Alevlenmelerinde Virüslerin Rolü

Virüsle indüklenen KOAH alevlenmelerinin mekanizması hakkında çok az bilgi olmakla birlikte, inflamatuar mediatörlerde, oksidatif streste ve hava yollarındaki inflamatuar hücre sayılarında artış olduğu gösterilmiştir [8].

Alevlenmelerde, stabil döneme kıyasla inflamatuar mediatörlerde artış olduğu görülmüştür. Özellikle IL-8, TNF-α, ENA-78, LTB4, endotelin-1 artan mediatörlerdir [41]. KOAH'ta rol alan birçok sitokin ve proteini kodlayan genler, nükleer faktör κB (NF-κB) tarafından düzenlenir. Alevlenmelerin, NF-κB nin transkripsiyonunun aktive olması ile ilişkili olduğu görülmüştür [42]. Rinovirüs enfeksiyonlarında NF-κB aktivasyonu, in vitro olarak gösterilmiş olup alevlenmelerde, solunum yolu virüslerinin proinflamatuar sitokinleri artırmadaki muhtemel mekanizmalarından biri bu olabilir [43].

KOAH'ta viral enfeksiyonlar; bir yandan epitel hücrelerinin deskuamasyonuna, mikrovasküler dilatasyona, ödem oluşumuna, inflamatuar hücre infiltrasyonuna, hastalığın ilerlemesine katkı sağlayan hiperinflamasyonun indüklenmesine yol açarken, diğer yandan mukosiliyer temizlenmede ve bakterilerin makrofajlar tarafından öldürülmesinde azalmaya, dolayısıyla da sekonder bakteriyel enfeksiyonların gelişmesine yol açar. Viral enfeksiyonlar doğal immün yanıtı uyararak, KOAH'a bağlı oluşan inflamasyonun daha da kötüleşmesine neden olur [4,25,28,41]. Virüs ile indüklenen KOAH alevlenmelerinin mekanizması Şekil 2.3'te görülmektedir.



Şekil 2.3. Virüsle indüklenen KOAH alevlenmesinin mekanizması. Epitel hücrelerinin viral enfeksiyonu sonucunda proinflamatuar sitokinler ve kemokinler salınır. İnflamatuar hücreler bölgeye gelir, toksik ürünler salınır, mukus sekresyonu artar ve doku hasarı oluşur. Endothelin-1 gibi bazı mediatörler direkt bronkokonstriksiyona ve vazokonstriksiyona yol açar, bunun sonucunda hava yolu tıkanıklığı ve gaz değişiminde bozulma meydana gelir [41]

2.7. Akut Atağa Neden Olan Viral Etkenler

2.7.1. Rhinovirus

Picarnoviridae ailesi, *Enterovirus* cinsi içinde yer alan rinovirüsler (RV), ilk kez 1950'lerde tespit edilmiş olup, üst solunum yolu hastalıklarının önde gelen nedenleri arasındadır. Soğuk algınlığının primer etiyolojik ajanı olan RV'ler zarfsız, pozitif polariteli RNA virüsleri olup, 11 protein kodlayan yaklaşık 7,2 kb büyüklüğünde genoma sahiptirler. Viral kapsid VP1, VP2, VP3 ve VP4 olmak üzere dört viral protein alt ünitesi içerir. Geriye kalan yapısal olmayan yedi adet protein ise virüsün replikasyonundan ve salınımından sorumludur [44].

Virüsün dış yüzeyinde bulunan VP1; immün cevabın majör hedefi olup, VP2 ve VP3 ile birlikte virüsün antijenik çeşitliliğinden sorumludur. Bir diğer yapısal protein olan VP4 ise, kapsidin içinde yer alır ve virüs genomu ile etkileşim halindedir [45]. Rinovirüsler, antijenik farklılıklarına göre RV-A ve RV-B olmak üzere iki grup olarak sınıflanmış, daha sonra, genomik sekans analizleri ile RV-C olarak üçüncü bir grup sınıflandırmaya eklenmiştir. Günümüzde, VP1 ya da VP4/VP2 proteinlerinin nükleotid analizlerine göre sınıflandırılmış 150'den fazla RV tipi olduğu bilinmektedir [46]. Bu tipler arasında RV-A ve RV-C bronşiyolit, astım ve pnömoni gibi daha ciddi klinik tablolara yol açmakta, özellikle de astımı ya da kistik fibrozisi olan çocuk hastalarda RV-C ile ilişkili olarak daha ciddi seyirli hastalık tablosu ortaya çıkmaktadır [47,48]. Virüsün konak hücre yüzeyine bağlanmadan sorumlu olan esas proteini VP1 olup, RV'lerin büyük bir kısmı hücre yüzey reseptörü olarak ICAM-1'i kullanır. Az bir RV tipi ise hücre yüzey reseptörü olarak düşük dansiteli lipoproteini kullanır [44].

Konak hücre tipine ve hücre yüzey reseptör tipine bağlı olarak endositoz yolu ile veya makropinositoz yolu ile hücre içine giren RV'lerin RNA'sı sitoplazma içine salınır [45]. Tek bir poliprotein şeklinde sentezlenen viral protein, yapısal ve yapısal olmayan proteinleri oluşturmak üzere proteolitik işleme uğrar. Viral proteinin işlenmesinden sonra, viral çoğalma için uygun ortam şartlarını oluşturabilmek amacıyla, viral proteazlar tarafından hücresel hedefler parçalanır ve bunun sonucunda hücresel protein sentezi bloke olur. Buna ek olarak; viral proteazlar diğer bazı hücresel faktörleri yıkıma uğratarak, virüsün çoğalmasına katkıda bulunmanın yanı sıra, aynı zamanda virüse karşı oluşan doğal

immün cevabı baskılar [49]. Virüs replikasyonu esas olarak 33˚C'de gerçekleşmekte olup, bu durum virüsün esas olarak üst solunum yolunda hastalık yapmasını açıklamaktadır. Ancak yapılan deneysel çalışmalar ile virüsün alt solunum yolunda etkili replikasyonu gösterilmiş olup, RV'nin üst solunum yoluna inokulasyonu sonrasında, bronkoskopi ve bronkoalveolar lavaj örneklerinde reverse transkriptaz PZR yöntemi ile virüs RNA'sı tespit edilebilmiştir [45].

Reverse transkriptaz PZR yöntemi kullanılarak yapılan epidemiyolojik çalışmalar, RV'nin toplumdaki esas kaynağının çocuklar olduğunu ve aile içi yayılmanın çok fazla olduğunu göstermiştir. Rinovirüs enfeksiyonu yıl boyunca görülebilir, ancak mevsimsel olarak pik yaptığı dönemler vardır ve bu dönemler, hava şartlarından ziyade, okul açılma dönemleri ya da tropikal bölgelerdeki yağmur sezonlarının başlamasıyla, kapalı ortamlarda bulunmayı gerektiren dönemler gibi sosyal davranışlar ile alakalı olarak meydana gelmektedir [50].

Direkt temas ve küçük ya da büyük aerosoller aracılığı ile kişiden kişiye bulaşan RV enfeksiyonunun yayılmasında, nazal sekresyonlar ile kontamine olmuş eller önemli rol oynar. Nazal kaviteye inokulasyonu takiben virüs, posterior nazofarenkse, özellikle de silialı epitel hücrelerine geçer. Viral enfeksiyon sonucunda, parasempatik sinir sistemi ve bazı inflamatuar yolaklar aktive olur. Konak cevabı, ortaya çıkan semptomların esas nedeni olup, virüsün bulaşmasını takiben 16 saat içinde semptomlar görülmeye başlar. Enfeksiyonun ilk belirtisi boğaz ağrısı olup diğer belirtiler; burun akıntısı, nazal konjesyon, hapşırma, öksürük ve baş ağrısıdır [51].

Üst solunum yolu enfeksiyonlarının en yaygın nedeni olan RV'ler esas olarak soğuk algınlığı etkeni olmakla birlikte, bu virüsün astım gelişiminde ve kronik solunum yolu hastalıklarındaki alevlenmelerle de ilişkili olabileceği görülmüş, infantlar ve çocuklarda ciddi bronşiyolite, yaşlılarda ve immün yetmezliği olan kişilerde ise ölümcül seyreden pnömonilere yol açabildikleri de tespit edilmiştir [52].

KOAH alevlenmelerinde en sık tespit edilen virüs RV'dir [53,54]. Rinovirüs enfeksiyonu, hava yolu epitel hücrelerinden kemokinlerin salınmasını ve inflamatuar hücrelerin bölgeye toplanmasını indükler. Önceden mevcut olan inflamasyonun üzerine, RV enfeksiyonu sebebiyle oluşan inflamasyonun da eklenmesi ile ek bir etki ya da sinerjistik bir etki oluşur

[55]. KOAH'lı hastalarda RV ile yapılan deneysel bir çalışmada; balgamda nötrofil sayısında, nötrofil elastaz ve IL-8 seviyelerinde artış gösterilmiştir. Virüs yükü ile serum, balgam ve bronkoalveolar lavajdaki inflamatuar mediatör ve nötrofil sayısı arasında da anlamlı bir korelasyon tespit edilmiştir [56]. Yapılan bir diğer çalışmada, KOAH alevlenmesi olan hastaların % 23'ünün alt solunum yolu örneklerinde RV tespit edilmiş ve artmış IL-6 seviyeleri ile karşılaşılmıştır. RV ile oluşan enfeksiyonun patogenezinde önemli rol oynayan artmış IL-6 seviyelerinin, KOAH'lı hastalardaki artmış alt solunum yolu inflamasyonu ve alevlenme semptomları ile ilişkili olduğu görülmüştür [57].

Virüs, hastalık semptomlarının başlamasından bir gün öncesi ve 6 gün sonrasına kadar örneklerden izole edilebilmekle birlikte, en çok semptomların 2. gününde izolasyon şansı yüksektir. Üst solunum yolu enfeksiyonunu araştırmak için, nazofarengeal sürüntü veya aspirat örnekleri ile nazal yıkama sıvıları tercih edilen örneklerdir. Alt solunum yolu enfeksiyonu için ise bronkoalveolar lavaj sıvısı, trakeal veya bronşiyal aspiratlar ile daha nadir olmakla birlikte akciğer biyopsi örnekleri de kullanılabilir [52]. Virüsün kültürü yapılabilmekle birlikte, zaman alıcı ve kompleks olması, yalnızca RV-A ve RV-B için yapılabilmesi, RV-C'nin in vitro kültürünün yapılamaması nedeniyle rutin tanıda kullanılmaz. Serolojik tanı ise virüsün çok fazla serotipinin olması sebebiyle anlamlı değildir [58].

Moleküler yöntemlerin kullanıma girmesiyle artan duyarlılıkla birlikte, klinik örneklerden RV tespiti kolaylaşmış, alt solunum yolunu etkileyen birçok hastalık ile RV'nin ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar reverse transkriptaz PZR tekniğinin geleneksel kültür yöntemine göre daha yüksek duyarlılığa sahip olduğunu göstermiştir [59]. Çoğu moleküler yöntemde, RV genomunun iyi korunmuş bir bölgesi olması sebebiyle 5'UTR (kodlama yapmayan bölge) ve VP4/VP2 bölgesini hedef alan yöntemler kullanılmaktadır [47,48,60-62].

Günümüzde, solunum yolu örneklerinden virüsün belirlenmesinde; kısa sürede sonuç veren ve yüksek duyarlılığa sahip gerçek zamanlı reverse transkriptaz PZR testi gibi yöntemler tercih edilmekte olup, bu yöntemler ile viral yük belirlenebildiği gibi, multipleks yöntem kullanılarak da solunum virüslerinin çoğu aynı anda tespit edilebilir [58]. Rutin tanıda, solunum yolu örneklerinde RV'yi de içeren multipleks PZR panellerini, birçok klinik laboratuvar artan oranda kullanmaktadır [52]. Alt solunum yolu hastalığı olan

kişilerin solunum yolu örneklerinde yüksek viral yük tespit edildiğini gösteren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Viral yük ile hastalığın ağırlığı arasında ilişki olduğu gösterilmiş ve bu sebeple kantitatif PZR testlerine ihtiyaç duyulmuştur. Bu amaçla geliştirilen gerçek zamanlı reverse transkriptaz PZR testleri ile virüsün tespiti ve kantitasyonunun sağalanmasının yanı sıra, bu testler, hastalığın seyrinin değerlendirilmesi, antiviral tedavi boyunca virüsün takibi ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin uygulanması için bilgiler sağlar [63,64].

Hızlı, yüksek duyarlılık ve özgüllükte sonuç veren gerçek zamanlı reverse transkriptaz PZR tekniğinin ve multipleks panaellerin rutin tanı laboratuvarlarında yaygın kullanımı ile RV epidemiyolojisi ve sebep olduğu hastalık spektrumu hakkında daha fazla bilgi elde etmek mümkün olmuştur [61,64].

2.7.2. İnfluenza virüs

Orthomyxoviridae ailesine ait, 80-120 nm çapında, yuvarlak görünümlü, helikal simetrili, negatif polariteli, parçalı genoma sahip, tek iplikli ve zarflı RNA virüsleridir [66]. İnfluenza virüslerinin A, B, C ve D olmak üzere dört tipi bulunmakta olup influenza A virüsü en geniş konak dağılımına sahip olan tiptir. İnfluenza A; kuş, köpek, domuz, insan ve at gibi birçok konağı enfekte edebilirken, influenza B sadece insanlarda hastalık oluşturur. İnfluenza C virüsü predominant olarak insanları enfekte etmekle birlikte, domuz, köpek, at ve sığırlarda da enfeksiyon oluşturabilir. İnfluenza D virüsü ise yakın zamanlarda domuz ve sığırlardan izole edilmiş olup, koyun ve keçilerde de tespit edilmiştir. İnfluenza A ve B'nin RNA'ları 8 parçalı iken, influenza C ve D'nin genomu ise 7 parçalıdır [67].

İnfluenza A ve B virüsünün sekiz segmentli RNA'sının, 2001 yılına kadar, nükleoprotein (NP), hemaglütinin (HA), nöraminidaz (NA), polimeraz bazik protein (PB)1, PB2, polimeraz asidik protein (PA), iki adet matriks proteini (M1 ve M2), yapısal olmayan proteinler (NS1) ve NS2 olmak üzere 10 protein kodladığı bilinmekteydi. Bu proteinlere ek olarak, 2001 yılında mitokondriyal protein (PB1-F2) ve 2012 yılına kadar 6 yeni protein (PB1-N40, PA-X, NS3, M42, PA-N155 ve PA-N182) daha tanımlanmıştır [68]. Polimeraz protein kompleksini oluşturan PB1, PB2 ve PA, RNA replikasyonundan sorumludur. Bir integral membran proteini olan HA, majör yüzey antijeni olup, konak hücre yüzeyinde bulunan sialik asit (N-asetil nörominik asit) reseptörlerine tutunmada görev alır. Virüsün

konak hücre reseptörlerine tutunması ile virion zarfı ile konak hücre membranının füzyonu gerçekleşir, virüs hücre içine girer ve RNA'sı hücre içine salınır, virüs replikasyonu başlar. İnfluenza virüsüsün ikinci majör yüzey antijeni olan NA, yine bir integral membran proteini olup, konak hücredeki sialik asiti parçalayarak, virüsün konak hücreden salınmasında ve yayılmasında görev alır. Alt tiplere özgü olan HA ve NA antijenleri, virüsün genetik çeşitliliğini belirler [69]. Şimdiye kadar tanımlanan 16 farklı HA ve 9 farklı NA alt tipi bulunmakta olup, insanlarda enfeksiyona neden olan üç HA (1,2,3) ve iki NA (1,2) tanımlanmıştır [70]. Konakta, virüsün HA antijenine karşı oluşan antikorlar nötralizan tipte olup virüse karşı koruyucudur. Benzer şekilde, NA'ya karşı oluşan antikorlar da koruyucu tipte olmakla birlikte, aynı zamanda virüsün yayılımını da önler [69].

İnfluenza virüslerinde, HA ve NA antijenlerindeki değişime bağlı olarak ortaya çıkan antijenik değişim sık görülür. Antijenik drift (antijenik kayma) denilen minör antijenik değişim, genlerdeki nokta mutasyonlara bağlı olarak ortaya çıkar. Oluşan mutasyona bağlı olarak proteinde amino asit değişimi meydana gelir ve böylece molekülün antijenik bölgesi değişmiş olur [71]. Yüzey proteinlerinde meydana gelen bu değişim sayesinde virüs, konak savunma sisteminden kaçabilir ve oluşan yeni suş salgınlara ve epidemilere yol açabilir [72]. Sadece tip A'da görülen antijenik şift (antijenik sapma) ise, farklı suşlar arasında gen parçalarının değişimi sonucu meydana gelir. İnfluenza virüsünün segmentli genoma sahip olması dolayısıyla, aynı hücreyi enfekte eden iki ayrı virüs arasında, gen segmentlerinin karışımına bağlı olarak, viral HA ve NA'da majör bir değişiklik ortaya çıkar. Genetik reassortment, yani gen parçalarının karışımı denilen bu durumda genlerdeki değişime bağlı olarak tamamen yeni antijenler üretilir ve oluşan bu yeni tipler de pandemilere yol açabilir [72,73].

İnfluenza genomunun kodladığı bir diğer protein olan M1; zarfın altında bulunur ve virüsün toplanması ve tomurcuklanmasını sağlar, internal membran proteini olan M2 ise virüsün soyulmasında rol alan iyon kanallarını oluşturur. Viral RNA nın 5.segmenti tarafından kodlanan NP, enfekte hücre nükleusuna geçerek viral RNA'ya bağlanır. Yapısal fonksiyonunun yanı sıra, NP, viral RNA polimeraz aktivitesinin mRNA sentezinden cRNA ve viral RNA sentezine kaymasında rol oynar [69]. İnfluenza virüsünün A, B, C olarak gruplara ayrılması, M ve NP antijenindeki farklılıklara göre yapılmaktadır [70]. Yapısal olmayan proteinlerden NS1; RNA transportu, RNA'nın kırpılması, translasyon ve

interferon sentezinin baskılanmasında, NS2 ise progeni nükleokapsidlerin sitoplazmaya taşınmasında rol alır [74].

İnfluenza virüsü, HA proteininin hücre yüzeyindeki sialik asit reseptörlerine bağlanmasını takiben, endositoz ile konak hücreye girer. Endozom içindeki asidik ortam, virüs soyulması için kritik öneme sahip olup, bunu iki şekilde gerçekleştirmektedir. İlk olarak; düşük pH'ya bağlı olarak, HA'da konformasyonel değişiklik meydana gelir ve füzyon peptidleri açığa çıkar. Bunun sonucunda viral zarf ile endozom membranının füzyonu gerçekleşir ve viral ribonükleoproteinler sitozole salınır. İkinci olarak ise; M2 iyon kanalları aracılığıyla, endozomdan, viral partikül içine hidrojen iyonları pompalanır. Bunun sonucunda, viriyon içinde asit ortam meydana gelerek, internal protein etkileşimleri bozulur ve viral ribonükleoproteinler sitozole salınır [75].

Diğer RNA virüslerinden farklı olarak, infuenza virüsü çekirdekte replike olur. Çünkü transkripsiyonda görevli olan RNA polimeraz kompleksinin (PB1, PB2, PA) hücresel RNA polimeraz tarafından metillenerek aktive edilmesi ve hücresel mRNA'nın 5'ucundaki cap bölgesinin primer olarak kullanılması gerekmektedir [74]. Negatif sarmallı viral RNA'nın transkriptlerinden biri sitoplazmaya salınarak mRNA olarak görev yaparken, diğer transkript çekirdekte progeni viral RNA için kalıp görevi görür. Sentezlenen yüzey proteinleri (HA,NA, M2) golgide glikozillenerek hücre membranına taşınırken, PA, PB1, PB2, NP ise çekirdeğe geri taşınarak viral RNA sentezinde görev alır. Çekirdeğe geri taşınan M1 proteini, viral RNA sentezini durdururken, NS2 proteini yeni sentezlenen nükleokapsidlerin sitoplazmaya salınmasında görev yapar. Sitoplazmaya salınan nükleokapsidler, HA ve NA ile birleşerek hücrenin sitoplazmik membranından zarfını kazanarak salınır [76].

İnfluenza yüksek enfeksiyöz bir hastalık olup, pandemi, epidemi, salgın ya da sporadik vakalar şeklinde karşımıza çıkabilir. İnsan enfeksiyonlarının çoğunluğu tip A ve B virüsleri ile ortaya çıkmakta olup, tip A ile geniş pandemi ve epidemiler, tip B ile daha çok bölgesel epidemiler meydana gelir. İnfluenza tüm dünyada görülebilmekte olup, prevalansı kış aylarında artar [77].

İnfluenza virüsünün insanlara bulaşı; solunum yolu damlacıkları, 5 μm'den küçük aerosoller ve kontamine eşyalar ile indirekt temas olmak üzere üç yolla meydana gelir

[78]. Asemptomatik enfeksiyondan, ciddi solunum yolu enfeksiyonlarına kadar değişebilen klinik görünüme yol açabilen influenza enfeksiyonu, ilk olarak trakeabronşiyal epitel hücrelerinde meydana gelir. Akut enfeksiyon 1-5 günlük inkübasyon sonunda ani olarak başlar. Yüksek ateş 38-40°C'yi bulur, titreme, öksürük, baş ağrısı, kas ağrısı, halsizlik, boğaz ağrısı ve diğer spesifik olmayan belirtiler görülür, ateş 3-5 gün sürer, ancak kuru öksürük ve halsizlik daha uzun süre devam eder [79].

İnfluenza virüsünün isimlendirilmesi önemli olup, DSÖ önerisi doğrultusunda yapılmaktadır. Virüsün nükleoprotein antijenik tipi, konakçı orjini (insandan izole edilen suşlarda kullanılmaz), ilk izole edildiği yer, suş numarası, izolasyon yılı ve sadece influenza A için HA ve NA alt tipleri yazılarak isimlendirilir. Örnek: A/Shanghai/11/87 (H3N2); virüsün A tipinde olduğunu, Shanghai'de 1987 yılında, 11 numaralı suş olarak izole edildiğini, H3; HA antijenini, N2 ise NA antijenini ifade eder [80].

İnfluenza A virüsünün geniş bir konak dağılımına sahip olmasının yanı sıra, antijenik shift görülme sıklığına bağlı olarak, pandemik suşların ortaya çıkma oranı yüksektir [69]. İnfluenza A virüsü 20. yüzyılda üç büyük pandemiye neden olmuştur. Bunların ilki, 1918-1919 yıllarında A (H1N1) alt tipinin neden olduğu İspanyol gribidir. Bu pandemide 50 milyondan fazla kişi hayatını kaybetmiştir. Bu salgındaki yüksek ölüm oranı, bakteriyel pnömoni ile ilişkili görünmekle birlikte, ko-patojenik mekanizma tam olarak bilinmemektedir. İlk olarak gerçekleşen 1918 pandemisinden sonra, 1957-1958 yıllarında A (H2N2)'nin neden olduğu Asya gribi görülmüştür. Üçüncü olarak, 1968-1969'da görülen Hong Kong gribindeki alt tip ise A (H3N2) olarak belirlenmiştir [81,82]. Çin'in güneyinde, 1996 yılında, ilk olarak tavuklarda ortaya çıkan A (H5N1), takip eden sene içinde Hong Kong'da 18 insanda görülmüş ve 6 kişinin ölümüne sebep olmuştur. 2003 yılında A (H5N1), üç kıtada, 60 ülkeyi etkilemiş, 489 insan vakasında 289 ölüm meydana gelmiştir. Ancak virüsün insandan insana bulaş yeteneği olmaması dolayısıyla bir pandemiye dönüşmeden kontrol altına alınmıştır. Yirmibirinci yüzyılın ilk büyük pandemisi 2009 yılında, domuz kaynaklı influenza A (H1N1) suşu ile meydana gelmiştir [82]. İlk olarak Meksika'da ortaya çıkmış, kısa sürede Amerika Birleşik Devletleri'ne yayılmıştır. Daha sonra, kıtalar arası yayılım göstererek tüm dünyayı etkilemiştir. DSÖ verilerine göre, bu salgın sırasında milyonlarca vaka rapor edilmiş ve en az 16.813 ölüm vakası bildirilmiştir [82,83].

KOAH'lı hastalarda, influenza virüsüne karşı artmış duyarlılığın mekanizması tam olarak anlaşılamamış olmakla birlikte, influenza virüsü, KOAH alevlenmelerinde, mortalite ve morbiditede artışa yol açmaktadır. İnfluenza virüsleri, enfeksiyon sırasında konak hücre sinyal yollarını kullanır. Bu yollardan biri olan fosfoinosit 3 kinaz (PI3K) sinyal yolu, virüsün hücreye girişinde kritik öneme sahiptir. Bu yolun inaktivasyonu, virüsün hücreye tutunmasını engellememekle birlikte, hücre içine girişini önler. Ayrıca virüsün replikasyonu da, PI3K aktivasyonuna bağlı olup, artmış virüs replikasyonu ve NS1 protein üretiminde artışa yol açar. Viral NS1 proteini, interferon cevabının inhibe olmasına ve dolayısıyla azalmış antiviral cevaba neden olur. KOAH'lı hastalarda, PI3K'nın hiperaktivasyonu görülmekte olup, bu durum KOAH hastalarının influenza virüslerine karşı olan duyarlılığını açıklayabilir. İnfluenza virüsü ile enfekte olan KOAH'lı hastalarda, inflamasyonda ve akciğer fonksiyon kaybında artış görülmüştür [84]. İnfluenza aşılarının yaygın kullanımına bağlı olarak, KOAH atağı sebebi ile acile başvuru sayısında, hastanede yatış oranında ve mortalitede azalma görülmektedir [85].

Salgınlara neden olma potansiyeli sebebiyle büyük bir halk sağlığı sorunu yaratan influenza virüslerinin hızlı tanısı oldukça önemlidir. Virüsün laboratuvar tanısındaki başarı; toplanan örneğin kalitesine ve laboratuvarda işleme alınıncaya kadarki süreçte taşıma ve saklama koşullarının uygun olmasına bağlıdır [86]. İnfluenza tanısında virüs izolasyonu, nükleik asit amplifikasyon testleri, immunokromatografik hızlı tanı testleri gibi birçok tanı yöntemi kullanılabilmektedir [87]. Örnekler, hastalığın ilk dört günü içinde toplanmalıdır [88]. Tanı için altın standart olan geleneksel viral kültür yönteminde; hücre kültürü veya embriyonlu yumurta kullanılmakta olup, hücre kültüründe virüsler tipik sitopatik etki oluştururlar. Viral kültür, yüksek duyarlılığa sahip olmasına rağmen, 3-10 gün sürede sonuç vermesi sebebiyle rutin tanıda tercih edilmemektedir [87,88]. Virüs izolasyonu için gerekli klinik örnekler alınamadığı durumlarda veya virüs izolasyonu yapılamayan laboratuvarlarda, serolojik tanı yöntemleri kullanılmaktadır. Hemaglütinasyon inhibisyon gibi serolojik tanı yöntemleri, virüsün tiplendirilmesinde ve antijenik özelliklerinin belirlenmesinde kullanılmakta olup, akut faz serum örnekleri, semptomlar ortaya çıkar çıkmaz, konvelasan serum örnekleri ise 2-4 hafta sonra alınmalıdır. Olası salgın durumları haricinde, tek serum örneği tanı için güvenilir değildir [86]. İnfluenza virüsünün NP antijenini saptamaya yönelik hızlı testler de geliştirilmiş olup, 15-30 dakika içinde sonuç veren bu testler, immunkromatografik kaset testler ya da direkt immün floresan testleridir. Hızlı tanı testleri ile sadece influenza A ve B ayrımı

yapılabilmekte, ancak alt tip ayrımı yapılamamaktadır. Son yıllarda, moleküler tanı testleri influenza tanısında daha sık kullanılmaya başlanmıştır. En yaygın kullanılan yöntem; gerçek zamanlı reverse transkriptaz PZR tekniğidir. Bu yöntemle, direkt klinik örnekten ve virüs kültüründen influenza tanısı ve tiplendirilmesi yapılabilmektedir [74]. Tanıda kullanılan PZR tekniği, hastalık semptomlarının ortaya çıktığı ilk gün, klinik örnekteki viral RNA'nın tespit edilebilmesini sağlayarak salgınların önlenmesinde ve aynı zamanda salgınlar sırasında yüksek duyarlılığa ve özgüllüğe sahip olmaları sebebiyle etken olan tipin kısa sürede belirlenmesine olanak sağlamaktadır [89,90].

Gerçek zamanlı PZR tekniğinin tanıda kullanıma başlaması ile mikrobiyolojik tanıda devrim sağlanmış; virüsün tespit edilmesinin yanı sıra, kantitasyonunun da yapılabilmesi ile vireminin takip edilmesi ve antiviral tedavinin takibine olanak sağlamıştır. Son olarak geliştirilen multipleks PZR yöntemi ile tek bir klinik örnekteki influenza virüsü ile diğer solunum yolu hastalık etkeni olan virüslerin tek bir reaksiyon ile hızlı tanısı mümkün olmuştur [89]. İnfluenza tanısı için Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmış çoğu moleküler tanı testi, multipleks PZR tekniğini kullanmakta olup, bu testler ile aynı örnek içindeki influenza A ve B virüsün her ikisi ve inluenza A virüsünün alt tipleri aynı anda tespit edilebilmektedir [91].

Mevsimsel salgınlar ve pandemiler sırasında ortaya çıkan yeni varyantların kısa sürede ve doğru olarak tanımlanmasının sağlanması, uygun antiviral tedavinin erken başlanması ve etkin enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınabilmesi açısından oldukça önemli olup, dünyada birçok laboratuvar rutin tanı testi olarak yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip, 2-4 saat içinde sonuç veren reverse transkriptaz PZR testini kullanmaktadır [87].

2.7.3. Respiratuar sinsityal virüs

Paramyxoviridae ailesi *Pneumovirüs* cinsi içinde yer alan respiratuar sinsityal virüs (RSV) negatif polariteli, tek zincirli, zarflı bir RNA virüsüdür. İlk kez 1956 yılında üst solunum yolu enfeksiyonu olan bir şempanzeden izole edilmiş olan bu virüs, hücre kültürlerinde sinsitya oluşturması nedeniyle bu ismi almıştır [92]. Segmentsiz olan genomu 11 adet protein kodlar. Zarfta; glikozile olmayan M (matriks) proteini, SH (küçük hidrofobik) proteini, F (füzyon), G (glikozil) proteini olmak üzere dört adet protein bulunur. Füzyon ve glikozil proteini virüsün infektivitesi ve patogenezi için önemli olup, G proteini, konak

hücreye virüsün tutunmasında rol alırken, F proteini ise viral ve hücresel membranların füzyonu ile virüsün penetrasyonu ve yayılımını sağlar [93]. Fosfoptotein (P) ve L (büyük veya polimeraz) proteini replikasyon ve transkripsiyonda yer alırken, N (nükleoprotein) nükleokapsidin ana yapısal proteinidir. Ayrıca NS1 ve NS2 olmak üzere iki adet yapısal olmayan proteini vardır [94]. Virüs, G proteinindeki amino asit sekans farklılıklarına göre A ve B olmak üzere iki gruba ayrılır [93].

Nazofarengeal ve konjonktival yoldan organizmaya giren virüs hızlı bir şekilde solunum yolundaki siliyalı epitel hücrelerini enfekte eder. Virüs, G proteini ile hücresel reseptörlerine bağlanır, F glikoproteini aracılığıyla konak hücre membranı ile viral zarfın füzyonu meydana gelir ve virüsün nükleokapsidi konak hücre içine girer ve replikasyon başlar [95].

Respiratuar sinsityal virüs, infant ve küçük çocuklardaki alt solunum yolu hastalığının en önemli nedeni olup, bu virüsün sebep olduğu epidemiler yaygın olarak görülür [96]. Her bir epidemide, dolaşımda her iki tip RSV birlikte görülebilmekte, fakat genellikle tek bir tip dominant olarak belirlenmektedir. Viral tipin hastalık şiddeti ile ilişkisi tartışmalı olup, bazı çalışmalarda viral tip ile hastalık şiddeti arasında bir ilişki tespit edilememişken, bazı çalışmalarda ise, RSV-A ile meydana gelen hastalığın daha ağır seyirli olduğu gösterilmiştir [97-100]. Epidemiler genellikle Kasım-Nisan ayları arasında olup, Aralık, Ocak ve Şubat aylarında pik yapar [101]. Toplumda, genellikle 16-22 hafta boyunca dolaşımda kalan RSV, tropikal bölgelerde tüm yıl boyunca görülmekle birlikte, en fazla yağmur sezonunda görülür [102]. Pediatrik grupta en sık karşılaşılan solunum yolu patojeni olup, infantların yaklaşık üçte ikisi bir yaşına kadar, % 90'ı ise iki yaşına kadar bu virüsle karşılaşmış olur. RSV tüm yaş gruplarında solunum yolu hastalığı yapmakla birlikte, özellikle immün yetmezliği olan kişilerde ciddi mortalite ve morbidite nedenidir. Çocukluk döneminde görülen bronşiolit, bronşit, pnömoni ve krup RSV'ye bağlı olarak gelişir [103].

Kişiden kişiye bulaş, genellikle nazal sekresyonlar ile gerçekleşmekte olup, aerosoller bulaşta daha az öneme sahiptir. Virüsün ellerde ve katı yüzeylerde birkaç saat stabil kalabilmesi nedeniyle, kontamine materyaller aracığıyla bulaş da söz konusudur [102].

Virüs 4-5 günlük inkübasyon süresinden sonra, takip eden bir kaç gün içinde alt solunum yollarına yayılır. Burun akıntısı, öksürük ve hafif ateş yaygın görülen belirtilerdir. Enfeksiyon büyük oranda solunum yolu epitelinin yüzeysel hücrelerinde sınırlıdır. Alt solunum yolundaki virüsün hedefi olan hücreler; bronşiyollerdeki silialı epitel hücreleri ve alveollerdeki tip 1 pnömositler olup, virüsün enfekte ettiği diğer hücreler siliasız epitel hücreleri ve intra epitelyal dendritik hücrelerdir. Bronşiyoler epitel hücrelerinde proliferasyon, bronşiyoler ve pulmoner arteriyollerde monosit ve T hücre infiltrasyonu, vasküler yapılar ile hava yolları arasında ise nötrofil infiltrasyonu meydana gelir [103]. Viral sitotoksisite ve konakta meydana gelen humoral ve sitotoksik T hücre cevabına bağlı olarak solunum yolu epitel hücrelerinde nekroz ortaya çıkar. Bu hücrelerde meydana gelen harabiyete bağlı olarak küçük hava yollarında tıkanıklık, mukus üretiminde artış, havayollarında ödem meydana gelir [95].

Respiratuar sinsityal virüs enfeksiyonu sonrası serum ve solunum yolu sekresyonlarında IgM, IgG ve IgA antikorları bulunur. Bu antikorlar, var olan enfeksiyonun temizlenmesinde önemli olmakla birlikte, kişiyi reenfeksiyondan korumaz. Ancak oluşan reenfeksiyonun sıklığı ve şiddeti daha az olur. Anneden geçen RSV antikorları aracılığıyla, yaşamın ilk ayında enfeksiyonların görülmemesi ve risk altındaki infantlara yüksek titreli RSV immunglobulin uygulanması ile hastalığın şiddetinde ve insidansında azalma görülmesi, bu antikorların koruyuculuğunu göstermektedir. Ayrıca immün sistemin hücresel kısmında sorun olan hastalarda, ciddi morbidite ve enfeksiyöz virüs yayılımında uzama görülmüştür. Bu da, enfeksiyonun temizlenmesinde hücre aracılı immünitenin önemli olduğunu göstermektedir [101].

Rinovirus, influenza virus, koronavirus gibi viral patojenler daha çok KOAH alevlenmelerinde tespit edilirken, RSV hem KOAH alevlenme dönemlerinde, hem de stabil dönemde tespit edilmektedir [104]. KOAH gelişiminde RSV'nin rol oynayıp oynamadığı tam olarak belirlenememiştir. Ancak bu virüs, solunum yolu epitel hücrelerini enfekte ederek, KOAH'lı hastalarda, hastalığın ve inflamasyonun ilerlemesine ve FEV_1'de azalmaya katkı sağlar. Respiratuar sinsityal virüs, KOAH'lı hastaların akciğerlerinde persistan olarak kalabilir ve bu durum, virüsün hastalık patogenezindeki muhtemel rolünü açıklar [105]. Enfeksiyon sırasında IL-6, IL-8 gibi inflamatuvar hücreler, myeloperoksidaz ve nötrofil aktivitesini gösteren belirteçlerde artış, inflamasyonda artış ve akciğer

fonksiyonlarında azalma olur. Tüm bu durumlar RSV enfeksiyonunun, KOAH'lı hastalarda, hastalık şiddetini artırdığı görüşünü desteklemektedir [106].

Virüsün tanısı için kullanılan yöntemler; antijen tespitine yönelik kullanılan hasta başı hızlı antijen testleri, direkt floresan antikor testleri, viral kültür ve moleküler testlerdir. Tanıda kültür için; virüs içeren yıkantı sıvıları ve aspiratlar, hızlı antijen testleri için; nazofarengeal sürüntü örnekleri ve aspiratlar, direkt floresan antikor testi için; yeterince epitel hücresi içeren sürüntü örnekleri, polimeraz zincir reaksiyonu testi için nazofarengeal aspirat ve sürüntü örnekleri tercih edilmektedir [107].

Virüs kültürünün 3-7 gün sürmesi ve deneyimli personel ihtiyacı olması gibi sebeplerden dolayı sadece referans ve araştırma laboratuvarlarında kullanılmaktadır [92]. Hızlı antijen tespitine dayalı hasta başı testler, RSV tanısında en yaygın kullanılan tanı aracıdır. Bu testlerin kullanımının kolay olması ve hızlı sonuç alınması en büyük avantajlarıdır [108]. Hızlı antijen testleri; kromatografik immunoassay, enzim immunoassay ve optik immunoassay olmak üzere üç tiptir. Bu testlerin çoğunda hedef; RSV-F yüzey glikoproteini ve nükleokapsid proteinidir [107].

Moleküler tanı yöntemleri virolojideki tanı prosedürlerini tamamen değiştirmiş olup, RSV tanısında duyarlılığı ve özgüllüğü en yüksek yöntemler olarak karşımıza çıkmaktadır. Yapılan karşılaştırmalı çalışmalar, moleküler tanı testlerinin, kültürden virüs izolasyonu ve antijen tespitine dayalı testlere göre yüksek duyarlılığa sahip olduğunu göstermiştir. Çocuklarda primer enfeksiyon sırasında, uzun süre ve yüksek miktarda virüs bulunur ve virsün tespiti daha kolaydır. Ancak takip eden enfeksiyonlarda, daha az miktarlarda ve kısa süre virüs saçılımı olduğunu ve artan yaş ile birlikte RSV tespit oranlarının düştüğünü gösteren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Düşük virüs üretimi olan yetişkin yaş grubundaki bu hastalarda, yüksek duyarlılığa sahip moleküler tanı teknikleri, RSV tanısında önemli rol oynamaktadır [109]. Nükleik asit amplifikasyon tekniklerinden biri olan reverse transkriptaz PZR tekniği, rutin tanıda giderek artan oranlarda kullanılmaktadır [110]. Günümüzde ticari olarak elde edilebilen, FDA tarafından onaylanmış, duyarlılıkları % 84 ile % 100 arasında değişen birçok moleküler tanı testi bulunmaktadır. Bu testlerden bazıları RSV tipleri arasında ayrım sağlarken bazıları tip ayrımı yapmaz ya da örneğin influenza virüs A/B ile birlikte RSV tanısına olanak sağlar ya da diğer solunum yolu virüslerini de içeren geniş bir panelin aynı anda tanısına imkan veren multipleks panel

şeklinde bulunur [107]. Respiratuar sinsityal virüsü de içeren ilk multipleks tanı paneli, 2008 yılında FDA tarafından onaylanmıştır ve bu testlerdeki hedef bölge virüsün nükleoprotein genidir [108,111]. Ticari olarak elde edilen PZR testlerinin çoğu, birden fazla patojenin tespitini sağlayan multipleks PZR şeklinde olup, bu yöntemler sayesinde yetişkin hastalardan RSV izolasyon sıklığında artış görülmüştür [112]. Rutin tanıda yüksek duyarlılıktaki monopleks ya da multipleks PZR yöntemlerinin kullanımı ile solunum yolu hastalıklarının önemli bir kısmına tanı koyulması sağlanmış, RSV ile ilişkili enfeksiyonların yaklaşık yarısında tabloya iki ya da daha fazla sayıda virüsün eşlik ettiği görülmüştür. Real time PZR tekniğinin kullanımı sayesinde klinik örnekteki virüsün kantitasyonu sağlanabilmekte olup, yüksek viral yük ile daha ciddi seyirli RSV enfeksiyonu arasında ilişki olduğunu tespit eden çalışmalar bulunmaktadır. Birden fazla virüsün bulunduğu örneklerde, yüksek viral yükün tespit edilmesi, esas olarak hastalık etkeni olan virüsün belirlenmesinde yardımcı olabilir [109].

2.7.4. İnsan metapnömovirüsü

Paramyxoviridae ailesi, *Metapneumovirüs* cinsi içinde yer alan; zarflı, negatif polariteli bir RNA virüsü olan insan metapnömovirüsü (hMPV), ilk kez 2001 yılında, üst solunum yolu enfeksiyonu olan çocukların klinik örneklerinden tanımlanmıştır [113]. Virüsün dış ortam şartlarına karşı dayanıksız olması ve klasik hücre kültürlerinde üretilememesi, hMPV'ün keşfinin geç olmasına yol açmıştır [114].

Viral genom yaklaşık 13 kb büyüklüğünde olup, 9 yapısal protein kodlar [115]. Viral genom tarafından kodlanan proteinler; füzyon glikoproteini, nükleoprotein, tutunma glikoproteini, fosfoprotein, matriks proteini, küçük hidrofobik glikoprotein, viral polimeraz, transkripsiyon faktörü ve RNA sentezi düzenleyici faktördür. Küçük hidrofobik glikoprotein, füzyon glikoproteini ve tutunma glikoproteini, viral zarfta bulunan yüzey proteinleri olup, füzyon ve tutunma proteinleri konak hücre reseptörlerine tutunma ve hücreye girişten sorumludur [116]. Heparan sülfat ve integrinleri reseptör olarak kullanarak hücreye girişi takiben, viral nükleokapsid sitoplazmaya salınır ve viral replikasyon başlar [115].

Yapılan genom analizlerine göre hMPV'nin A ve B olmak üzere iki genotipi, her bir genotipin; A1, A2, B1 ve B2 olmak üzere iki alt grubu bulunmaktadır. Bu alt gruplardan

A2; A2a ve A2b olmak üzere tekrar iki alt grup oluşturacak şekilde ikiye ayrılır. Alt grup ayrımları temel olarak, tutunma ve füzyon proteinlerindeki sekans çeşitliliğine göre yapılmaktadır [116]. Bunlardan füzyon proteini, genotipler arasında % 93-95 aminoasit benzerliği gösterirken, genotip içinde de % 97 oranında amino asit benzerliğine sahiptir. Bunun aksine, tutunma proteininde ise gruplar arası % 30-35, grup içinde ise % 70 oranında amino asit benzerliği bulunmaktadır [117]. Genetik olarak avian (kuş) pnömovirüsü (APV) serotip C'ye çok benzer olan hMPV, tavuk ve hindilerde hastalık oluşturmayıp, sadece insanlarda hastalığa yol açması açısından AVP'den ayrılır [114].

Tüm dünyada görülmekte olan hMPV, ılıman iklimlerde; diğer solunum yolu patojenlerinde olduğu gibi kış aylarında, güney yarım kürede; yaz aylarında, subtropik bölgelerde ise ilkbahar ve erken yaz döneminde dolaşımda yaygın olarak görülür [117]. Enfeksiyoz aerosoller ile veya direkt temas ile kişiden kişiye bulaşan hMPV, esas olarak pediatrik yaş grubunu etkileyen bir virüs olup, 5 yaşına kadar çoğu çocuk bu virüs ile enfekte olur [118]. Çocuklarda RSV enfeksiyonuna benzer bir klinik tabloya yol açan hMPV, hafif üst solunum yolu hastalığından, bronşiyolit ve mekanik ventilasyon gerektirecek ağır pnömoniye kadar değişen tablolara yol açabilir. En yaygın görülen belirti; ateş nöbetleri ve hırıltılı solunumdur. Bunun yanı sıra, otitis media, konjonktivit, farenjit ve larenjit görülebilecek diğer durumlardır. Yetişkinlerde, sağlık durumu ve yaşa göre klinik görüntü değişmekte olup, influenza benzeri hastalık ve soğuk algınlığı semptomları görülür [119].

İnsan metapnömovirüsünün patogenizi ile ilgili çok az deneysel çalışma bulunmakla birlikte, virüs hem üst solunum yolu, hem de alt solunum yolu hücrelerinde çoğalabilmektedir. Ancak etkilediği hücre tipi tam olarak bilinmemektedir. Makak maymunları ile yapılan bir çalışmada; virüsün en çok silialı epitel hücrelerini etkilediği ve antijenlerin tüm solunum yolunda bulunmakla birlikte, epitel hücrelerinin apikal yüzeylerinde yoğunlaştığı gösterilmiştir [120]. Yapılan çalışmalar sonucu hPMV enfeksiyonu sırasında; solunum yolu epitel hücrelerinde hasar, akciğerlerde hyalen membran oluşumu, silia kaybı, mukus üretiminde artış ve akciğerde inflamasyon geliştiği gösterilmiştir. Akciğerlerde meydana gelen akut ve kronik patolojik değişimlere bağlı olarak, gaz değişiminde bozulma ve solunum sıkıntısı ortaya çıkmaktadır. Enfeksiyonu geçiren bireylerde, T ve B hücre hafızası gelişmediği için de, re-enfeksiyonlar toplumda sık görülür [121].

Hem KOAH alevlenmeleri sırasında hem de alevlenme olmayan dönemlerde, solunum yolu sekresyonlarında hMPV RNA'sının tespit edilmesi, virüse bağlı oluşan immünmodülasyonun, KOAH patofizyolojisinde bir rolü olabileceğini düşündürmekle birlikte, bu rol tam olarak ortaya çıkarılamamıştır. Ancak KOAH gibi altta yatan hastalığı olanlarda, hPMV daha ciddi hastalık tablolarına yol açmaktadır [121]. Çocuklarda ve erişkinlerde astım alevlenmelerine yol açan hMPV, KOAH'ı da tetikleyebilir ve aynı zamanda KOAH'lı hastaların da, hMPV enfeksiyonuna karşı daha duyarlı olduğu bilinmektedir [116].

Virüsün, klasik hücre kültür sistemlerinde üretilemiyor olması, primer maymun böbrek hücrelerinin iki kez pasajlanması ile elde edilen tersiyer maymun böbrek hücreleri gibi, sadece belirli hücre dizilerinde üretilebilmesi sebebiyle rutin tanıda virüs kültürü kullanılmaz [114,117]. Direkt floresan antikor testi ve enzim immunoassay yöntemleri tanıda kullanılan diğer metodlar olup, düşük duyarlılığa sahiptir [122].

Hızlı, duyarlı ve özgül sonuçlar veren reverse transkriptaz PZR gibi moleküler yöntemlerin yüksek maliyeti, bu testlerin kullanımını sınırlandırmakla birlikte, günümüzde tanıda kullanılan standart yöntem; reverse transkriptaz PZR ve/veya gerçek zamanlı reverse transkriptaz PZR testidir [123,124]. Multipleks panellerin geliştirilmesiyle solunum yolu virüslerinin tanı kapasitesi artmış olup, ticari olarak elde edilebilen multipleks PZR panelleri içinde hMPV de yer almaktadır. Multipleks reverse transkriptaz PZR testlerinin geliştirilmesi ile, hMPV'nin daha hızlı ve yüksek duyarlılıkta tanımlanması sağlanmıştır. Multipleks testlerin bir diğer avantajı da, geleneksel tanı yöntemleri ile tespit edilemeyecek kadar düşük viral yüke sahip olan ve koinfeksiyona yol açan etkenlerin de tespitine olanak sağlamasıdır [125].

2.7.5. Parainfluenza virüs

Paramyxoviridae ailesi içinde yer alan insan parainfluenza virüsleri; 150-250 nm çapında, pleomorfik, zarflı, negatif polariteli RNA virüsleridir. Yaklaşık 15.000 nükleotit içeren HPIV genomu 6 yapısal protein kodlar. Fosfoprotein (P) dışındaki proteinlerin büyüklüğü, tüm tipler arasında benzer olup, en büyük protein olan L (büyük) proteini bir polimerazdır. Fosfoprotein, büyük protein ve nükleokapsid proteini, viral RNA ile yakın ilişkilidir. Tüm

HPIV'lerde, hemaglütinin nörominidaz ve füzyon proteini olmak üzere iki yüzey proteini bulunur. Konak hücre üzerindeki sialik asit reseptörlerine tutunmadan, hemaglütinin nörominidaz proteini sorumludur. Viral membran ile ilişkili olan ve membranın altında yer alan membran proteini son yapısal proteindir ve tamamlanmış nükleokapsidlerin, enfekte hücre yüzeyine çekilmesinde rol alır. Ayrıca; bazı tipler küçük yapısal olmayan proteinler de kodlar. Örneğin HPIV-1, 2 ve 3 yapısal olmayan C proteini, buna ek olarak HPIV-2 ve belki HPIV-3 de, yapısal olmayan V proteini kodlar [126].

İnsanda hastalık etkeni olan parainfluenza virüslerinin (HPIV) dört tipi bulunur. Bunlardan HPIV tip 1 (HPIV-1) ve HPIV-3 *Respirovirus* cinsi içinde, HPIV-2 ve HPIV-4 ise *Rubulavirus* cinsi içinde yer alır. Yalnızca tip 4; 4A ve 4B olmak üzere iki alt tipe ayrılır [127]. Bunların dışında; beşinci tip olan HPIV-5, eskiden simian virus 5 olarak adlandırılmakta iken, farklı türlerden tespit edilebilmesi ve doğal konağının tanımlanamamış olması sebebiyle, artık HPIV-5 olarak adlandırılmaktadır [128]. Bu virüs ilk kez maymun böbrek hücre kültüründen izole edilmiş olup, insanları enfekte edebilmesine rağmen, insanlarda sebep olduğu bilinen bir hastalık tanımlanmamıştır [129]. Bu virüs paramiksovirüs çalışmalarında prototip olarak kullanılmasının yanı sıra, aşı çalışmalarında vektör olarak da kullanılmaktadır [129,130].

Virüs, hemaglütinin nörominidaz aracılığı ile konak hücre reseptörüne bağlandıktan sonra, füzyon proteini aracılığı ile hücre membranı ve virüs zarfı arasında füzyon gerçekleşir ve virüs hücreye girmiş olur. Viral replikasyon hücre sitoplazmasında gerçekleşir [131].

Çocukluk çağında meydana gelen alt solunum yolu enfeksiyonlarının, RSV'den sonra ikinci sırada sebebi olan HPIV'te, en sık karşılaşılan alt tipler; HPIV 1-2 ve 3'tür. Bu tiplerden HPIV-1 ve 2 epidemik kruptan sorumlu olmakla birlikte, bu hastalığın en sık görülen nedeni HPIV-1'dir. HPIV-3 ise daha sıklıkla bronşiyolit ve pnömoniye neden olur. HPIV tüm yıl görülebilmekle birlikte, HPIV-3 ilkbaharda, HPIV-1 ve HPIV-2 sonbaharda pik yapar. Reenfeksiyonların sık görüldüğü hastalıkta, infant ve çocukların yanı sıra; yaşlı ve immün yetmezlikli kişiler de, ciddi HPIV enfeksiyonuna karşı risk altındadır [132].

Kontamine yüzeyler ile direkt temas ve enfekte damlacıklar ile bulaşan virüs, ilk olarak burun ve boğazdaki müköz membranlarda yerleşir. 2-4 günlük bir inkübasyon süresinden sonra ilk belirtiler ortaya çıkar [131]. Özellikle çocuklarda üst ve alt solunum yolu

hastalıklarının önemli bir etkeni olan HPIV, yetişkinlerde daha az oranda enfeksiyon etkeni olarak bildirilmektedir. Sağlıklı yetişkinlerde hafif üst solunum yolu semptomları görülürken, yaşlılar, immün yetmeliği olanlar ve kronik hastalığı olanlar ciddi hastalık için daha fazla risk altındadırlar. HPIV-1,2 ve 3'e kıyasla HPIV-4 ile ilişkili çok az sayıda çalışma vardır. Hem bu sebeple hem de HPIV-4 ile ilgili epidemiyolojik verilerin azlığı sebebiyle, tüm HPIV tiplerinin oluşturduğu klinik görünümler arasındaki farklılıklar tam olarak bilinmemektedir [133].

Enfeksiyon, konakta hem humoral hem de hücresel yanıtı uyarır; hücresel yanıt esas olarak; viral replikasyonun engellenmesi ve primer enfeksiyonun temizlenmesinde görevlidir. Hemaglütinin nöraminidaz ve füzyon proteinlerine karşı oluşan nötralizan antikorlar ise hastalığa karşı uzun süreli koruma sağlarlar [132].

Nazofarengeal apiratlar ve sürüntü örnekleri, burun sürüntüsü, bronkoalveolar lavaj ve balgam örnekleri, tanı için kullanılabilecek örnekler arasındadır [134,135]. Virüsün tanısında geleneksel virüs kültürü, viral antijen tespit eden yöntemler, immunfloresan veya enzim immunoassay yöntemleri ve nükleik asit tespitine olanak veren reverse transkriptaz PZR gibi moleküler yöntemler kullanılmaktadır. Hücre kültürünün zaman alıcı olması, hızlı antijen testlerinin sonuçlarının değişkenlik göstermesi ve düşük duyarlılığa sahip olması, moleküler yöntemlerin tanı aracı olarak öne çıkmasına yol açmaktadır. Hızlı ve yüksek duyarlıkta sonuç veren reverse transkriptaz PZR ve real time reverse transkriptaz PZR gibi moleküler yöntemler, tanı için yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle tek bir örnekten tüm HPIV tiplerinin tespitine olanak veren multipleks PZR testi, tanı için kullanılabilecek uygun bir yöntemdir [136,137]. Bu yöntem ile tek bir örnekte yer alan tüm HPIV tiplerinin tespitinin yanı sıra, diğer solunum yolu virüsleri de aynı anda tespit edilebilmektedir. Böylelikle, hem hastadan çok sayıda örnek temin etme zorluğu ortadan kalkmış olmakta, hem de tanı için geçen zamandan ve maliyetten tasarruf sağlanmış olmaktadır [138].

2.7.6. Bokavirüs

İnsan bokavirüsü (HBoV), bovine parvovirus ve canine minute virüs adı verilen iki virüse benzerliği nedeniyle, bu virüslerin bulunduğu *Parvoviridae* ailesi, *Bocavirus* cinsi içine alınarak HBoV olarak isimlendirilmiştir. Zarfsız, ikozahedral simetrili, yaklaşık 18-26 nm

çapında, küçük, tek zincirli DNA virüsleri olan HBoV, yaklaşık 4-6 kb büyüklüğünde viral genom içerir [139]. Viral genom; yapısal olmayan protein (NS1), nükleer fosfoprotein, VP1 ve VP2 olmak üzere iki adet yapısal protein kodlar. Yapısal olmayan NS1 proteini multifonksiyonel bir protein olup, N terminali; bağlanma ve endonükleaz aktivitesine, C terminali; transaktivasyon, ortadaki bölgesi ise ATPase ve helikaz aktivitesine sahiptir. Ayrıca NS1 proteini, nükleer fosfoprotein gibi, DNA replikasyonunda da görev alır. Son zamanlarda viral genomun kodladığı küçük NS proteinleri (NS2, NS3, NS4) tanımlanmış olup, bu proteinlerin de DNA replikasyonunda fonksiyonları vardır [140]. İlk kez 2005 yılında tanımlanan HBoV'nin, dört tipi (HBoV1-4) bulunmaktadır. Bu tiplerden HBoV2, yapısal olmayan genlerindeki nükleotid sekans farklılıklarına göre, HBoV2A ve HBoV2B olmak üzere iki alt tipe ayrılır [141].

Tüm dünyada yaygın olarak görülen HBoV, en sık kış ve ilkbahar ayları olmak üzere yıl boyunca enfeksiyona yol açabilir. Çocuklarda ve yetişkinlerde solunum yolu hastalıkları ve gastrointestinal sistem hastalıklarına neden olabilir [140]. Tip bir, genellikle solunum yolu örneklerinden tanımlanırken, geriye kalan diğer üç tip ise genellikle gastrointestinal sistem enfeksiyonları ile ilişkili bulunmuştur [142]. Seroepidemiyolojik çalışmalar HBoV1'in çocukluk döneminde yaygın tespit edildiğini göstermektedir. Özellikle 2 aydan küçüklerde, antikorların vertikal geçişine bağlı olarak seropozitiflik yaygın olarak görülmekte olup, 6-12 ay arasında antikor titrelerinde bir düşüş tespit edilmekte ve sonrasında 6 yaşa kadar seropozitiflik tekrar artmaktadır [143]. Toplumda yaygın olarak görülen HBoV1'in seroprevalansı, 6 yaş grubundaki çocuklarda % 80 bulunmuştur. Aynı yaş grubundaki enterik tiplerin prevalansı ise; HBoV2 için % 50, HBoV3 için % 10'dur. En nadir görülen tip HBoV4 olup, seroprevalansı hakkında yeterli veri yoktur [144]. Yetişkinlerin de büyük çoğunluğunda HBoV1'e karşı antikor taşıdığı görülmektedir [143].

Diğer solunum yolu hastalık etkeni olan parvovirüslerde olduğu gibi, HBoV'nin bulaşı da, solunum yolu ile gerçekleşmektedir [142]. Akut enfeksiyon sırasında solunum sekresyonlarındaki yüksek viral yük dolayısıyla, bir çok solunum yolu virüsünde olduğu gibi, aerosoller ve yakın temas muhtemel bulaş yollarındandır [144]. Solunum yolundan giren virüs, kan dolaşımı ile ya da direkt oral yolla gastrointestinal sisteme geçer ve öksürük ve gaita yolu ile yayılır. Solunum sekresyonları ve gaitada yüksek oranda tespit edilen HBoV, viremiye yol açmasının yanı sıra, duodenum, paranazal sinüs mukozası ve intestinal biyopsi örneklerinden de tespit edilmiştir [142].

HBoV ile ilişkili hastalıklar henüz tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte, son çalışmalar HBoV1'in pnömoni ve diğer solunum yolu hastalıkları ile ilişkili olduğunu göstermiştir. HBoV'nin herhangi bir hayvan modelinin olmaması ve doku kültürünün zor olmasından dolayı, replikasyon mekanizması ve oluşturduğu hastalıkların patogenezi tam olarak tanımlanamamıştır [145]. Çocuklarda HBoV, öksürük, ateş, burun akıntısı, hırıltılı solunum belirtileri ile seyreden üst solunum yolu enfeksiyonu, bronşit, bronşiyolit, pnömoni, astım alevlenmesi ve akut gastroenterite yol açmakla birlikte, nadir olarak otitis media ve deri döküntüleri ile de ilişkili bulunmuştur [146,147].

Hücre kültürünün yapılamaması ve uygun hayvan modellerinin bulunmaması sebebiyle, solunum sistemi hastalıklarında HBoV tanısı, nazofarengeal aspirat, bronkoalveolar lavaj örnekleri, serum ve gaita örneklerinden PZR temelli yöntemler kullanılarak yapılmıştır [147]. Ayrıca rekombinant viral kapsid antijeni ve virüs benzeri partikül, antijen olarak kullanılarak, HBoV spesifik IgM ve IgG tipi antikorları tespit eden serolojik testler de tanıda kullanılmaktadır [145].

Daha korunmuş bir bölge olması sebebiyle, moleküler yöntemlerde hedef bölge olarak, genellikle NS1 ve nükleer fosfoprotein gen bölgeleri tercih edilmekle birlikte, VP1/VP2 gen bölgeleri de hedef bölge olarak kullanılmaktadır [140,145,147]. Konvansiyonel PZR tekniğinden sonra geliştirilmiş olan gerçek zamanlı PZR tekniği ile daha yüksek duyarlılık elde edilmiş ve daha hızlı sonuç alınması sağlanmıştır. Nükleer fosfoprotein ve VP1 gen bölgelerini kullanan gerçek zamanlı PZR testi ile yapılan bir çalışmada, duyarlılık; % 100, özgüllük ise nükleer fosfoprotein bölgesi için % 94, VP1 bölgesi için ise % 93 tespit edilmiştir [140]. Kantitasyon sağlayan gerçek zamanlı PZR tekniğinin tanıda kullanımı ile yüksek viral yük tespiti ile akut hastalık ve hastalığın ağırlık derecesi arasındaki ilişki araştırılabilmiştir [145]. Solunum yolu örneklerinde yüksek viral yük tespit edilen semptomatik hastaların, serumlarında da sıklıkla HBoV DNA'sı tespit edilebilmiş, semptomlar düzeldiğinde serumdaki viral DNA'nın da azalmaya başladığı görülmüştür. Dolayısıyla da yüksek viral yük ile primer enfeksiyon arasında bir ilişki olduğu tespit edilmiştir [147]. Solunum yolu hastalıklarında HBoV'nin tüm genotiplerini tespit edebilen multipleks PZR kitleri geliştirilmiş olup, bu kitler ticari olarak bulunmaktadır. Multipleks PZR tekniği, yüksek duyarlılığa sahip olmasının yanı sıra, diğer moleküler metotlara göre

en önemli üstünlüğü, tek bir örnek içindeki birden fazla etkenin kısa sürede tespitine olanak sağlamasıdır [148].

2.8. Solunum Yolu Virüslerinin Tanısında Moleküler Yöntemler

Akut solunum yolu hastalıkları, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde önde gelen morbidite ve mortalite nedenlerinden biridir ve yaklaşık % 20-60'ından virüsler sorumludur [149,150]. Etiyolojik ajanın hızlı ve doğru şekilde tanımlanması, hastalık yönetiminde, salgınların kontrol edilmesinde, hastanede yatış süresinin kısaltılmasında ve gereksiz antibiyotik kullanımının önlenmesinde önemli rol oynamaktadır [151-153].

Solunum sistemi enfeksiyonuna neden olan virüslerin klinik görünümleri, genellikle birbirine benzer ve laboratuvar tanısı olmadan etkeni tespit etmek mümkün değildir [154]. Moleküler testlerin kullanıma girmesinden önceki dönemde, viral kültür, hızlı antijen testleri, direkt immunfloresan testler ve serolojik testler gibi, geleneksel tanı yöntemlerinin kullanılması nedeniyle, virüslerin önemi tam olarak anlaşılamamıştır [155]. Tanıda tatmin edici sonuçlar alınamamasının nedeni; viral kültürde etkenin tespitinin uzun süre alması, bazı virüslerin kültürde üretilememesi, hızlı ve ucuz olan direkt floresan antikor ve hızlı antijen testlerinin düşük duyarlılık ve özgüllüğe sahip olmaları ve serolojik testlerin ise viral solunum yolu hastalıklarının tanısında kullanışlı olmamalarıdır [152,155,156].

İlk kez 1980'lerde kullanılmaya başlayan nükleik asit amplifikasyon testlerinin, solunum yolu virüslerinin tanısında da kullanımına ilişkin çalışmalar 1990'lar boyunca devam etmiştir. Nükleik asit amplifikasyon testleri, yeni ortaya çıkan virüsler de dahil olmak üzere, tüm solunum yolu virüsleri için geliştirilmiştir. Multipleks amplifikasyon yönteminin geliştirilmesi ile de, geleneksel tanı yöntemlerinden, moleküler tanıya geçiş tamamlanmıştır. Moleküler metodların kullanımı ile etken virüslerin tanımlanması ve epidemiyolojik verilerin elde edilmesi kolaylaşmıştır [154].

PZR yöntemi tüm dünyada, hem klinik laboratuvarlarda hem de araştırma laboratuvarlarında kolayca kullanılabilen ve farklı alanlara adapte edilebilen bir yöntemdir. PZR yöntemi ile, enfeksiyöz organizma olmaksızın, çok kısa bir süre içinde ve az miktardaki viral nükleik asit tespit edilebilmektedir. Solunum yolu virüslerinin çoğunun RNA virüsü olması sebebiyle, amplifikasyondan önce, ek bir reverse transkriptaz

basamağının eklenmesi gereklidir. Polimeraz zincir reaksiyonu yönteminin alt solunum yolu enfeksiyonu olan yaşlı hastalarda, influenza virüs, HPIV, RSV, hMPV, rinovirüs gibi çeşitli virüslerin varlığını belirlemek amacıyla, viral kültür ile kıyaslandığında daha doğru sonuçlar verdiği görülmektedir. Polimeraz zincir reaksiyonu yönteminin kullanımı, büyük çaplı epidemiyolojik çalışmaların yapılabilmesine olanak sağlamakta, ayrıca kültürde zor üretilen ve serolojik tanının yetersiz kaldığı koronavirüs gibi bazı virüsler için kullanılabilecek tek tanı yöntemi olarak da önemini korumaktadır [157].

Solunum yolu enfeksiyonuna yol açan virüslerin genellikle benzer semptomlara yol açması sebebiyle, monopleks reverse transkriptaz PZR tekniği ile etkenin tespitinde, her bir virüs için ayrı ayrı amplifikasyon yapılma zorunluluğu, bu yöntemin maliyetinin artmasına yol açmaktadır. Tek bir reaksiyonda birden fazla etkenin tespitine olanak veren multipleks PZR teknolojisinin kullanıma girmesi ile bu sorun ortadan kalmış olup, maliyet etkin bir yöntemle viral tanının koyulabilmesi olanaklı hale gelmiştir [158]. Multipleks PZR; PZR teknolojisinin bir versiyonu olup, günümüzde birçok enfeksiyonun tanısında kullanılmaktadır. Bu yöntemde; herhangi bir klinik örnekte bulunan farklı mikroorganizmalar için veya tek bir gen üzerindeki farklı hedef bölgeler için özgül primerler kullanılarak, aynı anda birden fazla hedef çoğaltılabilmektedir. Böylece, klinik örnekteki birden fazla mikroorganizmanın aynı anda belirlenebilmesine ve tanımlanabilmesine olanak sağlamaktadır [159].

Solunum yolu hastalıklarının tanısında kullanılan ilk multipleks PZR paneli, 2008 yılında FDA onayı almıştır [108]. Son yıllarda giderek artan sayıda ticari multipleks tanı kiti geliştirilmiş ve 12 ile 33 arasında farklı patojenin tanısına izin veren kitler mikrobiyoloji laboratuvarlarının kullanımına sunulmuştur. Bu kitler arasında; xTAG Respiratory Viral Panel, Fast ya da v1 testi (Luminex Molecular Diagnostics, Toronto, Canada); FilmArray respiratory viral panel testi (BioFire Diagnostics, Salt Lake City, UT); Fast Track Diagnostics Respiratory Pathogen, 21 ya da 33 testi (Fast Track Diagnostics, Luxembourg); CLART PneumoVir (Genomica, Coslada, Spain); RespiFinder, 19 ya da SMART 22 testi (Pathofinder, Maastricht, Netherlands); Sensor Respiratory Viral Panel testi (Gen-Mark Dx, Carlsbad, CA); MultiCode-PLx testi (EraGen Biosciences); Easyplex respiratory pathogen 12 kit testi (Ausdiagnostics, Sydney, Australia); Seeplex RV15 OneStep ACE Detection ve Pneumobacter ACE Detection testi (Seegene Inc., Seoul, South Korea); Magicplex RV Panel Real-time Test (Seegene Inc) ve ResPlex II Panel v2.0

(Qiagen, Hilden, Germany) testleri sayılabilir [160]. Bu metodlar, tespit ettiği patojen sayılarındaki farklılık, metodun karmaşıklığı, işlem hacmi ve sonuç verme sürelerindeki farklılığa göre birbirinden ayrılmakla birlikte genel performans karakterlerine bakıldığında konvansiyonel yöntemlerden önemli derecede üstündürler ve birçok tanı laboratuvarında bu yöntemlerin yerini almışlardır [161]. Bu yöntemlerde genellikle, nazofarengeal örnekler kullanılmakla birlikte orofarengeal sürüntü, balgam, tükrük, bronkoalveolar lavaj, nazal aspiratlar ve nazal yıkama sıvıları gibi diğer örnek türleri de kullanılabilmektedir [162,163].

Multipleks yöntemler, konvansiyonel yöntemlerle karşılaştırıldığında yüksek maliyete sahip olmasına rağmen, özellikle immün yetmezlikli hastalarda olmak üzere enfeksiyonların erken tanısına olanak sağlaması, enfeksiyon kontrolü ve önlenmesinde, ayrıca antibiyotik kullanım durumunun yönetiminde oldukça önemlidir [161]. Çok sayıdaki örneğin, birden fazla virüs açısından test edilmesini sağlayan multipleks yöntemler; virüslerin mevsimselliği, coğrafik dağılımı ve risk gruplarının belirlenmesini ve dolayısıyla solunum yolu enfeksiyonlarının epidemiyolojisini daha iyi anlamamıza katkı sağlar [164]. Epidemiyolojik çalışmalar için çok uygun bir yöntem olan multipleks real time PZR tekniği ile solunum yolu patojenlerine hızlı tanı konulması, yüksek riskli hastalarda hastane enfeksiyonlarının yayılmasını azaltmış, gereksiz antibiyotik kullanımını sınırlandırmış ve hastalığın klinik değerlendirmesini kolaylaştırmıştır [158].

Yüksek duyarlılığa sahip olan multipleks yöntemler, rinovirüs ve koronavirüs gibi persistan kalabilen ya da bokavirüs gibi uzamış saçılıma sahip olan virüslerin de tespit edilmesine olanak sağlar. Ancak tespit edilen bu virüsler, klinik hastalıktan sorumlu olmayabilir ve elde edilen her pozitif sonuç klinik olarak anlam taşımayabilir. Bu durum, örnekteki viral yükün belirlenmesine olanak sağlayan kantitatif PZR yöntemleri ile önlenebilir ve böylelikle tespit edilen virüsün, gerçekten akut enfeksiyondan mı ya da persistansa bağlı subklinik bir durumdan mı sorumlu olduğu ayıt edilebilir [155, 163,165].

Patojen virüslerin kesin ve doğru bir şekilde tanımlanmasını sağlayan moleküler tanı yöntemleri; influenza tedavisinde olduğu gibi anti viral tedavinin hızlı uygulanmasına, uygun enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınarak hastane enfeksiyonlarının önlenmesine ve dolaşımdaki virüsler hakkında güvenilir veriler sağlayarak, halk sağlığı uygulamalarının doğru bir şekilde uygulanmasına katkıda bulunur. Özellikle pandemi dönemlerinde yeterli

ve doğru veri sağlayan moleküler tanı yöntemleri, etiyolojik ajanın tanımlanması, salgının izlenmesi ve ortaya çıkan virüsün epidemiyolojisinin anlaşılmasında kritik öneme sahiptir [164].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Grubu

Çalışmaya, 14 Ocak 2016 ile 31 Mayıs 2017 tarihleri arasında, Sağlık Bakanlığı Ankara 29 Mayıs Devlet Hastanesi'nin Acil ve Göğüs Hastalıkları Kliniklerine başvuran ve KOAH alevlenmesi tanısı alarak, ayaktan veya yatırılarak takip edilen 90 hasta dahil edilmiştir. KOAH tanısı GOLD kriterlerine göre koyulmuş olup, 2016 yılına ait hastaların KOAH ağırlık derecesi GOLD 2015 rehberine göre, 2017 yılına ait hastaların ağırlık derecesi ise GOLD 2017 rehberine göre belirlenmiştir.

Hastaların çalışmaya kabul kriterleri;

- Daha önce KOAH tanısı almış olup,
- Dispnede artış,
- Balgam miktarında artış,
- Balgam pürülansında artış görülen akut atak tanısı ile başvuran hastalar

Hastaların red kriterleri;

- Stabil dönemde olan KOAH hastaları,
- Astım,
- Belirgin bronşektazi varlığı,
- İnterstisyel akciğer hastalığı gibi fonksiyon bozukluğu oluşturan diğer akciğer hastalıkları olanlar

Araştırma için Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırma Etik Kurulu'nun onayı alınmıştır (13.1.2016/2012-KAEK-15/1044).

Çalışma öncesinde, hastaların yaşı, cinsiyeti, hastaneye başvuru şekli (acil/poliklinik), mevcut semptomları, oksijen satürasyonu, sigara kullanım öyküsü, antibiyotik kullanım öyküsü, daha önce influenza aşısı olup olmadığı bilgilerini sorgulayan hasta takip formları hazırlanmıştır ve bu formlar her bir hasta için ayrı ayrı doldurulmuştur. Ayrıca bu formlara hastaların KOAH evreleri (GOLD) kaydedilmiştir (Şekil 3.1).

KOAH Hasta Takip Formu	
Hastanın; Adı-Soyadı	
Yaşı	
Cinsiyeti	
Hastaneye başvuru tarihi	
Başvuru şekli	Poliklinik ☐ ☐ Acil
Semptomlar	Öksürük ☐ Hışıltılı solunum ☐ ND ☐ Balgam ☐ Göğüs ağrısı ☐ Ateş ☐
Sigara kullanım öyküsü	Var ☐ Yok ☐
Balgam kültür sonucu	
Laboratuvar tahlilleri	CRP: Nötrofil: Sedimantasyon: WBC:
SFT verileri	FEV_1: FVC: FEV_1/FVC:
O_2 Saturasyonu	
KOAH evresi (GOLD)	
PA AC Grafisi	
Antibiyotik kullanım öyküsü	
İnfluenza aşı durumu	Evet ☐ ☐Hayır

Şekil 3.1. Hasta takip formu

3.2. Örnekler

3.2.1. Örneklerin toplanması, saklanması ve laboratuvar testleri

Kabul kriterlerine uyan hastalardan balgam örnekleri toplanmış olup, balgam kültürü ve gram boyama testi mikrobiyoloji laboratuvarında örnekler bekletilmeden çalışılmıştır. Virolojik incelemeler için ise; örnekler, ependorf tüplerine alınarak çalışılacağı güne kadar -80°C'de saklanmıştır.

Balgam örnekleri için gram boyalı preparatlar hazırlanmıştır. Balgam kültürü için örnekler, eozin metilen blue agar (EMB) (Biomerieux, Fransa), koyun kanlı agar (Biomerieux, Fransa) ve çukulata agara (Biomerieux, Fransa) ekilerek, 37°C'de 24 saat inkübe edilmiş ve inkübasyon süresi sonunda plaklar, üreme açısından değerlendirilmiştir. Ayrıca hastaların muayeneleri sırasında gerekli görülerek istenmiş olan; solunum fonksiyon testi (Quark Spiro, Cosmed, İtalya), C reaktif protein (CRP) testi (Architect c8000, Abbott, ABD), beyaz küre (WBC) (Cell Dyn 3700, Abbott, ABD) ve nötrofil değerleri (Cell Dyn 3700, Abbott, ABD), sedimantasyon testleri (SDM60, Berkhun, Türkiye) çalışılmış ve sonuçlar kayıt edilmiştir.

3.2.2. Örneklerden DNA/RNA izolasyonu

Balgamdan viral nükleik asit (DNA/RNA) izolasyonu için High Pure Viral Nucleic Acide Kiti (Roche Diagnostic, Almanya) kullanılmıştır. İşlemler sırasında üretici firmanın talimatları uygulanmıştır.

High Pure Viral Nucleic Acide Kiti (Roche Diagnostic, Almanya) içindekiler:

- Binding Buffer; 2×25 ml (6 M guanidine-HCl, 10 mM Tris-HCl, 10 mM urea, 20 % Triton X-100 (w/v), pH 4.4),
- Poly (A); liyofilize, 2 mg poly(A) taşıyıcı RNA, RNA'nın bağlanması için,
- Proteinase K; liyofilize, 100 mg, Proteinlerin parçalanması için,
- Inhibitor Removal Buffer; 33 ml, 20 ml absolute etanol eklenmeli, (Son konsantrsayonda; 5 M guanidine-HCl, 20 mM Tris-HCl, pH 6.6)

- Wash Buffer; 2×10 ml, 40 ml absolute etanol eklenmeli, (Son konsantrsayonda; 20 mM NaCl, 2 mM Tris-HCl, pH 7.5)
- Elution Buffer; 30 ml,
- High Pure Filtre tüpleri; 2×50 polipropilen tüp
- Toplama tüpleri; 8×50 polipropilen tüp

Nükleik asit izolasyon işlemine başlamadan önce ön hazırlık gerektiren solüsyonlar hazırlanmıştır.

Solüsyonların hazırlanma protokolü:

1. Liyofilize olan Proteinaz K şişesine 5 ml elution buffer eklenerek çözülmesi sağlanmıştır. Hazırlanan solüsyon küçük miktarlara ayrılarak, derin dondurucuda -20°C'de (Bosch, Almanya) saklanmıştır.
2. Liyofilize olan Poly A, 500 µl elution buffer içinde çözülmüştür. Hazırlanan solüsyon küçük miktarlara ayrılarak, derin dondurucuda -20°C'de (Bosch, Almanya) saklanmıştır.
3. Daha önce çözülerek hazırlanmış olan olan polyA ve binding buffer kullanılarak lysis buffer hazırlanmıştır. Bir örnek için lysis buffer hazırlanması için; 4 µl poly A'ya, 196 ml binding buffer eklenerek, hafifçe alt üst edilerek karışması sağlanmıştır. Miktar, çalışılan örnek sayısına göre belirlenmiştir.
4. Inhibitor removal buffer şişesine 20 ml % 95'lik etanol eklenip hafifçe karıştırılarak solüsyon hazır hale getirilmiştir. Hazırlanan solüsyon oda ısısında (+15°C, +25°C) saklanmıştır.
5. Wash buffer şişesine 40 ml % 95'lik etanol eklenerek solüsyon hazır hale getirilmiştir. Hazırlanan solüsyon oda ısısında (+15°C, +25°C) saklanmıştır.

Örneklerden nükleik asit izolasyon işlemine başlamadan önce, balgam örnekleri için ön lizis işlemi uygulanmıştır.

Balgam ön işlem protokolü:

1. Çalışmaya başlamadan önce kuru ısı bloğu (Thermo block TDM120, Biosan, Letonya) 65°C'ye getirilmiştir.

2. Balgam örnekleri üzerine, hacminin iki katı kadar serum fizyolojik eklenerek iyice vortekslenmiş ve örnekler homojen hale getirilmiştir. Ependorf tüpüne 900 µl MagNa Pure LC DNA isolation kiti lysis bufferı (Roche Diagnostic, Almanya) ve 40 µl proteinaz K (Roche Diagnostic, Almanya) konularak, üzerine örnekler eklenmiş ve 65°C'de 3 saat bekletilmiştir. Bu süre içinde örnekler aralıklarla vortekslenmiştir.

Balgam örneklerinin ön lizis işleminden sonra, üretici firma talimatları doğrultusunda nükleik asit izolasyonu yapılmıştır.

Viral nükleik asit izolasyonu için çalışma protokolü:

1. İzolasyon yapılacak örnek sayısı kadar ependorf tüpü alınarak, her bir ependorf tüpüne 200 µl lysis buffer dağıtılmıştır.
2. Lysis buffer dağıtılan tüplerin üzerine 50 µl proteinaz K eklenmiştir.
3. Her bir ependorf tüpüne 200 µl örnek eklenerek iyice vortekslenmiş ve spin santrifüj yapılarak, 70°C'ye ısıtılmış kuru ısı bloğunda (Thermo block TDM120, Biosan, Letonya) 10 dakika inkübe edilmiştir.
4. Her bir tüpe 100 µl binding buffer eklenerek vortekslenmiş (VELP, Scientifica, Almanya) ve spin santrifüj yapılmıştır.
5. Her örnek için birer adet high pure filtre içeren kolleksiyon tüpleri hazırlanmış ve tüm örnek filtre üzerine pipetlenmiştir.
6. Tüpler 10.000 rpm'de bir dakika santrifüj (Heraeus, Almanya) edildikten sonra spin santrifüj yapılmıştır ve alttaki tüpler yenileri ile değiştirilmiştir.
7. Filtre üzerine 500µl inhibitor removal buffer eklenerek 10.000 rpm'de bir dakika santrifüj edildikten sonra, spin santrifüj yapılmış ve alttaki tüpler yenileri ile değiştirilmiştir.
8. Filtre üzerine 450µl wash buffer eklenerek, tekrar 10.000 rpm'de bir dakika santrifüj edilmiş ve alttaki tüpler yenileri ile değiştirildikten sonra tekrar 450 µl wash buffer eklenip 10.000 rpm'de santrifüj edilmiştir.
9. Tüplere herhangi bir solüsyon eklemeden 13.000 rpm'de iki dakika santrifüj işlemi uygulanmıştır.
10. Tüm filtreler yeni ependorflara yerleştirilerek her bir tüpün üzerine 35 µl elution buffer eklenmiş ve 10.000 rpm'de bir dakika santrifüj edilmiştir.

11. Elde edilen örnekler PZR çalışması yapılıncaya kadar -80°C'de (Sanyo, Japonya) saklanmıştır.

3.2.3. Multipleks real time PZR/multipleks reverse transkriptaz real time PZR yöntemi ile çoğaltma işlemi (Amplifikasyon)

Örnekler; İnfluenza A (LightMix® Modular Influenza H1 (H1N1sw), TIBMOLBIOL, Almanya), insan parainfluenza virüs-3 (LightMix® Modular Parainfluenza 3 (HPIV-3), TIBMOLBIOL, Almanya), insan metapnemovirüs (LightMix® Modular Metapneumovirus (hMPV), TIBMOLBIOL, Almanya), bokavirüs (LightMix® Modular Bocavirus (HBoV), TIBMOLBIOL, Almanya), respiratuar sinsityal virüs (LightMix® Modular Respiratory Syncytial Virus (RSV), TIBMOLBIOL, Almanya) ve rhinovirüs (LightMix® Modular Rhinovirus (RV), TIBMOLBIOL, Almanya) açısından real time multipleks PZR yöntemi ile incelenmiştir. İzole edilen viral nükleik asitlerin amplifikasyonu LightCycler® 480 II (Roche Applied Science, Almanya) cihazında çalışılmış ve sonuçlar değerlendirilmiştir.

RNA virüslerinin amplifikasyonu için LightCycler® Multiplex RNA virus master kiti (Roche Diagnostic, Almanya) ve özgül primer-prob karışımları (TıbMolbiol, Almanya) kullanılmıştır.

LightCycler® Multiplex RNA virus master kiti (Roche Diagnostic, Almanya) içindekiler:

- LightCycler® Multiplex RNA Virus Master, RT enzim solüsyonu; Reverse transkriptaz enzimi,
- LightCycler® Multiplex RNA Virus Master, RT-qPCR Reaction Mix; RT-qPCR Reaction Buffer, AptaTaq Polymerase, dATP, dCTP, dGTP, dUTP, $MgCl_2$,
- PZR için su

Reaksiyonda kullanılan özgül primer-prob karışımlarının kit içerikleri, hedef bölgeleri ve işaretli oldukları hidroliz probları:

1. LightMix® Modular Influenza H1:
   Kit içeriği: Liyofilize 96 reaksiyonluk primer-prob karışımı ve pozitif kontrol.

Hedef bölgeleri ve işaretli oldukları hidroliz probları: Viral hemaglütinin protein geninde 82 baz çifti uzunluğundaki bölge, Cyan500 işaretli hidroliz probu,

2. LightMix® Modular Parainfluenza 3:
   Kit içeriği: Liyofilize 96 reaksiyonluk primer-prob karışımı ve pozitif kontrol.
   Hedef bölgeleri ve işaretli oldukları hidroliz probları: Matriks protein geninde 95 baz çifti uzunluğundaki bölge, FAM işaretli hidroliz probu,
3. LightMix® Modular Metapneumovirus:
   Kit içeriği: Liyofilize 96 reaksiyonluk primer-prob karışımı ve pozitif kontrol.
   Hedef bölgeleri ve işaretli oldukları hidroliz probları: Viral füzyon protein geninde 151 baz çifti uzunluğundaki bölge, JOE işaretli hidroliz probu,
4. LightMix® Modular Respiratory Syncytial Virus:
   Kit içeriği: Liyofilize 96 reaksiyonluk primer-prob karışımı ve pozitif kontrol.
   Hedef bölgeleri ve işaretli oldukları hidroliz probları: Viral matriks protein geninde 115 baz çifti uzunluğundaki bölge, LC610 işaretli hidroliz probu
5. LightMix® Modular Rhinovirus:
   Kit içeriği: Liyofilize 96 reaksiyonluk primer-prob karışımı ve pozitif kontrol.
   Hedef bölgeleri ve işaretli oldukları hidroliz probları: 5- UTR bölgesinde 141 baz çifti uzunluğundaki bölge, LC640 işaretli hidroliz probu.

Liyofilize olan primer prob karışımları, işlem öncesinde 50 µl su eklenerek vortekslenmiş ve spin santrifüj yapılarak kullanıma hazır hale getirilmiştir.

RNA virüslerinin amplifikasyonu için öncelikle reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Bir örnek için reaksiyon karışımı;

Distile su.....10,4 µl
Master Mix.....4 µl
Primer .....0,5 µl
Reverse Transkriptaz Enzim.....0,1 µl
Toplam hacim.....15 µl

Amplifikasyon karışımı hazırlandıktan sonra 15 sn vortekslenmiş ve spin santrifüj yapıldıktan sonra karışımdan, tüplere 15 µl dağıtılmıştır. Son hacim 20 µl olacak şekilde her bir tüpe, izole edilen viral nükleik asit örneğinden 5 µl dağıtılmıştır. Ayrıca negatif ve

pozitif kontrol tüpleri de çalışmaya eklenmiştir. Hazırlanan PZR karışımı LightCycler® 480 II (Roche Applied Science, Almanya) cihazına yüklenmiştir. Amplifikasyon için PZR programı Çizelge 3.1.'de görülmektedir.

Çizelge 3.1. RNA virüslerinin amplifikasyonu için PZR programı

	Derece (°C)	**süre**	**siklus**
RT basamağı	55	5 dk	1
Denatürasyon	95	5 dk	1
	95	5 sn	
Amplifikasyon	60	15 sn	45
	72	15 sn	
Soğutma	40	30 sn	1

DNA virüsü olan HBoV amplifikasyonu için LightCycler® Multiplex DNA master kiti (Roche Diagnostic, Almanya) ve özgül primer-prob karışımı (TıbMolbiol, Almanya) kullanılmıştır. RNA virüslerinden farklı olarak, amplifikasyonda reverse transkriptaz enzimi kullanılmamıştır.

LightCycler® Multiplex DNA master kiti (Roche Diagnostic, Almanya) içeriği:

- LightCycler® Multiplex DNA Master, qPCR Reaction Mix; qPCR Reaction Buffer, AptaTaq Polymerase, dATP, dCTP, dGTP, dUTP, $MgCl_2$,
- PZR için su

LightMix® Modular Bocavirus kit içeriği, hedef bölgesi ve işaretli olduğu hidroliz probu:

Kit içeriği: Liyofilize 96 reaksiyonluk primer-prob karışımı ve pozitif kontrol.

Hedef bölgeleri ve işaretli oldukları hidroliz probları: Viral NP1 geninde 65 baz çifti uzunluğundaki bölge, R6G işaretli hidroliz probu.

Liyofilize olan primer prob karışımı, işlem öncesinde 50 µl su eklenerek vortekslenmiş ve spin santrifüj yapılarak kullanıma hazır hale getirilmiştir.

Bokavirüsün amplifikasyonu için öncelikle reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Bir örnek için reaksiyon karışımı;

Distile su.....10 µl
Master Mix.....4,5 µl
Primer .....0,5 µl
Toplam hacim.....15 µl

Amplifikasyon karışımı hazırlandıktan sonra 15 sn vortekslenmiş, spin santrifüj yapılmış ve tüplere 15 µl olarak dağıtılmıştır. Son hacim 20 µl olacak şekilde her bir tüpe izole edilen viral nükleik asit örneğinden 5 µl eklenmiştir. Ayrıca negatif ve pozitif kontrol tüpleri de çalışmaya eklenmiştir. Hazırlanan PZR karışımı LightCycler® 480 II (Roche Applied Science, Almanya) cihazına yüklenmiştir. HBoV amplifikasyonu için PZR programı Çizelge 3.2.'de görülmektedir.

Çizelge 3.2. HBoV amplifikasyonu için PZR programı

	Derece (˚C)	**süre**	**siklus**
Denatürasyon	95	5 dk	1
Amplifikasyon	95	5 sn	45
	60	15 sn	
	72	15 sn	
Soğutma	40	30 sn	1

Amplifikasyon sonunda influenza A(H1N1); 500 kanalında, HPIV-3; 530 kanalında, hMPV; 580 kanalında, RSV; 610 kanalında, RV; 640 kanalında, HBoV 580 kanalında 'absolute quantification' analizi ile değerlendirilmiştir.

3.3. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmede Exel, EpiInfo, Openepi, IBM SPSS İstatistik programı (Versiyon 24) kullanılmıştır. Veri analizlerinde sayısal ve yüzde dağılımları, gruplar arası karşılaştırmalar için ki-kare testi, t testi, % 95 güven aralığında (GA) rölatif risk, tahminin rölatif risk (TRR) kullanılmıştır. İstatistiksek anlamlılık düzeyi % 5 olarak kabul edilmiştir.

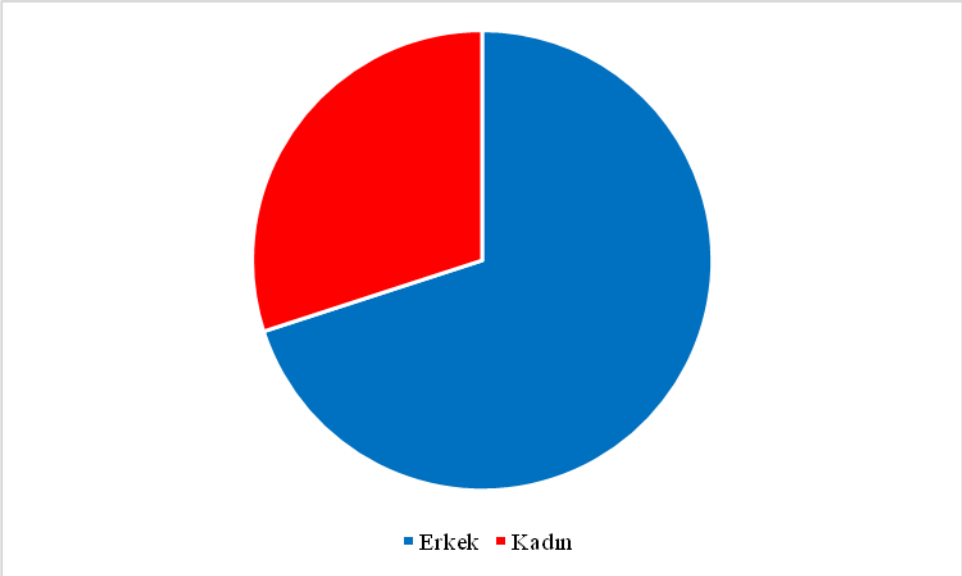
4. BULGULAR

4.1. Hastalar

Çalışmaya GOLD kriterlerine göre KOAH alevlenmesi tanısı konulan ve uygun kriterleri taşıyan 90 hasta dahil edilmiştir. Hastaların % 70'i (63) erkek, % 30'u (27) kadındı. (Çizelge 4.1, Şekil 4.1).

Çizelge 4.1. Hastaların cinsiyetlere göre dağılımı

Cinsiyet	Sayı	Yüzde
Erkek	63	70
Kadın	27	30
Toplam	**100**	**100**

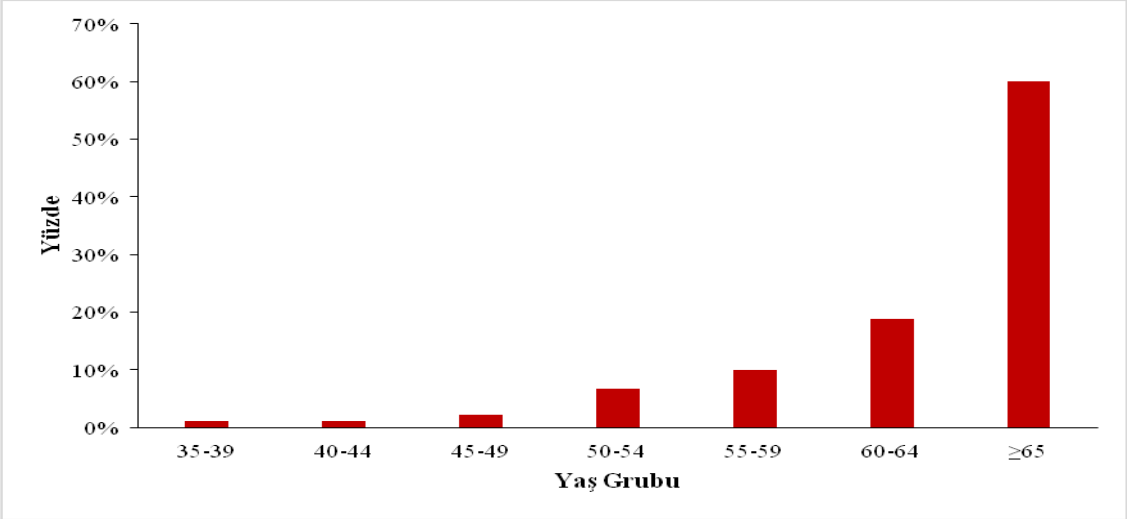


Şekil 4.1. Hastaların cinsiyetlere göre dağılımı

Hastaların yaş aralığı 37 ile 95 arasında değişmekte ve yaş ortalaması 68,2 ±11,8'dir. Hastaların yaş gruplarına göre göre dağılımları Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2'de, yaş gruplarının cinsiyetlere dağılımları ise Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3'te görülmektedir.

Çizelge 4.2. Hastaların yaş gruplarına göre dağılımı

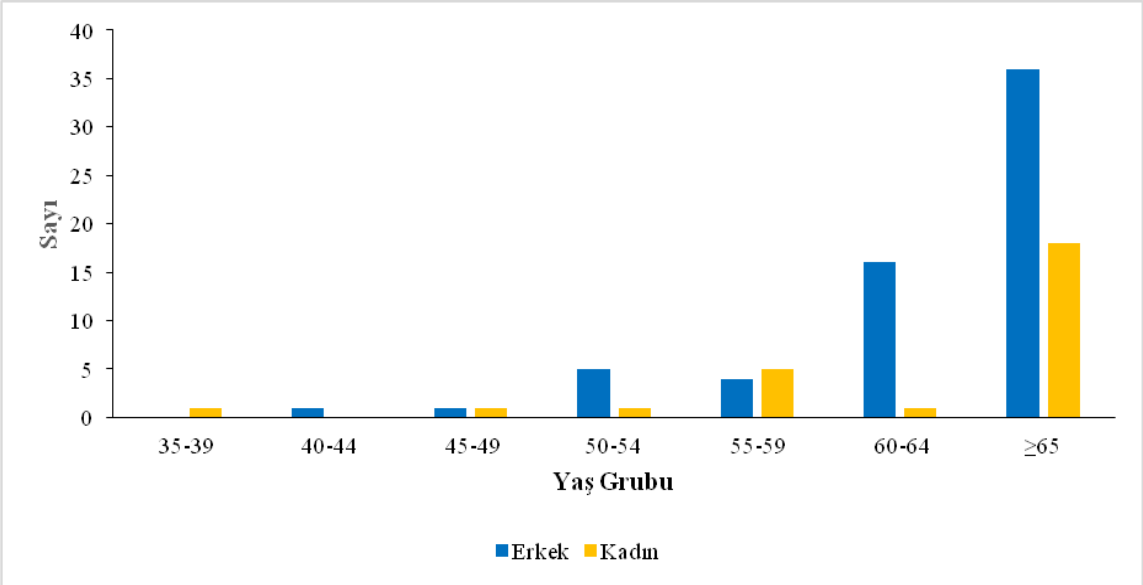
Yaş Grupları	Sayı	Yüzde
35-39	1	1,11
40-44	1	1,11
45-49	2	2,22
50-54	6	6,67
55-59	9	10,00
60-64	17	18,89
≥65	54	60,00
Toplam	**90**	**100,00**



Şekil 4.2. Hastaların yaş gruplarına göre dağılımı

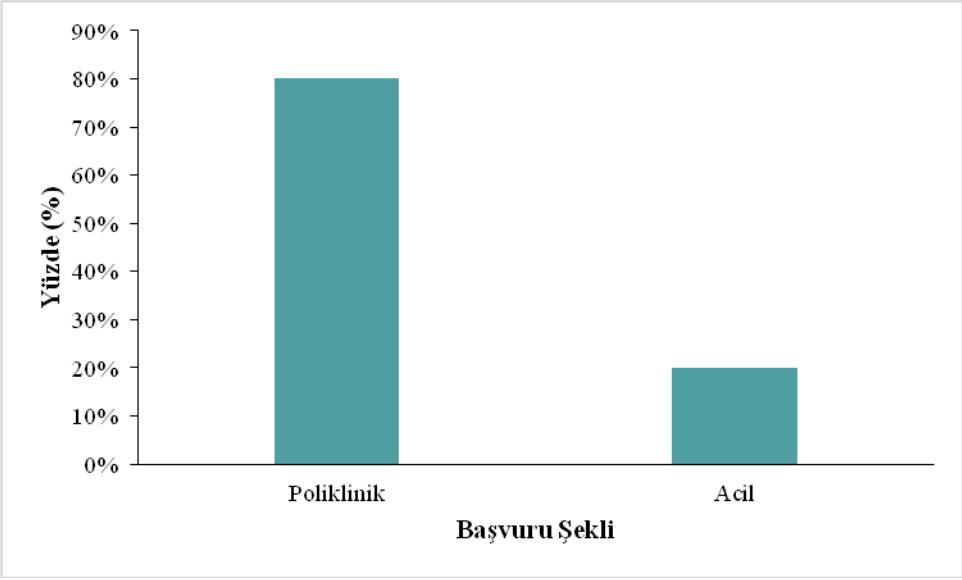
Çizelge 4.3. Hastaların yaş gruplarının cinsiyelere göre dağılımı

Yaş grubu	Erkek		Kadın		Toplam	
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde
35-39	0	0	1	100	1	1,1
40-44	1	100	0	0	1	1,1
45-49	1	50	1	50	2	2,2
50-54	5	83,3	1	16,7	6	6,7
55-59	4	44,4	5	55,6	9	10,0
60-64	16	94,1	1	5,9	17	18,9
≥65	36	66,7	18	33,3	54	60,0
Toplam	**63**	**70**	**27**	**30**	**90**	**100,0**



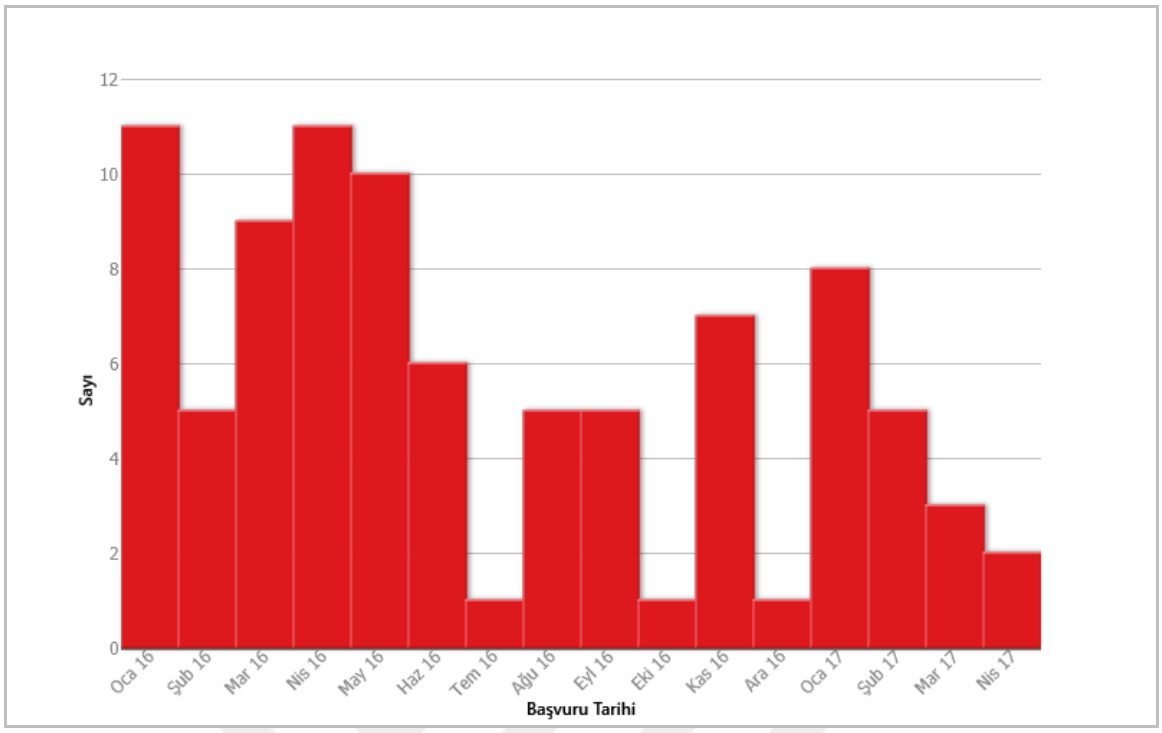
Şekil 4.3. Hastaların yaş gruplarının cinsiyelere göre dağılımı

Hastaların hastaneye başvuru şekillerine bakıldığında % 80'inin (72) Göğüs hastalıkları polikliniğine, % 20'sinin (18) ise acil servise başvurduğu görülmüştür (Şekil 4.4).



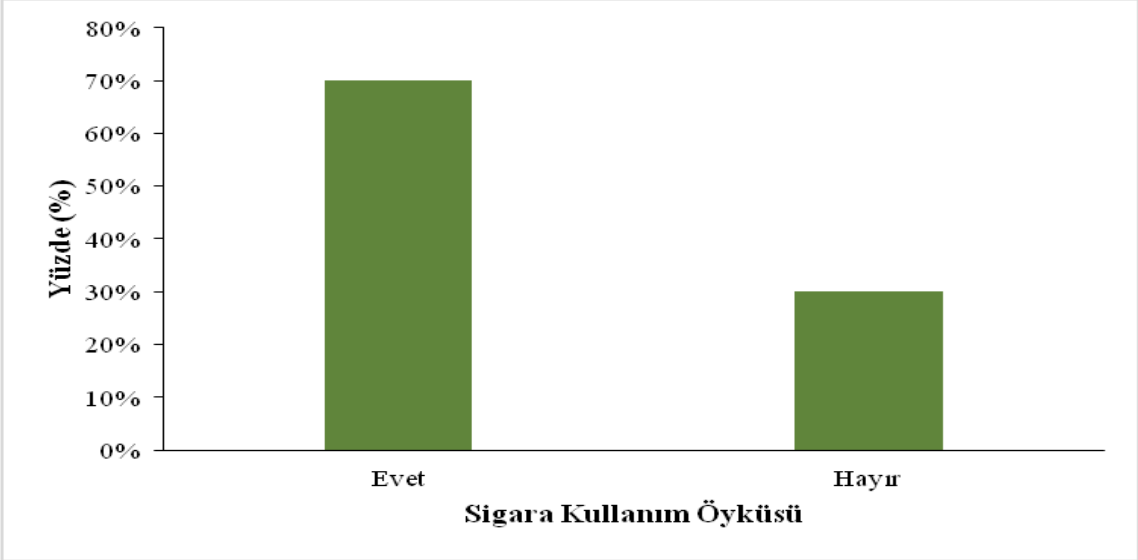
Şekil 4.4. Hastaların başvuru şekillerine göre dağılımı

Toplanan balgam örneklerinin aylara göre dağılımına bakıldığında en fazla örneğin kış ve ilkbahar aylarında olduğu görülmüştür (Şekil 4.5).

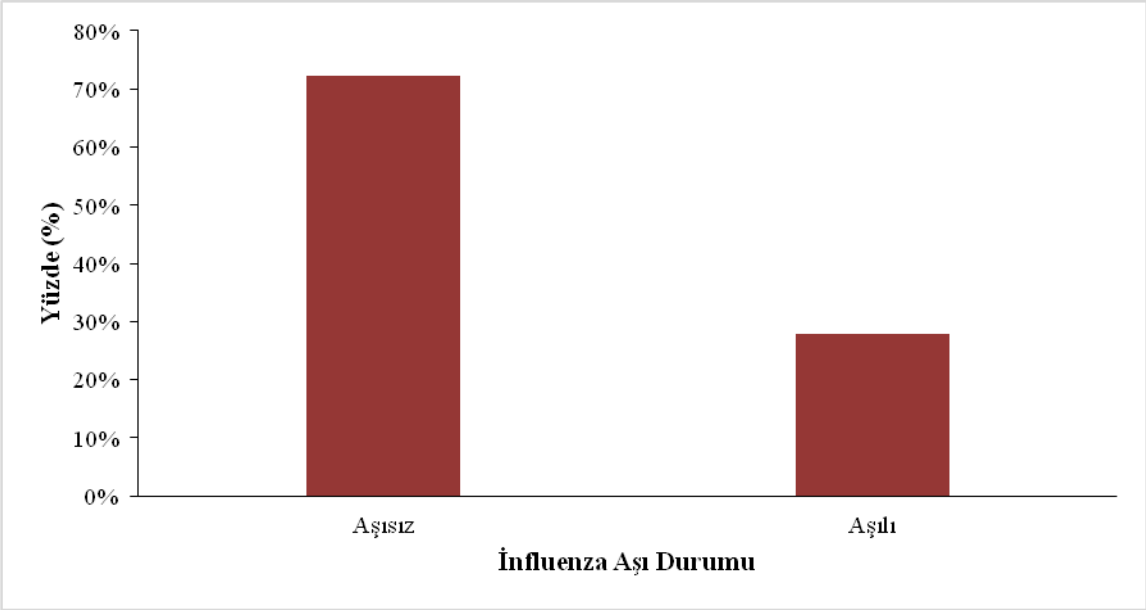


Şekil 4.5. Örneklerin toplanma tarihlerine göre dağılımı

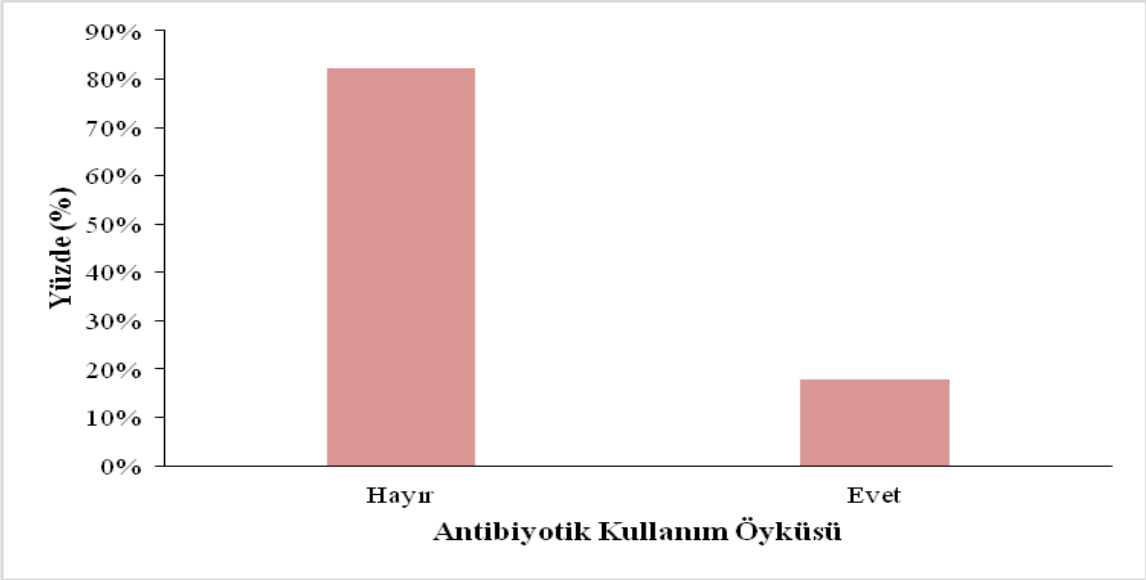
Hastaların % 30'unun (27) sigara kullanma öyküsü bulunmazken, % 70'inin (63) halen ya da daha önce sigara kullanma öyküsü bulunmaktadır (Şekil 4.6). Hastaların influenza aşılanma durumları (% 27,8'i aşılı, % 72,2'si aşısız) Şekil 4.7'de ve antibiyotik kullanma öyküleri (Hayır: % 82,2, Evet: %17,8) Şekil 4.8'de görülmektedir.



Şekil 4.6. Hastaların sigara kullanma durumları

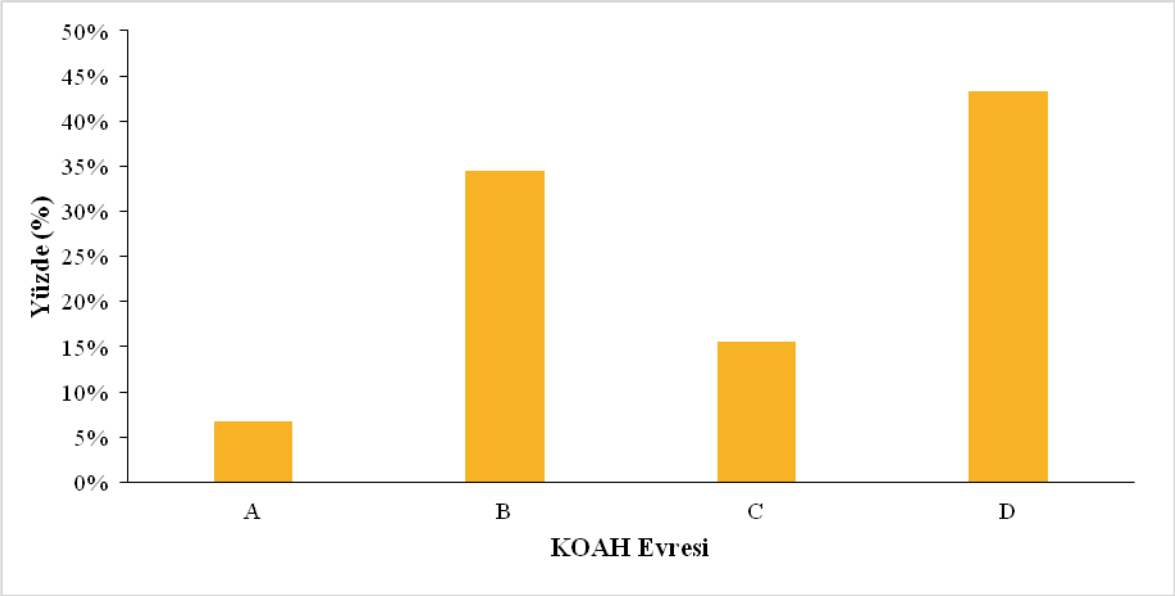


Şekil 4.7. Hastaların influenza aşısı uygulanma durumları



Şekil 4.8. Hastaların antibiyotik kullanma öyküleri

Hasta grubunun KOAH evresine göre dağılımları incelendiğinde; hastaların % 6,7'sinin (6 hasta) grup A, % 34,4'ünün (31 hasta) grup B, % 15,6'sının (14 hasta) grup C ve % 43,3'ünün de (39 hasta) grup D hastalar olduğu görülmüştür (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Hastaların KOAH evrelerine göre dağılımları

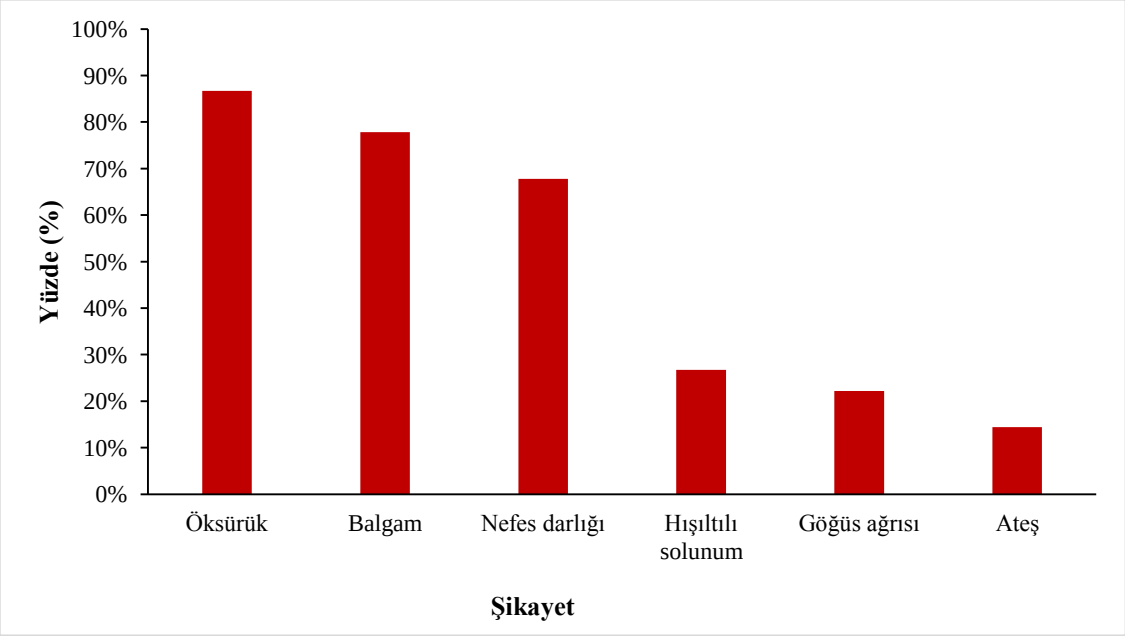
4.2. Alevlenme Semptomları

Hastaların nefes darlığı, öksürük, ateş, hışıltılı solunum, göğüs ağrısı ve balgam miktarlarındaki artış durumları incelendiğinde tüm belirtileri aynı anda gösteren sadece iki hasta tespit edilmiştir. En sık görülen belirti, öksürük olup bunu sırasıyla balgam miktarında artış, nefes darlığı, hışıltılı solunum, göğüs ağrısı ve ateş takip etmiştir (Çizelge 4.4, Şekil 4.10).

Çizelge 4.4. Hastaların klinik özellikleri

Şikayetler	Sayı	Yüzde (%)*
Öksürük	78	86,7
Balgam	70	77,8
Nefes darlığı	61	67,8
Hışıltılı solunum	24	26,7
Göğüs ağrısı	20	22,2
Ateş	13	14,4

*Aynı anda birden fazla şikayet mevcuttur



Şekil 4.10. Hastaların klinik özellikleri

4.3. Laboratuvar Bulguları

Hastaların 33'ünde tekniğe uygun olarak solunum fonksiyon testi yapılabilmiştir. Ortalama FEV_1 değeri; 1,76±0,69, FVC değeri; 2,71±0,88, FEV_1/FVC değeri; 63,1±12,18 olarak belirlenmiştir.

Toplam 85 hastada oksimetri ile oksijen satürasyonu ölçülmüştür. Arteriyel oksijen satürasyonları (SaO2) ortalama 90,47±5,82 bulunmuştur.

C-reaktif protein değerleri ortalama 3,93±5,14 mg/dl (Referans aralık: 0-0,5 mg/dl), lökosit sayıları (WBC) en düşük 4,63x10³/µl, en yüksek 28,4x10³/µl bulunmuş olup ortalama 11,06±4,47x10³/µl (Referans aralık: 4,6-10,2 x10³/µl), nötrofil sayıları 2,36 x10³/µl -24,3 x10³/µl arasında olup ortalama 7,65±4,17 x10³/µl (Referans aralık:2-6,9x10³/µl) olarak bulunmuştur.

Sedimantasyon testi 55 hastada çalışılmış olup ortalama 35,18±23,16 mm/sa (Referans aralık: 0-20 mm/sa) olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Hastaların laboratuvar bulguları

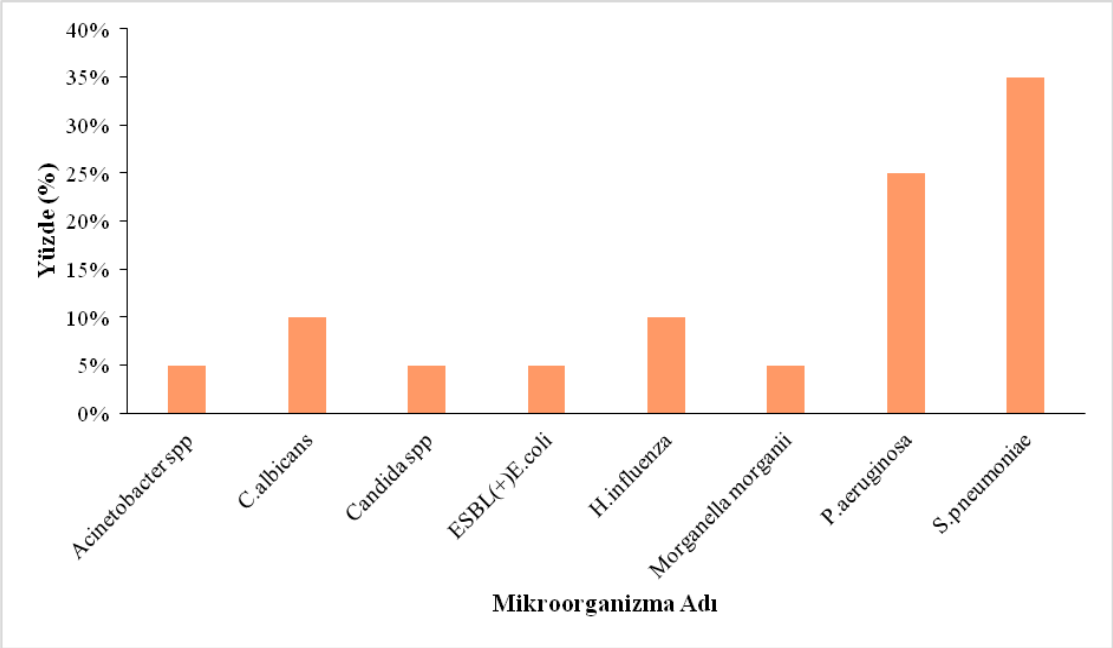
	N	Ortalama	SD
FEV_1(L)	33	1,76	0,69
FVC (L)	33	2,71	0,88
FEV_1/FVC(%)	33	63,1	12,18
SaO2	85	90,47	5,82
CRP (mg/dl)	90	3,93	5,14
WBC($x10^3/\mu l$)	90	11,06	4,47
Nötrofil ($x10^3/\mu l$)	90	7,65	4,17
Sedimantasyon(mm/sa)	55	35,18	23,16

4.4. Balgam Örneklerinin Mikrobiyolojik İncelemeleri

Yapılan balgam kültürlerinin değerlendirilmesi sonucunda 70 (% 77,8) hastada patojen etken tespit edilmemiş, 20 (% 22,2) hastada ise bir patojen mikroorganizma tespit edilmiştir. Balgam kültüründe üreyen mikroorganizmaların dağılımına bakıldığında en sık tespit edilen etken *Streptococcus pneumoniae* olmuş, bunu *Pseudomonas aeruginosa* takip etmiştir. Çizelge 4.6 ve Şekil 4.11'de tespit edilen patojenlerin dağılımı görülmektedir.

Çizelge 4.6. Balgam kültüründe izole edilen mikroorganizmalar

Mikroorganizma	Hasta sayısı	%
Acinetobacter sp	1	5
Candida sp	1	5
Candida albicans	2	10
ESBL(+)*Escherichia coli*	1	5
Haemophilus influenza	2	10
Morganella morganii	1	5
Pseudomonas aeruginosa	5	25
Streptococcus pneumoniae	7	35
Toplam	20	100



Şekil 4.11. Balgam kültüründe izole edilen mikroorganizmaların dağılımı

Balgam kültüründe patojen mikroorganizma üreyen hastaların 13'ünün grup D, 5'inin grup B ve 2'sinin grup C olduğu görülmüştür (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Balgam kültüründen izole edilen mikroorganizmaların KOAH evrelerine göre dağılımları

Mikroorganizma	**Evre**							
	Evre A (n:6)		**Evre B (n:31)**		**Evre C (n:14)**		**Evre D (n:39)**	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Acinetobacter sp					1	7,14		
Candida sp							1	2,56
Candida albicans							2	5,13
ESBL(+)*Escherichia coli*			1	3,2				
Haemophilus influenza			1	3,2			1	2,56
Morganella morganii							1	2,56
Pseudomonas aeruginosa							5	12,8
Streptococcus pneumoniae			3	9,7	1	7,14	3	7,7
Toplam	0	0	5	16,1	2	14,3	13	33,3

Mikroorganizma tespit edilen ve edilmeyen hastaların KOAH evrelerine göre dağılımları incelendiğinde; mikroorganizma pozitifliği açısından, evre D olan hastaların Evre A olanlara göre altı kat artmış riski bulunmasına rağmen, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Mikroorganizma pozitif ve negatif hastaların KOAH evrelerine göre dağılımları

KOAH Evre	**Pozitif**		**Negatif**		**Toplam**		**TRR (%95 GA)**	**p**
	n	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**		
A	0	0	6	100	6	6,7	1	-
B	5	16,1	26	83,9	31	34,4	2,3(0,1-48,2)	> 0,99
C	2	14,3	12	85,7	14	15,6	2 (0,1-51,6)	>0,99
D	13	33,3	26	66,7	39	43,3	6 (0,3-116)	0,404
Toplam	**20**	**22,2**	**70**	**77,8**	**90**	**100**		

Kültürde üreme tespit edilen hastaların CRP değerlerine bakıldığında, bir hastanın sonucu normal aralıkta bulunurken diğer 19 hastanın sonucu yüksek olarak tespit edilmiş, ortalama CRP değeri; 7,15±7,54 mg/dl (Referans aralık: 0-0,5 mg/dl) bulunmuştur.

Bu hastalarda ortalama WBC değeri ve nötrofil sayıları sırasıyla; 12,31±3,55x10^3/µl (Referans aralık: 4,6-10,2 x10^3/µl) ve 9,03±3,44x10^3/µl (Referans aralık: 2-6,9x10^3/µl) bulunmuştur.

Kültür sonucunda üreme tespit edilen hastaların 15'inde sedimantasyon testi çalışılabilmiş olup, ortalama sedimantasyon testi sonucu 48,1±23,6 mm/sa (Referans aralık: 0-20 mm/sa) olarak bulunmuştur. Kültürde üreme tespit edilen hastaların 8'inin daha önce influenza aşısı yaptırdığı görülmüştür.

Çizelge 4.9'da bazı değişkenlere göre mikroorganizma pozitif ve negatifliğinin karşılaştırılması görülmekte olup, değerlendirilen değişkenler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir.

Çizelge 4.9. Bazı değişkenlere göre mikroorganizma pozitif ve negatif hastaların değerlendirilmesi

Değişken		Pozitif		Negatif		RR(%95 GA)	p
		n	%	n	%		
Cinsiyet	Erkek	13	21	50	79	0,8(0,3-1,8)	0,580
	Kadın	7	14	20	56		
Yaş	<65	9	25	27	75	1,2 (0,6-2,7)	0,605
	≥65	11	21	43	79		
Öksürük	Evet	17	22	61	78	0,9 (0,3-2,5)	0,725*
	Hayır	3	25	9	75		
Nefes darlığı	Evet	14	23	47	77	1,1 (0,5-2,6)	0,809
	Hayır	6	21	23	79		
Göğüs ağrısı	Evet	6	30	14	70	1,5 (0,7-3,4)	0,369*
	Hayır	14	20	56	80		
Hışıltılı solunum	Evet	4	17	20	83	0,7 (0,2-1,8)	0,445
	Hayır	16	24	50	76		
Balgam	Evet	14	20	56	80	0,7 (0,3-1,5)	0,369*
	Hayır	6	30	14	70		
Ateş	Evet	2	16	11	84	0,6 (0,1-2,5)	0,725*
	Hayır	18	24	59	76		
Sigara kullanma öyküsü	Evet	14	22	49	78	1 (0,4-2,3)	1,000
	Hayır	6	22	21	78		
Virüs pozitifliği	Evet	4	50	4	50	2,6 (1,1-5,8)	0,070*
	Hayır	16	20	66	80		
İnfluenza aşısı	Evet	8	32	17	68	1,7 (0,8-3,7)	0,166
	Hayır	12	19	53	81		
Antibiyotik öyküsü	Evet	4	25	12	75	1,2 (0,4-3)	0,748*
	Hayır	16	22	58	78		

* Fischer kesin ki-kare testi

4.5. Balgam Örneklerinin Multipleks PZR İncelemeleri

PZR ile incelen toplam 90 örneğin % 7,8'inde (8 hasta) araştırılan altı virüsten biri tespit edilebilmiş olup (Çizelge 4.10), bir örnekte influenza A (H1N1), bir örnekte HPIV-3, 2 örnekte RSV ve 4 örnekte RV tespit edilmiştir (Çizelge 4.11).

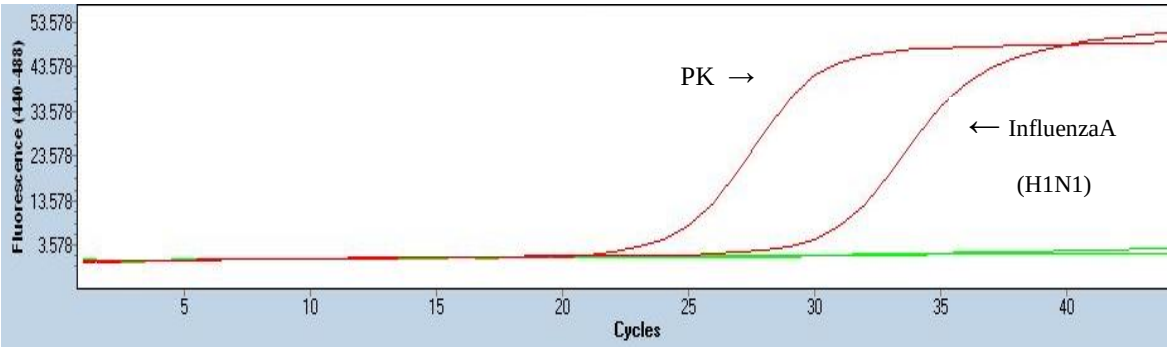
Çizelge 4.10. Tüm hastalar içinde tespit edilen virüslerin oranı

Virüs Adı	Sayı	%
İnfluenza A (H1N1)	1	1,11
HPIV-3	1	1,11
RV	4	4,44
RSV	2	2,22
Virüs negatif	**82**	**91,10**
Toplam	**90**	**100**

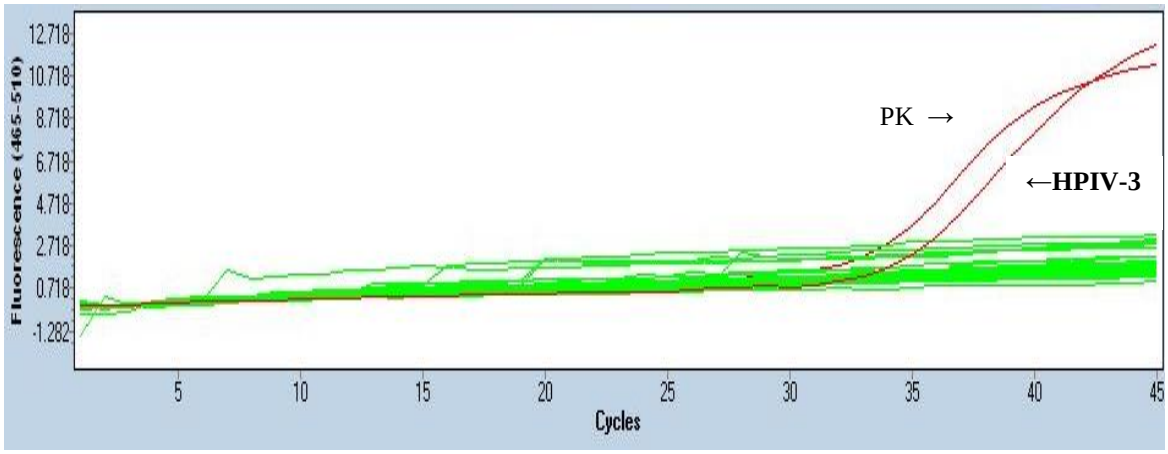
Çizelge 4.11. Pozitif bulunan örneklerin virüslere göre dağılımı

Virüs Adı	Sayı	%
İnfluenza A (H1N1)	1	12,50
HPIV-3	1	12,50
RV	4	50
RSV	2	25
Toplam	**8**	**100**

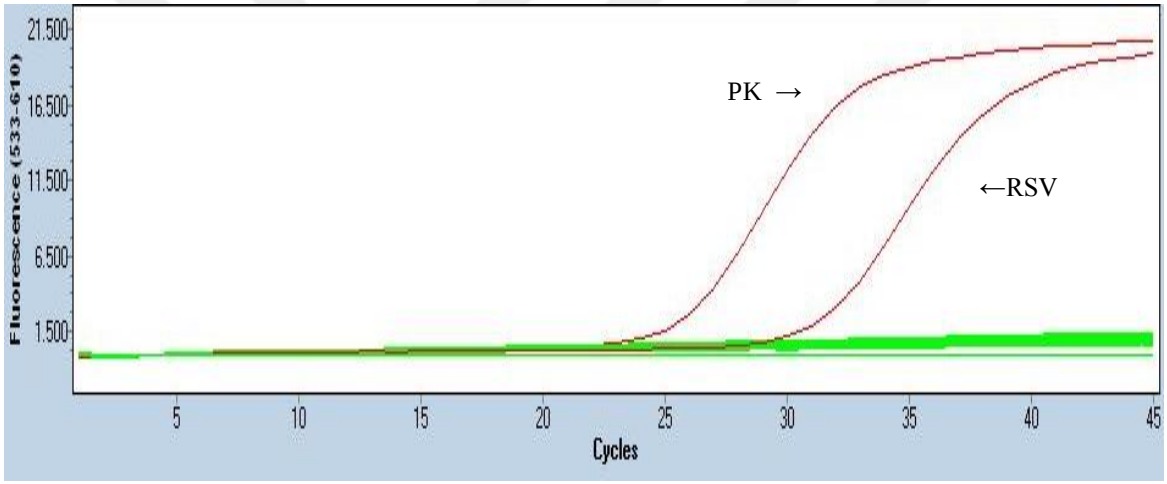
İnfluenza A (H1N1), HPIV-3, RSV ve RV'ye ait amplifikasyon eğrileri sırasıyla Resim 4.1-4.4'de görülmektedir.



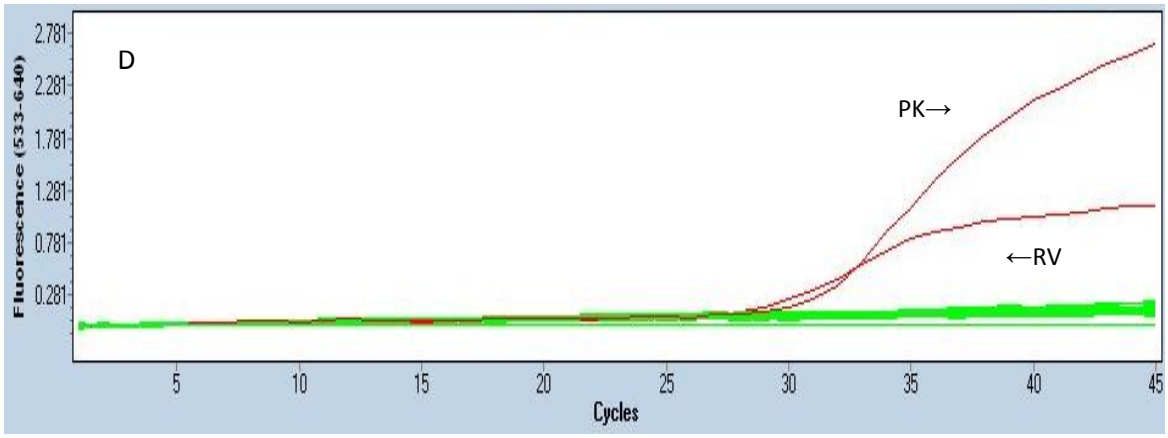
Resim 4.1. Influenza A (H1N1) virüsüne ait amplifikasyon eğrisi. PK: Pozitif kontrol



Resim 4.2. HPIV-3 virüsüne ait amplifikasyon eğrisi. PK: Pozitif kontrol



Resim 4.3. RSV'ye ait amplifikasyon eğrisi. PK: Pozitif kontrol



Resim 4.4. RV'ye ait amplifikasyon eğrisi. PK: Pozitif kontrol

Hastaların, KOAH evrelerine göre dağılımları incelendiğinde bir hastanın evre A, 4 hastanın evre B ve 3 hastanın ise evre D olduğu görülmüştür. Virüs pozitifliği açışından, KOAH evreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Virüs saptanan hastaların KOAH evrelerine göre dağılımları

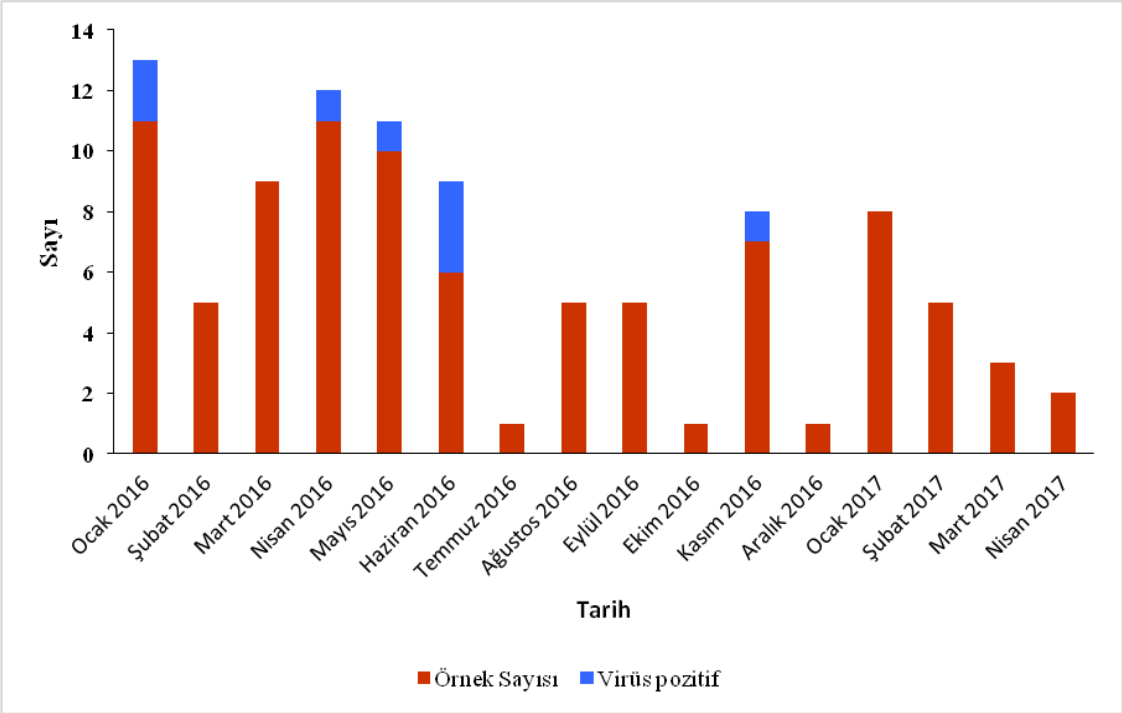
KOAH Evre	Virüs pozitif		Virüs negatif		Toplam		TRR (%95 GA)	p
	n	%	n	%	n	%		
A	1	17	5	83	6	6,7	1	-
B	4	13	27	87	31	34,4	0,7 (0,07-8,09)	> 0,99
C	0	0	14	100	14	15,6	0,2 (0,006-6,2)	> 0,99
D	3	8	36	92	39	43,3	0,4 (0,04-4,8)	0,895
Toplam	**8**	**8,9**	**82**	**91,1**	**90**	**100**		

Virüs tespit edilen örneklerin 3 tanesinde balgam kültürü sonucunda *S.pneumoniae,* bir tanesinde ise *H.influenza* üremesi tespit edilmiştir (Çizelge 4.13)

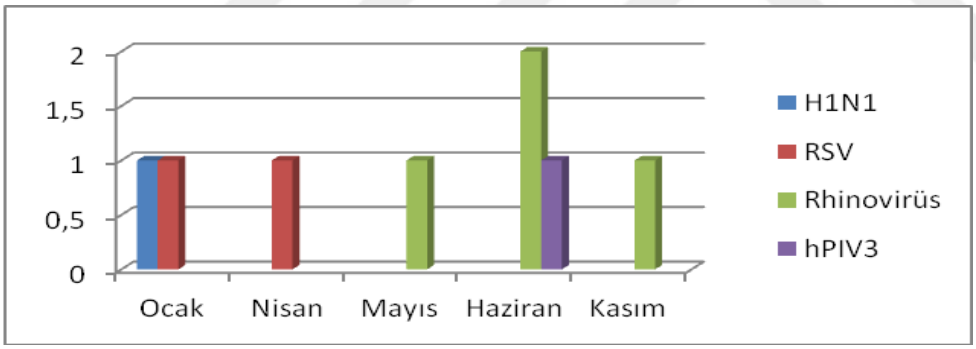
Çizelge 4.13. Virüs saptanan hastaların kültür sonuçları

Örnek No	PZR sonucu	Kültür sonucu
1	Influenza A (H1N1)	Bakteri saptanmadı
2	HPIV-3	Bakteri saptanmadı
3	RSV	*S.pneumoniae*
4	RSV	Bakteri saptanmadı
5	RV	*S.pneumoniae*
6	RV	*S.pneumoniae*
7	RV	*H.influenza*
8	RV	Bakteri saptanmadı

Virüs tespit edilen örneklerin yıl içinde mevsimlere göre dağılımları incelendiğinde mevsimler arasında belirgin bir farklılık görülmemiştir. Haziran ayında toplanan 3 örnekte, Ocak ayında toplanan 2 örnekte, Nisan, Mayıs ve Kasım aylarında toplanan birer adet örnekte virüs tespit edildiği görülmüştür (Şekil 4.12-4.13).



Şekil 4.12. Virüs tespit edilen örneklerin aylara göre dağılımı



Şekil 4.13. Tespit edilen virüs tiplerinin aylara göre dağılımı

Virüs tespit edilen hastalarda ortalama CRP değeri; 6,65±9,99 mg/dl (Referans aralık: 0-0,5 mg/dl) olarak bulunmuş olup, iki hastanın CRP değeri normal referans değerler arasında, 6 hastanın ise yüksek olarak tespit edilmiştir. Hastaların WBC ve nötrofil değerleri ise 4 hastada yüksek iken, 4 hastada normal aralıklarda ölçülmüş olup, sırasıyla ortalama 11,71±6,05x10^3/µl (Referans aralık: 4,6-10,2 x10^3/µl) ve 5,66±2,4644x10^3/µl (Referans aralık: 2-6,9x10^3/µl) olarak tespit edilmiştir. Üç hastada normal aralıkta bulunan sedimantasyon değeri kalan 5 hastada referans aralığın üzerinde ölçülmüş olup ortalama 43,9±33,7 mm/sa (Referans aralık: 0-20 mm/sa) olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.14 ve 4.15'te bazı değişkenlere göre, virüs tespit edilen ve edilmeyen hastaların karşılaştırılması görülmekte olup, değerlendirilen değişkenler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir.

Çizelge 4.14. Bazı değişkenlere göre virüs pozitif ve negatif hastaların dağılımı

Değişken		**Virüs Pozitif**		**Virüs Negatif**		**RR (%95 GA)**	**p**
		n	**%**	**n**	**%**		
Cinsiyet	Erkek	7	11	56	89	3 (0,3-23,2)	0,243*
	Kadın	1	4	26	96		
Yaş	<65	5	14	31	86	2,5 (0,6-9,8)	0,258*
	≥65	3	6	51	94		
Öksürük	Evet	7	9	71	91	1,1 (0,1-8)	1,000*
	Hayır	1	8	11	92		
Nefes darlığı	Evet	5	8	56	92	0,8 (0,2-3,4)	0,709*
	Hayır	3	10	26	90		
Göğüs ağrısı	Evet	4	20	16	80	3,5 (0,1-12,8)	0,070*
	Hayır	4	6	66	94		
Hışıltılı solunum	Evet	1	4	23	96	0,4 (0,05-3,02)	0,676*
	Hayır	7	11	59	89		
Balgam	Evet	4	6	66	94	0,3 (0,08-1,04)	0,070*
	Hayır	4	20	16	80		
Ateş	Evet	2	15	11	85	2 (0,4-8,8)	0,325*
	Hayır	6	8	71	92		
Sigara kullanma öyküsü	Evet	5	8	58	92	0,7 (0,2-2,8)	0,692*
	Hayır	3	11	24	89		
Mikroorganizma üremesi	Evet	4	20	16	80	3,5 (0,1-12,8)	0,070*
	Hayır	4	6	66	94		
İnfluenza aşısı	Evet	1	4	24	96	0,4 (0,05-2,9)	0,435*
	Hayır	7	11	58	89		
Antibiyotik öyküsü	Evet	-	-	16	100	1,1 (1,04-1,2)	0,342*
	Hayır	8	11	66	89		

* Fischer kesin ki-kare testi

Çizelge 4.15. Bazı değişkenlere göre virüs pozitif ve negatif hastaların dağılımı

Değişken		**Sayı**	**Ortalama**	**SS**	**p**
WBC (x10³/µl)	Virüs pozitif	8	11,71	6,05	0,670
	Virüs negatif	82	10,99	4,33	
Nötrofil(x10³/µl)	Virüs pozitif	8	5,66	2,46	0,160
	Virüs negatif	82	7,84	4,26	
Sedimantasyon (mm/sa)	Virüs pozitif	8	43,88	33,74	0,433
	Virüs negatif	47	33,7	20,99	
O2 saturasyonu	Virüs pozitif	7	91,57	3,91	0,604
	Virüs negatif	78	90,37	5,97	

Çalışma sonucunda bakteri, virüs ve bakteri ile virüs birlikteliği tespit edilen hastaların CRP, WBC ve nötrofil değerleri Çizelge 4.16'da görülmektedir.

Çizelge 4.16. Bakteri, virüs ve bakteri ile virüs birlikteliği tespit edilen hastaların CRP, WBC ve nötrofil değerleri

No	Tespit edilen mikroorganizma	CRP (Referans Aralık: 0-0,5 mg/dl)	WBC (Referans Aralık: 4,6-10,2x10³/µl)	Nötrofil (Referans Aralık: 2-6,9x10³/µl)
	Yalnız bakteri/maya tespit edilen hastalar			
1	*S. pneumoniae*	3,49	8,77	5,99
2	*P. aeruginosa*	8,76	11,3	7,45
3	*M. morganii*	2,68	12,3	10,5
4	*ESBL(+)E.coli*	1,0	12,7	9,94
5	*P. aeruginosa*	19,81	15,3	13,9
6	*P. aeruginosa*	8,76	11,3	7,45
7	*H. influenza*	11,96	19,9	14,6
8	*C. albicans*	2,07	13,2	12
9	*Candida spp*	4,25	20,2	16,4
10	*S. pneumoniae*	3,23	5,9	3,83
11	*S. pneumoniae*	4,52	11,9	7,56
12	*P. aeruginosa*	1,28	15,6	11,8
13	*P. aeruginosa*	0,57	8,69	4,99
14	*C. albicans*	12,52	10,6	10
15	*Acinetobacter spp*	0,5	11,7	6,72
16	*S .pneumoniae*	12,39	11,3	9,4
	Yalnız virüs tespit edilen hastalar			
1	İnfluenza A (H1N1)	0,86	24,9	3,31
2	RSV	3,71	6,65	3,59
3	RV	0,01	6,11	2,89
4	HPIV-3	3,37	10,4	7,34
	Bakteri+virüs tespit edilen hastalar			
1	*H. influenza* + RV	2,67	13,1	8,34
2	*S. pneumoniae*+ RSV	28,9	14,4	8,74
3	*S. pneumoniae* + RV	13,64	9,21	7,19
4	*S. pneumoniae* + RV	0,09	8,89	3,9

5. TARTIŞMA

Tüm dünyada yaygın olarak görülen ve ölümlere yol açan kronik hastalıklar arasında, 3.sırada görülen kronik solunum yolu hastalıkları yıllık yaklaşık 4 milyon ölüme yol açmaktadır. Kronik solunum yolu hastalıkları arasında yer alan KOAH'ın, 2030 yılında mortalite nedenleri arasında 3. sırada olacağı tahmin edilmektedir [166,167].

Dünyadaki KOAH prevalansına bakıldığında; erkeklerde kadınlara göre daha yaygın olarak görülmesi nedeniyle KOAH, uzun yıllar erkek hastalığı olarak değerlendirilmiştir. [168]. Raherison ve Girodet'in KOAH epidemiyolojisi ile ilgili çalışmasında; erkeklerde KOAH prevalansının % 9,7, kadınlarda ise % 5,6 olduğu görülmüştür [169]. Halen KOAH prevalansı erkeklerde kadınlara göre yüksek olmakla birlikte, son 20 yılda, KOAH prevalansı ve mortalitesinde, kadınlarda erkeklere göre hızlı bir artış olduğu görülmektedir. Bu durum, KOAH'ın erkek hastalığı olduğu görüşünü değiştirmektedir. Kadınlardaki artan prevalansın nedeninin, KOAH için esas risk faktörü olan sigara içme alışkanlıklarındaki değişime bağlı olduğu düşünülmektedir [170]. Sigara KOAH için en önemli risk faktörü olarak değerlendirilmesine rağmen, yapılan bir çalışmada, hastaların % 42,9'unun hayatında hiç sigara kullanmamış olduğu tespit edilmiştir [171]. Bizim çalışmamızda da KOAH'ın en önemli risk faktörü olan sigara kullanım durumları incelendiğinde, hastaların % 70'inin sigara kullanma öyküsünün olduğu görülmüştür. Ancak hastaların % 30'unun ise hiç sigara kullanmadığı tespit edilmiştir. Ntritsos ve diğerlerinin yaptığı meta analizde; KOAH prevalansı, erkeklerde % 9,2, kadınlarda % 6,2 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada 40 yaş ve üstü kişiler değerlendirildiğinde prevalansın, erkeklerde % 11,5'e, kadınlarda ise % 7,5'ye yükseldiği görülmüştür. Tüm yaş grupları ayrı ayrı değerlendirildiğinde; 15-39 yaş arası erkeklerde % 3,6, kadınlarda % 3,4, 40-69 yaş arası erkeklerde % 10, kadınlarda % 6,3, 70 yaş ve üstü erkeklerde % 27,2, kadınlarda % 16 oranında görüldüğü tespit edilmiştir. Her iki cinsiyette de en düşük prevalansın en genç yaş grubunda, en yüksek prevalansın ise 70 yaş ve üstü grubunda olduğu görülmüştür [172]. Bizim çalışmamızda da, literatür ile uyumlu olarak, KOAH tanısı almış olup akut atak ile başvuran hastaların % 70' inin erkek olduğu görülmüştür. Yaş gruplarına bakıldığında, çalışmamızdaki hastaların % 60'ının 65 yaş ve üstündeki hastalardan oluştuğu, bunu % 18,9 ile 60-64 yaş arası hastalar ve % 10 ile 55-59 yaş arası hastaların takip ettiği görülmüştür. Yaş gruplarının cinsiyetlere göre dağılımına bakıldığında; çalışmamızda da, yukarıda anlatılan meta analiz verilerine benzer şekilde, her iki cinsiyette de ileri yaş

grubunda KOAH görülme oranının arttığı belirlenmiştir. En fazla hasta 65 yaş ve üstü grupta (% 60) tespit edilmiş olup, bunu 60-64 yaş grubu (% 18,9) izlemiştir. Yine literatür ile uyumlu olarak, 65 yaş ve üstü grupta da erkeklerin kadınlara göre fazla oranda olduğu görülmüştür.

İlerleyici bir hastalık olan KOAH'ta hastalığın hem stabil olduğu ve hem de alevlenmelerin olduğu dönemler görülmektedir. Alevlenmelerin yaklaşık olarak üçte ikisinde sebep belirlenememekle birlikte, bakteriyel/viral enfeksiyonlar ya da çevresel kirlilik alevlenmelere yol açıyor olabilir. Ancak yeni tanı tekniklerinin kullanıma girmesi ile birlikte, bakteriyel/viral enfeksiyonların, alevlenmedeki rolleri hakkında daha fazla bilgi edinilebilmektedir.

Cukic'in yaptığı çalışmada; balgam kültüründe % 41,34 oranında bakteri tespit edilmiştir. En sık tespit edilen bakteriler *Streptococcus pneumoniae, Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli* olup, diğer bakteriler ise *Pseudomonas aeruginosa, Haemophilus influenzae,* Gram negatif enterik bakteriler, *Staphylococcus aureus* ve *Acinetobacter baumanii*'dir [173]. Estirado ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada ise % 44 oranında kültür pozitifliği saptanmış olup, en sık; *S.pneumoniae, H. influenzae* ve *P. aeruginosa* görülmüştür [174]. Ülkemizde, Köktürk ve diğerleri tarafından, stabil dönem ve alevlenme dönemindeki hastalarda yapılan bir çalışmada; *A. baumannii, H. influenzae, P. aeruginosa, E. coli* ve *K. pneumoniae* varlığı saptanmıştır [175]. Bizim çalımamızda % 22,2 oranında patojen mikroorganizma tespit edilmiş olup, bu durum diğer çalışmalara benzer şekilde (en fazla *S.pneumoniae* ve *P.aeruginosa)* olmuştur. Çalışmamızda tespit edilen diğer bakteriler ise; *Acinetobacter spp, E.coli, H. influenzae* olmuştur. Bu çalışmalardan farklı olarak, çalışmamızda *M.morganii* ve 3 hastada da *Candida spp* izole edilmiştir. Solunum parametrelerinin daha kötü olduğu, sık alevlenme geçiren ve hastanede yatışı gerektiren alevlenme öyküsü olan daha ciddi hastalarda, *P. aeruginosa'*nın daha fazla tespit edildiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır [176-178]. Bizim çalışmamızda da *P.aeruginosa* yalnızca hastalığın ileri evresi olan, evre D hastalardan izole edilmiştir. Bakterilerin araştırıldığı çoğu çalışmada genellikle konvansiyonel kültür metodu tercih edilmiş olup, kantitatif PZR tekniği ile kültür yönteminin karşılaştırıldığı çalışmalarda; PZR yöntemi kullanıldığında bakteri tespit oranının arttığı görülmektedir [179-182].

Kuwal ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada, KOAH evrelerine göre bakteri varlığı araştırılmıştır. Bu çalışmada hastalar spirometrik olarak evrelenmiş ve en fazla bakteri izole edilen evrenin sırasıyla; evre 2-3-4 ve evre 1 olduğu görülmüştür. Aynı zamanda bu çalışmada bakteri saptanan hastaların % 86,8'inin sigara kullanma öyküsünün olduğu görülmüştür [183]. Ülkemizde yapılan bir tez çalışmasında ise, en fazla evre 3 hastalardan bakteri izole edilmiştir [182]. Dai ve diğerlerinin yaptığı çalışmada, bakteri üremesi olan hastaların KOAH evrelerine bakıldığında, daha çok evre C ve evre D hastalar olduğu görülmüştür. Bu çalışmada bakteri izole edilen örneklerin % 12'sinde beraberinde virüs de tespit edilmiştir. [184]. Aydemir ve diğerlerinin çalışmasında ise en fazla evre D hastalardan, daha sonra evre C ve B hastalardan bakteri izole edildiği gösterilmiştir. Evre D hastalarda tespit edilen bakteri sayısında ve çeşitliliğinde artış görülmesine rağmen, bakteri varlığı ile KOAH evreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmemiştir. Ancak *P.aeruginosa, E. coli* ve *A.baumannii* yalnızca evre D hastalardan izole edilebilmiştir [181].

Bizim çalışmamızda evrelere göre pozitiflik oranlarına bakıldığında literatür ile uyumlu olarak ileri evrelerde daha fazla bakteri saptandığı görülmüştür. Çalışmamızda en fazla D, sonra B ve C evrelerinde bakteri tespit edildiği görülmüştür. Ancak evre A'da hiç bakteri tespit edilememiştir. Benzer şekilde, çalışmamızda da, bakteri sayı ve çeşitliliğinin, evre D hastalarda fazla olduğu görülmüştür. *P.aeruginosa* ve *M.morganii* yalnızca evre D hastalarda saptanmış, ayrıca tespit edilen 3 kandida türünün de sadece evre D hastalardan izole edildiği görülmüştür. Bizim çalışmamızda bakteri araştırılması için kültür yöntemi kullanılmış olup, literarüre göre daha az sayıda ve çeşitlilikte bakteri tespit edilebilmiş olmasının esas nedeni olarak, moleküler bir yöntemin kullanılmaması olduğunu düşünüyoruz.

Virüsler, KOAH alevlenmelerinin en önemli nedenleri arasında düşünülmekte olup, PZR teknolojisinin kullanımı ile KOAH alevlenmelerinin % 22 ile % 64'ünde alevlenmeden sorumlu etkenin virüsler olduğu görülmüş ve en yaygın belirlenen etken ise rinovirüsler olmuştur. Yapılan çalışmalarda; stabil dönemdeki KOAH'lı hastalarda rinovirüs inokulasyonunu takiben, alevlenmelere benzer şekilde, alt solunum yolu semptomlarında, hava yolu obstrüksiyonunda, sistemik ve bölgesel inflamasyonda artış olduğu görülmüştür. Ayrıca sık alevlenme görülen hastaların viral ve/veya bakteriyel enfeksiyonlara daha duyarlı olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır [185]. Solunum yolunun viral

enfeksiyonlarında, hedef hücreler akciğerdeki epitelyal hücreler olup, virüsler; deskuamasyon, mikrovasküler dilatasyon, ödem ve inflamatuar hücre infiltrasyonuna yol açarlar. Meydana gelen bu değişiklikler, bakteriyel alt solunum yolu enfeksiyonları için predispozan faktördür. Bu değişikliklere bağlı olarak, mukosiliyer fonksiyonlarda ve makrofajlar tarafından bakterilerin temizlenmesinde azalma meydana gelir. Ortaya çıkan hiperinflamasyon da hastalığın ilerlemesine katkıda bulunur [186].

Solunum yolu virüslerinin erken tanısı hem tedavi hem de enfeksiyon kontrol önlemleri açısından oldukça önemli olup, erken tedavi ile komplikasyonlar azaltılabileceği gibi gereksiz antibiyotik kullanımı da büyük ölçüde engellenebilir. Virüs kültürü veya direkt immunfloresan testler gibi yöntemler, moleküler yöntemler ile kıyaslandığında hem zaman alıcıdır hem de duyarlılık ve özgüllükleri moleküler yöntemlere göre daha düşüktür [187]. Solunum yolu patojenlerinin tanısında nükleik asit tespitine dayalı yöntemlerin diğer tanı yöntemlerine göre birçok avantajı bulunmaktadır. Moleküler yöntemler yüksek duyarlılığa sahip olmanın yanısıra, otomatizasyona uygun bir yöntem olup, yeni ortaya çıkan patojenlere kolaylıkla adapte edilebilir [188]. Ayrıca bu yöntemler ile geniş bir spektrumda viral etken kolaylıkla tanımlanabilmektedir. Birden fazla etkeni aynı anda tanımlayabilen multipleks yöntemler kullanılarak, klinik semptomlarla ilişkili olabilecek tüm virüsler tek bir reaksiyonda incelenebilmektedir [189]. Real time PZR metodunda tek bir reaksiyon tüpünde hem amplifikasyon hem de tanımlama yapılmakta olup böylece kontaminasyon riski düşürülmektedir [188]. Real time kantitatif PZR yöntemi, virüslerin hızlı tanısının yanında aynı zamanda kantitasyonuna da olanak sağlamaktadır. Bu yöntem ile hem enfeksiyonun farklı dönemlerindeki viral yükün tespiti olanaklı hale gelmekte, hem de tedavinin etkinliği izlenebilmektedir. Solunum virüslerinin yüksek duyarlılıkta ve kesin tanısı, enfeksiyon etkenlerinin tanımlanması, salgınların araştırılması, viral enfeksiyonların bulaşı, önlenmesi ve kontrolünde kritik rol oynamaktadır. Moleküler metodlar, konvansiyonel yöntemlerle karşılaştırıldığında solunum yolu virüslerinin tanısında devrim sağlamıştır [190]. Real time PZR yöntemi kullanılarak yapılan çalışmalarda, diğer tanı yöntemleri kullanılarak yapılan çalışmalara oranla daha yüksek oranda viral etkenin tespit edildiği görülmüştür [191]. Shimizu ve diğerleri tarafından yapılan bir çalışmada, balgam kültürü, serolojik testler, *S.pneumoniae* ve *L.pneumophila* için idrar antijen testi ve influenza için antijen testleri kullanıldığı zaman % 52 oranında, real time PZR yöntemi kullanıldığında ise % 64 oranında patojen bir organizma saptanmış olup, her iki yöntem ile toplamda % 88 oranında patojen etken tespit edilebilmiştir. Diğer yöntemler kullanıldığı

zaman sadece % 8 oranında virüs tespit edilebilirken, PZR yöntemi kullanıldığında bu oram % 32'ye çıkmıştır. Çalışmada; influenza virüsü, antijen testi ile % 10, PZR yöntemi ile % 14 oranında saptanabilmiş, ancak PZR ile tespit edilebilen RSV, rinovirüs ve parainfluenza virüs ise konvansiyonel yöntemler kullanıldığında hiç tespit edilememiştir [192].

Multipleks PZR, nested PZR, reverse transkriptaz nested PZR, microarray yöntemi gibi farklı yöntemler ve farklı örnek tipleri kullanılarak, KOAH alevlenmelerinde virüslerin rolünü araştıran çalışmalarda, solunum virüsleri değişen oranlarda tespit edilmiştir. Tespit edilen virüsler arasında; adenovirüs, influenza virüs, RV, RSV, HPIV, hMPV yer almaktadır [31,53,193,194]. Koul ve diğerleri tarafından nazofarengeal ve orofarengeal sürüntü örnekleri kulllanılarak yapılan bir çalışmada % 19,7 oranında virüs pozitifliği bulunmuş ve en sık karşılaşılan virüsler % 7,7 oranında influenza virüs ve % 4,7 oranında RV olmuştur. Tespit edilen diğer virüsler; adenovirüs, bokavirüs, koronavirüs, enterovirüs, hMPV, HPIV'tür. Bu çalışmada sadece 7 hastanın (7/233) influenza aşısı olduğu görülmüştür [195]. Wilkinson ve diğerleri tarafından real time PZR yöntemi kullanılarak yapılan bir çalışmada ise, balgam örneklerinde değişen oranlarda HPIV, bokavirüs, adenovirüs, hMPV, RSV, influenza virüs, koronavirüs tespit edilmiştir. Bu çalışmada en sık RV tespit edilmiştir [196]. Ülkemizde KOAH alevlenmelerinde virüslerin rolünü araştıran sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Köktürk ve diğerlerinin yaptığı çalışmada; KOAH alevlenmesi olan 27 hastada, adenovirüs ve RSV A/B virüsleri PZR yöntemi ile araştırılmış, örnek tipi olarak kan, balgam ve nazal aspirat kullanılmıştır. Hastaların 3'ünde adenovirüs (% 11,1), 17'sinde (% 63) RSV-A pozitif bulunmuş, RSV serotip B hiçbir hastada gösterilememiştir. Adenovirüs sadece balgam (% 11,1) örneğinde, RSV-A ise balgam (% 44,4), kan (% 11,1) ve nazal aspirat (% 33,3) örneklerinde tespit edilmiştir [175]. Ülkemizde KOAH alevlenmelerinde virüslerin araştırıldığı diğer iki çalışmada yöntem olarak ELISA kullanılmış olup, Güldaval ve diğerlerinin yaptığı çalışmada; serum örneklerinde RSV ve adenovirüs araştırılmış, % 29,5 oranında RSV pozitifliği ve % 7 oranında da adenovirüs pozitifliği saptanmıştır [197]. Erdem ve diğerlerini yaptığı çalışmada ise % 86,6 RSV, % 93,3 adenovirüs ve % 60 oranında influenza virüs tespit edilmiştir [198]. Bu çalışmalarda, yöntem olarak daha düşük duyarlılıktaki ELISA yöntemi kullanılmış ve daha az sayıda virüs araştırılmıştır. Bizim çalışmamızda ise yöntem olarak yüksek duyarlılığa sahip multipleks real time PZR tekniği kullanılmış olup, influenza A (H1N1), RSV, HPIV-3, hMPV, RV ve bokavirüs araştırılmıştır. Çalışmamızda % 7,8

oranında (8/90) viral etken bulunmuştur. Tespit edilen viral etkenler; % 4,44 (4/90) oranında RV, % 2,22 (2/90) oranında RSV, % 1,11 (1/90) oranında influenza A (H1N1) ve % 1,11 (1/90) oranında HPIV-3 olmuştur. Çalışmamızda araştırılan hMPV ve bokavirüs ise hiçbir örnekte tespit edilememiştir. Tespit edilen virüslerin türlerine göre dağılımlarına bakıldığında en fazla tespit edilen tür; 8 hastanın 4'ünde pozitif bulunan RV (% 50) olmuştur, RV'yi sırasıyla RSV (% 25; 2/8), HPIV-3 (% 12,5; 1/8) ve influenza A H1N1 (% 12,5; 1/8) takip etmiştir. Literatürde en sık tespit edilen virüsler çalışma yöntemine ve örneklerin toplandığı mevsimlere göre değişmekle birlikte, genellikle akut alevlenmelerde en sık belirklenen virüs çalışmamızda da olduğu gibi RV'dir. Rhinovirüsler uzun yıllar soğuk algınlığı etkeni olarak bilinmesine rağmen, yüksek duyarlılığa sahip moleküler yöntemlerin kullanıma girmesi ile bu virüsün, klinik örneklerden tespiti kolaylaşmış ve böylece alt solunum yolunu etkileyen birçok hastalık ile RV'nin ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda örnek olarak balgam kullanılmış olup, en fazla görülen virüs RV olmuştur. Balgam, alt solunum yolu hastalıklarını daha iyi yansıtması açısından değerli bir örnek olmasına karşın, yeterli miktarda ve doğru şekilde alınmasındaki zorluklar ve vizköz yapısından dolayı işlenmesinin zor olması sebebiyle çok tercih edilmeyen bir örnek tipidir.

Branche ve diğerlerinin solunum yolu hastalıklarında virüslerin tespit edilmesine yönelik yaptıkları çalışmada, sadece balgam örneği kullanılarak yapılan real time PZR testinde % 35 oranında virüs tespit edilirken, nazofarengeal sürüntü kullanıldığında % 24, her iki örneğin birlikte kullanıldığı durumda ise % 41 oranında virüs tespiti mümkün olmuştur [199]. Shimizu ve diğerlerinin, balgam ve nazofarengeal sürüntü örnekleri kullanarak real time PZR yöntemi ile yaptıkları çalışmada ise; nazofarengeal sürüntü örneklerinde % 30, balgam örneklerinde % 18 oranında virüs tespit edilebilmiştir. Bu çalışmada tespit edilebilen virüsler; % 14 oranında influenza virüs (nazofarengeal sürüntü; % 14, balgam; % 8), % 4 oranında rinovirüs (nazofarengeal sürüntü; % 4, balgam; 0), % 8 oranında RSV (nazofarengeal sürüntü; % 8, balgam; % 4), % 8 oranında parainfluenza virüs (nazofarengeal sürüntü; % 6, balgam; % 6) olmuştur [192]. Farklı örnek tiplerinin kullanıldığı bu çalışmada, parainfluenza virüs her iki örnek tipinde de eşit oranda tespit edilmiş, diğer virüslerin nazofarengeal sürüntü örneklerinde, balgam örneklerine göre daha fazla oranda tespit edildiği görülmüştür. Çalışmamızda duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek bir yöntem olan real time multipleks PZR yöntemi kullanılmış olmasına rağmen, literatüre göre daha az sayıda viral etken saptanmış ve araştırılan bazı virüsler ise hiç tespit

edilememiştir. Bu durumun nedeninin, örnek olarak balgamı kullanmamız olabileceğini düşünüyoruz.

Hastalığın evrelerine göre virüs varlığının araştırıldığı, Dimopoulos ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada, balgam ve orofarengeal lavaj örneklerinde en sık tespit edilen üç virüs sırasıyla; RSV (% 40,5), influenza virüs (% 11) ve RV (% 8) olmuştur. Virüs tespit edilen örneklerin % 41,6'sının KOAH evre 1, % 53,3'ünün evre 2 ve % 54,5'inin evre 3/4 hastalardan oluştuğu görülmüştür. Ancak evreler ile virüs tespiti arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Virüs saptanan hastaların % 47,7'sinin influenza aşısı yaptırdığı görülmüştür [200]. Bizim çalışmamızda da, bu çalışmada saptanan RSV, RV ve influenza virüs saptanmış, fakat farklı olarak RV en fazla tespit edilen virüs olmuştur. Çalışmamızda da KOAH evrelerine göre pozitifliklere bakıldığında; virüs tespit edilen hastaların en fazla evre B ve D hastalar olduğu görülmüş; pozitiflik oranları sırasıyla evre B; (% 50), evre D (%37,5) ve evre A (% 12,5) şeklinde olmuştur. Evre C hastalardan hiç virüs tespit edilmemiştir. Ancak benzer şekilde çalışmamızda da virüs pozitifliği açısından KOAH evreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Çalışmamızdaki toplam hasta sayısının az olması, her bir KOAH evresinde az sayıda virüs tespit edilmesi ve hasta sayıları açısından evreler arasındaki farklılıklar, istatistiksel anlam saptanamamasına yol açmıştır. İnfluenza aşılanma durumları açısından çalışmamıza dahil edilen tüm hastaların % 27,8'inin influenza aşısı olduğu, viral etken saptananların ise % 12,5'inin (1/8 hasta) aşılı olduğu gözlenmiştir.

Alevlenmelerde virüs ve bakterilerin birlikteliğine de sık rastlanılmaktadır. Alevlenmelerin % 25'inde bakteriyel ve viral etkenlerin koinfeksiyonu görülmektedir [186]. Real time multipleks PZR tekniği (virüs) ve balgam kütürü (bakteri) kullanılarak, nazofarengeal sürüntü örneklerinde bakteri ve virüslerin araştırıldığı bir çalışmada % 26 oranında yalnızca virüs, % 13 oranında yalnızca bakteri ve % 12 oranında bakteri ve virüs birlikteliği tespit edilmiştir. En sık belirlenen viral etken RV, bakteriyel etken ise *H.influenza* olmuştur. Bu çalışmada bakteri araştırması için sadece kültür testi kullanılmış olup, moleküler bir yöntem kullanılmamıştır [201]. Gallego ve diğerlerinin çalışmasında, bakteriyel etkenler için kültür, viral etkenler için ise real time PZR tekniği kullanılmış; % 19,2 oranında bakteri ve virüs birlikteliği tespit edilmiştir. En sık belirlenen viral etken RV, bakteriyel etken *H.influenza* olmuştur. Virüslerin mevsimsel dağılımında, sonbahar ve kış aylarında prevalansın yüksek olduğu görülmüştür. Ancak RV'nin yılın tüm

zamanlarında yaygın olarak görüldüğü tespit edilmiştir [202]. Çalışmamızda virüs tespit edilen 8 hastanın 4'ünde (%50) bakteriyel bir etken ile birliktelik görülmüştür. İnfluenza ve HPIV-3 saptanan hastalarda herhangi bir bakteriyel etken saptanmazken, RSV saptanan hastaların birinde *S.pneumoniae*, RV saptanan hastaların ikisinde *S.pneumoniae* ve birinde ise *H.influenza* saptanmıştır. Virüs ve bakteri birlikteliği ile yalnız virüs tespit edilmesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ancak bu iki gruptaki hasta sayılarının az olmasının, istatistiksel değerlendirmeyi etkilemiş olabileceğini düşünmekteyiz.

Virüslere bağlı KOAH alevlenmelerinin mevsimsel değişimini araştıran Djamin ve diğerlerinin araştırmasında, virüsle indüklenen alevlenmelerin en fazla kış aylarında (%40) görüldüğü tespit edilmiş, ancak RV'ye bağlı alevlenmeler, en fazla Temmuz ayında tespit edilmiştir. Diğer mevsimlere dağılımı; yaz (% 25,7), sonbahar (% 17,1) ve ilkbahar ayları (% 17,1) şeklinde olmuştur. Bu çalışmada en sık tespit edilen tip RV (% 51,4) olmuş, bunu RSV (% 16,2), hMPV (% 13,5), influenza virüs (% 10,8), HPIV-4 (% 5,4) ve HPIV-3 (% 2,7) takip etmiştir [203]. Koul ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada en sık bulunan virüslerden influenza virüsün daha çok Kasım-Şubat arasında, RV'nin ise yaz ayları dışında her mevsimde tespit edildiği görülmüştür [195] Wilkinson ve diğerlerinin çalışmasında da RV tüm yıl boyunca tespit edilebilmiştir [196]. Bizim çalışmamızda ise en çok kış ve ilkbahar aylarında örnek toplanmış olmasına karşın, virüs tespit edilen örneklerin mevsimlere göre dağılımlarında belirgin bir farklılık görülmemiştir. Ancak çalışmamızda da, RV pozitif bulunan dört örnekten ikisinin Haziran ayında, diğerlerinin ise Kasım ve Mayıs aylarında tespit edildiği görülmüştür. Saptanan diğer virüslerin aylara göre dağılımları; influenza A (H1N1) Ocak, RSV pozitif bulunan iki örnekten biri Ocak, diğeri Nisan, HPIV-3- Haziran ayı şeklindedir. Çalışmamızda tüm aylarda örnek toplanmaya çalışılmış olmasına rağmen, bazı aylarda daha az sayıda örnek toplanabilmiştir. Pozitif saptanan örneklerin az sayıda olması sebebiyle, mevsimler ile viral etken varlığı arasında istatistiksel bir değerlendirme yapılamamıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, çalışmamızda KOAH akut alevlenmesi ile başvuran hastaların, literatür ile uyumlu olarak, % 70'inin erkek, % 30'unun kadın olduğu görülmüştür. Hastaların % 60 'ının 65 yaş ve üstünde olduğu ve bu yaş grubunda da erkek hastaların (% 66,7), kadınlara (% 33,3) göre daha yüksek oranda olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızdaki hastaların % 70'inin sigara kullanma öyküsü bulunmakta olup, hastaların % 27,8'inin influenza aşısı yaptırdığı görülmüştür.

Akut alevlenme tanısı ile çalışmamıza dahil edilen 90 hastanın 20'sinde (% 22,2) kültür yöntemi kullanılarak bakteri/maya tespit edilmiştir. Yapılan diğer çalışmalara benzer şekilde en sık tespit edilen bakteriler; *S.pneumoniae* ve *P.aeruginosa* olmuştur. Bu bakterileri *H.influenza, E.coli, M.morganii, Acinetobacter spp* izlemiştir. Çalışmamızda üç hastada ise *Candida spp* saptanmış olup, literatüre göre daha az sayıda ve çeşitlilikte bakteri saptanmış olmasının sebebinin, moleküler yöntem kullanılmamış olması olduğunu düşünmekteyiz. Mikroorganizmaların KOAH evrelerine göre dağılımlarına bakıldığında en fazla evre D (% 33,3) hastalarda olmak üzere sırasıyla evre B (% 16,1) ve evre C (% 14,3) şeklinde devam etmiştir. Evre A hastaların hiçbirinde patojen bakteri veya maya saptanmamıştır. Literatür ile uyumlu olarak evre D hastalarda görülen patojenlerin sayısı ve çeşitliliğinin diğer evrelere göre fazla olduğu görülmüş, ancak bakteri/maya varlığı açısından evreler arasında istatistiksel anlam tespit edilmemiştir.

Çalışmamızda KOAH akut alevlenmesi olan 90 hastanın % 7,8'inde viral etken tespit edilmiştir. Tespit edilen etkenler; influenza A (H1N1), RSV, HPIV-3 ve RV olmuştur. Virüs saptanan örneklerin % 50'si RV, % 25'i RSV, % 12,5'i influenza A (H1N1) ve % 12,5'i HPIV pozitif bulunmuştur. Literatüre benzer şekilde çalışmamızda da en fazla belirlenen viral etken RV'dir. Çalışmamızda az sayıda virüsün tespit edilme nedeninin, örnek olarak, balgamı kullanılmamız olabileceğini düşünüyoruz. Hastaların KOAH evreleri incelendiğinde, viral etken tespit edilen hastaların en fazla evre B (% 50) hastalar olduğu, bunu sırasıyla evre D ve A'nın takip ettiği, evre C'de hiç virüs saptanmadığı görülmüş, virüs varlığı açısından evreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Ancak bu durum, çalışılan örnek sayısının az olması ve tespit edilen virüs sayısının az olmasına bağlı olarak ortaya çıkmış olabilir.

Çalışmamızda virüs tespit edilen 8 örneğin 4'ünde (% 50) beraberinde patojen bakteri varlığı görülmüşütr. Tespit edilen virüs ve bakteri birliktelikleri; RSV saptanan bir örnekte *S.pneumoniae,* RV saptanan üç örneğin ikisinde *S.pneumoniae* ve birinde *H.influenza* şeklinde olmuştur.

Çalışmamızda en fazla kış ve ilkbahar aylarında örnek toplanmıştır. Virüs tespit edilen örneklerin mevsimsel dağılımına bakıldığında mevsimler arasında belirgin bir farklılık bulunmamakla birlikte, RV tespit edilen 4 örnekten 2'sinin Haziran ayında, birinin Mayıs ayında diğerinin ise Kasım ayında tespit edildiği görülmüştür. Virüs pozitif örneklerin sayılarının az olması sebebiyle, aylara göre viral etken dağılımları açısından istatistiksel değerlendirme yapılamamıştır.

Alevlenme dönemleri, hastaların yaşam kalitelerini bozmakta, akciğer fonksiyonlarını etkilemekte ve ekonomik maliyetleri artırmaktadır. Trakeobronşiyal enfeksiyonlar, KOAH akut ataklarının en yaygın nedenlerinden biridir. KOAH tedavisinde solunum yolu virüsleri önemli bir hedef olup, viral enfeksiyonların önlenmesi, KOAH alevlenme sıklığını azaltacaktır. Alevlenme sıklığının azalmasına bağlı olarak da, KOAH ilişkili mortalite ve morbiditede azalma meydana gelecektir. Yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip moleküler tanı yöntemlerinin kullanımı, KOAH alevlenmelerinde etken olabilecek viral etkenlerin hızlı ve doğru bir şekilde tespitini olanaklı hale getirmiştir. Alevlenmelere yol açan viral etkenlerin belirlenmesi, özellikle aşı ile önlenebilen etkenler açısından olmak üzere, alevlenmelerin önlenmesini, erken tanı ve hızlı tedavisini sağlayarak, hastaların yaşam kalitelerinin artırılmasını ve hastanede yatış ihtiyacının da azaltılmasını sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). (2017). *Global strategy for the diagnosis, management and prevention of COPD*. (*2017 Report*). Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease Inc.1-123.

2. Teramoto S. (2007). COPD pathogenesis from the viewpoint of risk factors. *The Japanese Society of Internal Medicine,* 46(2), 77-79.

3. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) koruma, tanı ve tedavi raporu, bölüm 1 (2014). *Türk Toraks Dergisi,* 15(2), 1-11.

4. Sohal S. S., Eapen M. S., Shukla S. D., Courtney J. M., Mahmood M. Q., and Walters E. H. (2014). Novel insights into chronic obstructive pulmonary disease (COPD): An overview. E*uropean Medical Journal,* 2, 81-87.

5. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). (2015). *Pocket Guide to COPD diagnosis, management and prevention. A guide for health care professionals, updated 2015.* Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease Inc. 1-27.

6. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) koruma, tanı ve tedavi raporu, bölüm 3 (2014). *Türk Toraks Dergisi,* 15(2), 19-29.

7. Andreoli T. E, Carpenter C. C. J., Bennett J. C., and Plum F. (2000). *Cecil essentials of medicine Türkçesi*. (Çev. M Tuzcu, S Çalangu, A Sıva). Nobel Tıp Kitapevi (Eserin orjinali 1997'de yayınlandı). 131-139.

8. Mallia P, Contoli M, Caramori G, Pandit A, Johnston S. L. and Papi A. (2007). Exacerbations of Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD): Focus on virus induced exacerbations. *Current Pharmaceutical Design,* 13, 73-97.

9. İnternet: Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization). The top 10 causes of death. URL: http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.who.int%2Fen%2Fnews-room%2Ffact-sheets%2Fdetail%2Fthe-top-10-causes-of-death&date=2018-12-24. Son erişim tarihi: 24.12.2018: 2018-12-24.

10. İnternet:Türkiye İstatistik Kurumu. Ölüm istatistikleri. URL: http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.turkstat.gov.tr%2FPreTablo.do%3Falt_id%3D1083&date=2018-12-24 Son erişim tarihi: 24.12.2018.

11. Başyiğit İ. (2010). KOAH patogenezi ve fizyopatolojisi. *TTD Toraks Cerrahisi Bülteni*, 1(2),114-118.

12. MacNee W. (2005). Pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 2, 258-266

13. Tuder R. M., and Petrache I. (2012). Pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Journal of Clinical Investigation,* 122(8), 2749–2755.

14. Singh N., Vats A., Sharma A, Arora A., and Kumar A. (2017). The development of lower respiratory tractmicrobiome in mice. *Microbiome,* 5(61), 1-16.

15. Dickson R. P., and Huffnagle G. B. (2015). The lung microbiome: New principles for respiratory bacteriology in health and disease. *PLOS Pathogens*, 11(7):e1004923.

16. Huang Y. J., Charlson E. S., Collman R. G., Colombini-Hatch S, Martinez F. D., and Senior R. M. (2013). The role of the lung microbiome in health and disease. A national heart, lung, and blood institute work shop report. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine,* 187(12),1382-1387.

17. Rosell A, Monsó E, Soler N, Torres F, Angrill J, Riise G, Zalacaín R, Morera J, and Torres A. (2005). Microbiologic determinants of exacerbationin chronic obstructive pulmonary disease. *Archives of Internal Medicine,* 165, 891-897.

18. Desai H, Eschberger K, Wrona C, Grove L, Agrawa A, Grant B, Yin J, Parameswaran GI, Murphy T, and Sethi S. (2014). Bacterial colonization increases daily symptoms in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Annals of the American Thoracic Society,* 11(3), 303-309.

19. Falsey A. R., Formica M. A., Hennessey P. A., Criddle M. M., Sullender W. M., and Walsh E. E. (2006). Detection of Respiratory Syncytial Virus in adults with chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*,173, 639-643.

20. McManusa T. E., Marleya A. M., Baxtera N, Christieb S. N., Elbornd J. S., Heaneyd L. G., Coyleb P. V., and Kidney J. C. (2007). Acute and latent adenovirus in COPD. *Respiratory Medicine*, 101, 2084–2090.

21. Wang L., Hao K., Yang T., and Wang C. (2017). Role of the lung microbiome in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Chinese Medical Journal,* 130, 2107-2111.

22. Sarınç Ulaşlı S., Ünlü M. (2013). KOAH'ın ağırlık sınıflamasında yeni konsept. *Güncel Göğus Hastalıkları Serisi*, 1 (1): 13-19.

23. Türk Toraks Derneği. (2017). *Türk Toraks Derneği'nin GOLD 2017 Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) raporuna bakışı*. Aves yayıncılık, İstanbul, 1-33.

24. Bourne S., Cohet C., Kim V., Barton A., Tuck A., Aris E., Mesia-Vela S., Devaster J. M., Ballou W. R., Clarke S., and Wilkinson T. (2014). Acute exacerbation and respiratory infections in COPD (AERIS): protocol for a prospective, observational cohort study. *BMJ Open,* 4:e004546.

25. Erk M. (2003). KOAH alevlenmesi. *Solunum,* 5(9), 285-290.

26. Alfredo A., Gaetano C., Paolo C., Marco C., Johnston S. L., and Alberto P. (2007). Pathophysiology of viral-induced exacerbations of COPD. *International Journal of COPD*, 2(4), 477–483.

27. Boixeda R., Rabella N., Sauca G., Delgado M., Martínez-Costa X., Mauri M., Vicente V., Palomera E., Serra-Prat M. and Capdevila J. A. (2012). Microbiological study of patients hospitalized for acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AE-COPD) and the usefulness of analytical and clinical parameters in its identification (VIRAE study) . *International Journal of COPD*, 7, 327–335.

28. Sercan E. Ö. (2009). KOAH'ta alevlenme nedenleri ve Alevlenmenin Değerlendirilmesi. *Solunum (KOAH ek sayısı),* 7-10.

29. Chang C. H., Tsao K. C., Hu H. C., Huang C. C., Kao K. C., Chen N. H., Yang C. T., Tsai Y. H., and Hsieh M. J. (2015). Procalcitonin and C-reactive protein cannot differentiate bacterial or viral infection in COPD exacerbation requiring emergency department visits. *International Journal of COPD*, 10, 767–774.

30. Rohde G., Wiethege A., Borg I., Kauth M., Bauer T. T., Gillissen A., Bufe A., and Schultze-Werninghaus G. (2003). Respiratory viruses in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease requiring hospitalisation: a case-control study. *Thorax*, 58, 37–42.

31. Dimopoulos G., Tsiodras S., Lerikou M., Chranioti A., Perros E., Anagnostopoulou U., Karakitsos P., and Armaganidis A. (2015). Viral profile of COPD exacerbations according to patients. *The Open Respiratory Medicine Journal*, 9, 1-8.

32. Falsey A. R., Formica M. A., and Walsh E. (2012). Yield of sputum for viral detection by reverse transcriptase PCR in adults hospitalized with respiratory illness. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(1), 21-24.

33. Jenkins C. R., Celli B., Anderson J. A., Ferguson G. T., Jones P. W., Vestbo, J., Yates J. C., and Calverley P. M. A. (2012). Seasonality and determinants of moderate and severe COPD exacerbations in the TORCH study. *The European Respiratory Journal*, 39, 38–45.

34. Kurai D, Saraya T, Ishii H, Takizawa H. (2013). Virus-induced exacerbations in asthma and COPD. *Frontiers in Microbiology*, 4:293.

35. Greenberg S. B., Allen M., Wilson J., and Atmar R. L. (2000). Respiratory viral infections in adults with and without chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine,*162, 167-173.

36. Sajjan U. S. (2013). Susceptibility to viral infections in chronic obstructive pulmonary disease: role of epithelial cells. *Current Opinion in Pulmonary Medicine*, 19(2),125-132.

37. Hurst J. R., Donaldson G. C., Wilkinson T. M. A., Perera W. R., and Wedzicha J. A. (2005). Epidemiological relationships between the common cold and exacerbation frequency in COPD. *European Respiratory Journal* 26(5), 846–852.

38. Qiu F., Liang C. L., Liu H., Zeng Y. Q., Hou S., Huang S., Lai X., and Dai Z. (2017). Impacts of cigarette smoking on immune responsiveness: Up and down or upside down? *Oncotarget*, 8(1), 268-284.

39. Gonzalez-Quintela A., Alende R., Gude F., Campos J., Rey J., Meijide L. M., Fernandez-Merino C., and Vidal C. (2007). Serum levels of immunoglobulins (IgG, IgA, IgM) in a general adult population and their relationship with alcohol consumption, smoking and common metabolic abnormalities. *Clinical and Experimental Immunology*, 151(1), 42–50.

40. Robbins C. S., Dawe D. E., Goncharova S. I., Pouladi M. A., Drannik A. G, Swirski F. K., Cox G. J, and Stampfli M. R. (2004). Cigarette smoke decreases pulmonary dendritic cells and impacts antiviral immune responsiveness. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 30(2), 202-211.

41. Mallia P., and Johnston S. L. (2006). How viral infections cause exacerbation of airway diseases. *Chest*, 130, 1203-1210.

42. Caramori G., Romagnoli M., Casolari P., Bellettato C., Casoni G., Boschetto P., Fan Chung K., Barnes P. J., Adcock I. M., Ciaccia A., Fabbri L. M., and Papi A. (2003). Nuclear localisation of p65 in sputum macrophages but not in sputum neutrophils during COPD exacerbations. *Thorax*, 58, 348–351.

43. Papi A., and Johnston S. L. (1999). Rhinovirus infection induces expression of its own receptor intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) via increased NF-kB-mediated transcription. *The Journal of Biological Chemistry*, 274(14), 9707-9720.

44. Stobart C. C., Nosek J. M., and Moore M. L. (2017). Rhinovirus biology, antigenic diversity, and advancements in the design of a human rhinovirus vaccine. *Frontiers in Microbiology,* 8:2412.

45. Royston L., and Tapparel C. (2016). Rhinoviruses and respiratory enteroviruses: Not as simple as ABC. *Viruses*, 8(1), 1-23.

46. Kim H., and Nam J. H. (2017). Human rhinoviruses: the forgotten but still important viruses. *Journal of Bacteriology and Virology*, 47(3), 111–121.

47. Chen W. J., Arnold J. C., Fairchok M. P., Danaher P. J., McDonough E. A., Blair P. J., Garcia J., Halsey E. S., Schofield C., Ottolini M., Mor D., Ridoré M., Burgess T. H., and Millar E. V. (2015). Epidemiologic, clinical, and virologic characteristics of human rhinovirus infection among otherwise healthy children and adults. *Journal of Clinical Virology*, 64, 74-82.

48. Demirkan E., Kırdar S., Ceylan E., Yenigün A., ve Kurt Ömürlü İ. (2017). Akut solunum yolu enfeksiyonlu çocuk ve erişkin hastalarda rinovirüs genotiplerinin belirlenmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 51(4), 350-360.

49. van der Linden L., Wolthers K. J., and. van Kuppeveld F. J. M. (2015). Replication and inhibitors of enteroviruses and parechoviruses. *Viruses*, 7, 4529-4562.

50. Winther B. (2011). Rhinovirus infections in the upper airway. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 8(1), 79-89.

51. Anzueto A., and Niederman M. S. (2003). Diagnosis and treatment of rhinovirus respiratory infections. *Chest*, 123, 1664–1672.

52. Jacobs S. E., Lamson D. M., St George K., and Walsh T. J. (2013). Human rhinoviruses. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(1), 135-162.

53. Perotin J. M., Dury S., Renois F., tan Deslee G., Wolak A., Duval V., De Champs C., Lebargy F., and Andreoletti L. (2013). Detection of multiple viral and bacterial infections in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease: A pilot prospective study. *Journal of Medical Virology*, 85, 866–873.

54. Seemungal T., Harper-Owen R., Bhowmık A, Moric I, Sanderson G., Message S. , MacCallum P., Meade T. W., Jeffries D. J., Johnston S. L., and Wedzıcha J. A. (2001). Respiratory viruses, symptoms, and inflammatory markers in acute exacerbations and stable chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine,* 164, 1618–1623.

55. Hershenson M. B. (2013). Rhinovirus-induced exacerbations of asthma and COPD. *Scientifica*, 1-12.

56. Mallia P., Message S. D., Gielen V., Contoli M., Gray K., Kebadze T., Aniscenko J., Laza-Stanca V., Edwards M. R., Slater L., Papi A., Stanciu L. A., Kon O. M., Johnson M., and Johnston S. L. (2011). Experimental rhinovirus infection as a human model of chronic obstructive pulmonary disease exacerbation. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine,* 183(6), 734-742.

57. Seemungal T. A. R., Harper-Owen R, Bhowmik A., Jeffries D. J., and Wedzicha J. A. (2000). Detection of rhinovirus in induced sputum at exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *European Respiratory Journal,* 16, 677-683.

58. Dupouey J., Ninove L., Ferrier V., Py O., Gazin C., Thirion-Perrier L., and de Lamballerie X. (2014). Molecular detection of human rhinoviruses in respiratory samples: a comparison of taqman probe-, SYBR green I- and BOXTO-based real-time PCR assays. *Virology Journal,* 11(31), 1-7.

59. Loens K., Goossens H., de Laat C., Foolen H., Oudshoorn P., Pattyn S., Sillekens P., and Ieven. M. (2006). Detection of rhinoviruses by tissue culture and two independent amplification techniques, nucleic acid sequence-based amplification and reverse transcription-PCR, in children with acute respiratory infections during a winter season. *Journal of Clinical Microbiology,* 44(1), 166–171.

60. Wright P. F., Deatly A. M., Karron R. A., Belshe R. B., Shi J. R., Gruber W. C., Zhu Y., and Randolph V. B. (2007). Comparison of results of detection of rhinovirus by PCR and viral culture in human nasal wash specimens from subjects with and without clinical symptoms of respiratory illness. *Journal of Clinical Microbiology,* 45(7), 2126–2129.

61. Lu X., Holloway B., Dare R. K., Kuypers J., Yagi S., Williams J. V, Hall C. B., and Erdman D. D. (2008). Real-time reverse transcription-PCR assay for comprehensive detection of human Rhinoviruses. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(2), 533–539.

62. Savolainen C., Mulders M. N., Hovi T. (2002). Phylogenetic analysis of rhinovirus isolates collected during successive epidemic seasons. *Virus Research*, 85, 41–46.

63. Ng K. T., Chook J. B., Oong X. Y, Chan Y. F., Chan K. G., Hanafi N. S., Pang Y. K., Kamarulzaman A., and Tee K. K. (2016). Performance of a taqman assay for improved detection and quantification of human rhinovirus viral load. *Scientific Reports*, 6:34855.

64. Sedlak R. H., Nguyen T., Palileo I., Jerome K. R., and Kuypers J. (2017). Superiority of digital reverse transcription-PCR (RT-PCR) over real-time RT-PCR for quantitation of highly divergent human Rhinoviruses. *Journal of Clinical Microbiology*, 55(2), 442-449.

65. Ottolini M. G., and Malloy A. M. W. (2018). Rhinovirus–new insights into a complex epidemiology. *The Journal of Infectious Diseases*, 218(6), 845-847.

66. Atmar R. L.(2009). İnfluenza virüsleri (Çev. Güney Ç.). Murray, P.R., Baron E. J., Jorgensen J. H., Landry M. L., and Pfaller, M. A. (Eds.). *Medical Microbiology Cilt-2.* (Çev. Editörler, Başustaoğlu A., Kubar A., Taner Yıldıran Ş, ve Tanyüksel M.). Dokuzuncu Baskı. Ankara. Atlas Kitapçılık, 1340-1351.

67. Zhu W., Wang C., and Wang B. Z. (2017). From variation of influenza viral proteins to vaccine development, *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 1554, 1-14.

68. Krejcova L., Michalek P., Hynek D., Adam V., and Kizek R. (2015). Structure of influenza viruses, connected with influenza life cycle. *Journal of Metallomics and Nanotechnologies*, 1, 13-19.

69. Webster R. G.,Bean W. J., Gorman O. T., Chambers T. M., and Kawaoka Y. (1992). Evolution and Ecology of influenza A Viruses. *Microbiological Reviews*, 56(1), 152-179.

70. Abbas M., and Abidin Z. U. (2013). Proteins of influenza virus: A review. *Journal of Infection and Molecular Biology*, 1(1), 1- 8.

71. Chen J., and Deng Y. M. (2009). Influenza virus antigenic variation, host antibody production and new approach to control epidemics. *Virology Journal*, 6:30.

72. Monto A. S. (2000). Epidemiology and virology of influenza illness. *The American Journal of Managed Care*, 6(5), 255-264.

73. Taubenberger J. K., and Kash J. C. (2010). Influenza virus evolution, host adaptation and pandemic formation. *Cell Host Microbe*, 7(6), 440–451.

74. Dürdal Us A. (2010). Pandemik influenza infeksiyonunda etyopatogenez ve laboratuvar tanı yöntemleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 41,13-27.

75. Bouvier N. M., and Palese P. (2008). The biology of influenza viruses. *Vaccine*, 26 (4), 49-53.

76. Brooks G. F., Butel J. S, and Morse S. A. (2004). *Jawetz, Melnick, and Adelberg's Medical Microbiology.* (Twenty third edition). United States: Mc Graw-Hill, 536-547.

77. Regea G. (2017). Review on influenza virus and its prevention and control. *Journal of Veterinary Medicine and Research.* 4(5): 1089.

78. Killingley B., and Nguyen-Van-Tam J. (2013). Routes of influenza transmission. *Influenza and Other Respiratory Viruses*, 7(2), 42–51.

79. Zambon M. C. (1999). Epidemiology and pathogenesis of influenza. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 44, 3-9.

80. Artuk Ç. (1999). İnfluenza virüsler. Ustaçelebi Ş. (Editör). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitapevi, 919-935.

81. Kilbourne E. D. (2006). Influenza pandemics of the 20th century. *Emerging Infectious Diseases*, 12(1), 9-14.

82. Taubenberger J. K. and Morens D. M. (2010). Influenza: The once and future pandemic. *Public Health Reports*, 125(3), 16–26.

83. Şanlı K.(2010). İnfluenza virüsü ve domuz gribi. *Jinekoloji Obstretrik Pediatri Dergisi*, 2(1), 4-12.

84. Hsu A. C., Starkey M. R., Hanish I., Parsons K., Haw T. J., Howland L. J., Barr I., Mahony J. B., Foster P. S., Knight D. A., Wark P. A., and. Hansbro P. M. (2015). Targeting PI3K-p110a suppresses influenza virus infection in chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 191(9), 1012-1023.

85. Yıldırım N., Demir T., Gemicioğlu B., Kıyan E., Oğuzülgen K., Polatlı M., Saryal S., Sayıner A., Yorgancıoğlu A., Bavbek S., Çelik G. E., Günen H., Mungan D., Şen E., Türktaş H., ve Yıldız F. (2015). KOAH ve astımda atak. *Tüberküloz ve Toraks*, 63(2), 111-131.

86. World Health Organization. (2011). *WHO Global influenza surveillance network, manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza*. Switzerland: WHO Press,1-139.

87. Vemula S.V., Zhao J., Liu J., Wang X., Biswas S., and Hewlett I. (2016).Current approaches for diagnosis of influenza virus infections in humans. *Viruses*, 8(4), 96.

88. Ali M., and Nas F. S. (2018). Epidemiology, Biology, Clinical Manifestation and Prevention of influenza Virus Disease: A Review. *Virology & Immunology Journal*, 4:000155.

89. Woźniak-Kosek A., Kempińska-Mirosławska B., and Hoser G.(2014). Detection of the influenza virus yesterday and now. *Acta Biochimica Polonica*, 61(3), 465–470.

90. Lin J. H. and Wu H. S. (2015). Challenges and strategies of laboratory diagnosis for newly emerging influenza viruses in Taiwan: A decade after SARS. *BioMed Research International*, 2015: 805306.

91. McMullen A.R., Anderson N. W., Burnham C.A., and Education Committee of the Academy of Clinical Laboratory Physicians and Scientists. (2016). Pathology consultation on influenza diagnostics. *American Journal of Clinical Pathology*, 145(4), 440-448.

92. Rota S. (1999). Solunum sinsityal virüs. Ustaçelebi Ş. (Editör). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji.* Ankara: Güneş Kitapevi, 941-943.

93. Vandini S., Biagi C., and Lanari M. (2017). Respiratory syncytial virus: The influence of serotype and genotype variability on clinical course of infection. *International Journal o f Molecular Sciences,* 18(8), 1717.

94. Tang Y. W., and Crowe J.E. (2009). Respiratory Syncytial virüs ve Human Metapneumovirüs. (Çev. Uyar Y.). Murray, P.R., Baron E. J., Jorgensen J. H., Landry M. L., and Pfaller, M. A. (Eds.). *Medical Microbiology Cilt-2.* (Çev. Editörler, Başustaoğlu A., Kubar A., Taner Yıldıran Ş, ve Tanyüksel M.). Dokuzuncu Baskı. Ankara: Atlas Kitapçılık, 1361-1370.

95. İnternet:Schweitzer J. W., and Justice N.A. Respiratory Syncytial Virus Infection (RSV).URL:http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fbooks%2FNBK459215%2F&date=2018-12-26, Son Erişim Tarihi: 26.12.2018.

96. Koneman E. W., Winn W. C., Allen S. D., Procop G. W. Schrechenberger P. C., Janda W. M. and Woods G. L. (2006). *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology.* 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins., 1344.

97. Laham F. R., Mansbach J. M., Piedra P. A., Hasegawa K., Sullivan A. F., Espinola J. A.,and Camargo C.A. Jr. (2017). Clinical profiles of respiratory syncytial virus subtypes A and B among children hospitalized with bronchiolitis. *The Pediatric Infectious Disease Journal,* 36(8), 808–810.

98. Papadopoulos N. G., Gourgiotis D., Javadyan A., Bossios A., Kallergi K., Psarras S., Tsolia M.N., and KafetzisD. (2004). Does respiratory syncytial virus subtype influences the severity of acute bronchiolitis in hospitalized infants? *Respiratory Medicine,* 98, 879–882.

99. Kneyber M. C. J., Brandenburg A. H., Rothbarth P.H., Groot R., Ott A., and van Steensel-Moll H. A.(1996). Relationship between clinical severity of respiratory syncytial virus infection and subtype. *Archives of Disease in Childhood,* 75,137-140

100. Tran D. N., Pham T. M. H., Ha M. T., Tran T. T. L., Dang T. K. H., Yoshida L. M., Okitsu S., Hayakawa S., Mizuguchi M., and Ushijima H. (2013). Molecular epidemiology and disease severity of human respiratory syncytial virus in Vietnam. *PLoS ONE,* 8(1): e45436.

101. Black C. P. (2003). Systematic review of the biology and medical management of respiratory syncytial virus infection. *Respiratory Care,* 48(3), 209-233.

102. Walsh E.E. (2017). Respiratory syncytial virus infection: an illness for all ages. *Clinics in Chest Medicine,* 38(1), 29-36.

103. Collins P. L. and Graham B. S. (2008). Viral and host factors in human respiratory syncytial virus pathogenesis. *Journal of Virology*, 82(5), 2040-2055.

104. Wilkinson T. M. A., Donaldson G. C., Johnston S. L., Openshaw P. J. M., and Wedzicha J. A. (2006). Respiratory syncytial virus, airway inflammation, and FEV1 decline in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care medicine,* 173, 871–876.

105. Foronjy R. F., Dabo A. J., Taggart C. C., Weldon S., and Geraghty P. (2014). Respiratory syncytial virus infections enhance cigarette smoke induced COPD in mice. *PLoS ONE,* 9(2): e90567.

106. Sikkel M. B., Quint J. K., Mallia P., Wedzicha J. A. and Sebastian L. Johnston,(2008). Respiratory syncytial virus persistence in chronic obstructive pulmonary disease. *The Pediatric Infectious Disease Journal,* 27(10), 63-70.

107. Griffiths C., Drews S. J., and Marchant D. J.(2017). Respiratory syncytial virus: Infection, detection, and new options for prevention and treatment. *Clinical Microbiology Reviews,* 30(1), 277-319.

108. Rabon-Stitha K. M., McGuinessb C. B., Saundersb B., Edelmanc L., Kumara V. R., and Boron M. L. (2013). Laboratory testing trends for respiratory syncytial virus, 2007–2011. *Journal of Clinical Virology*, 58, 575-578.

109. Popow-Kraupp T., and Aberle J. H. (2011). Diagnosis of respiratory syncytial virus infection. *The Open Microbiology Journal,* 5 (2-M2), 128-134.

110. Eboigbodin K. E., Moilanen K., Elf S., and Hoser M. (2017). Rapid and sensitive real-time assay for the detection of respiratory syncytial virususing RT-SIBA®. *BMC Infectious Diseases,* 17:134.

111. Kamau E., Agoti C. N., Lewa C. S., Oketch J., Owor B. E., Otieno G. P., Bett A., Cane P. A., and Nokes D. J. (2017). Recent sequence variation in probe binding site affected detection of respiratory syncytial virus group B by real-time RT-PCR. *Journal of Clinical Virology*, 88, 21-25.

112. Datta S., Walsh E. E., Peterson D. E., and Falsey A. R. (2017). Can analysis of routine viral testing provide accurate estimates of respiratory syncytial virus disease burden in adults? *The Journal of Infectious Diseases,* 215, 1706-1710.

113. Cheemarla N. R. and Guerrero-Plata A. (2015). Immune response to human Metapneumovirus infection: What we have learned from the mouse model. *Pathogens, 4*, 682-696

114. Devrim İ., ve Seçmeer G. (2005). Yeni tanımlanan solunum yolu virüsü insan metapnömovirüslerine bağlı infeksiyonlar *Hacettepe Tıp Dergisi*, 36, 163-167.

115. Schuster J. E., and Williams J. V. (2013). Human metapneumovirus. *Pediatrics in Review*, 34 (12), 558-595.

116. Panda S., Mohakud N. K., Pena L., and Kumar S. (2014). Human metapneumovirus: review of an important respiratory pathogen. *International Journal of Infectious Diseases,* 25, 45-52.

117. Williams J. V. (2005). Human metapneumovirus: An important cause of respiratory disease in children and adults. *Current Infectious Disease Reports*, 7(3), 204-210.

118. Hoppe B. P. C., de Jongh E., Griffioen-Keijzer A., Zijlstra-Baalbergen J. M., IJzerman E. P. F., and Baboe F. (2016). Human metapneumovirus in haematopoietic stem cell transplantation recipients: a case series and review of the diagnostic and therapeutic approach. *The Netherlands Journal of Medicine,* 74(8), 336-341.

119. Falsey A. R. (2008). Human metapneumovirus infection in adults. *The Pediatric Infectious Disease Journal,* 27(10), S80-S83.

120. Crowe Jr J. E. (2004). Human metapneumovirus as a major cause of human respiratory tract disease. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 23(11), S215-S221.

121. Céspedes P. F., Palavecino C. E., Kalergis A. M., and Buenoa S. M. (2016). Modulation of host immunity by the human metapneumovirus. *Clinical Microbiology Reviews*, 29(4), 795-818.

122. Gregianini T. S., Seadi C. F., Menegolla I., Martins L. G. Ikuta N., Wolf J. M., and Lunge V. R. (2018). Human metapneumovirus in Southern Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 51(1), 30-38.

123. Shafagati N., and Williams J. (2018). Human metapneumovirus - what we know now. *F1000 Faculty Reviews*, 1(7), 135.

124. Wang X., Zhang Q., Zhang F., Ma,F., Zheng,W., Zhao Z., Bai Y., and Zheng L. (2012). Visual detection of the human metapneumovirus using reverse transcription loop-mediated isothermal amplification with hydroxynaphthol blue dye. *Virology Journal*, 9:138.

125. Panda S., Mohakud N. K., Pena L., and Kumar S. (2014). Human metapneumovirus: review of an important respiratory pathogen. *International Journal of Infectious Diseases*, 25, 45-52.

126. Henrickson K. J. (2003). Parainfluenza viruses. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(2), 242-264.

127. Leland D. S. (2009). Parainfluenza ve kabakulak virüsleri (Çev. Çiçek C.). Murray, P.R., Baron E. J., Jorgensen J. H., Landry M. L., and Pfaller, M. A. (Eds.). *Medical Microbiology Cilt-2.* (Çev. Editörler, Başustaoğlu A., Kubar A., Taner Yıldıran Ş, ve Tanyüksel M.). Dokuzuncu Baskı. Ankara. Atlas Kitapçılık, 1352-1357.

128. Rima B. K, Gatherer D., Young D.F., Norsted H., Randall R. E., and Davison A. J. (2014). Stability of the parainfluenza Virus 5 genome revealed by deep sequencing of strains isolated from different hosts and following passage in cell culture. *Journal of Virology*, 88(7), 3826-3836.

129. Alayyoubi M, Leser G. P., Kors C. A., and Lamb R. A. (2015). Structure of the paramyxovirus parainfluenza virus 5 nucleoprotein–RNA complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* 112(14), E1792-E1799.

130. Tompkins S. M., Lin Y., Leser G. P., Kramer K. A.,Haas D. L., Howerth E. W., Xu J., Kennett M. J. Durbin R. K., Durbin J. E., Tripp R., Lamb R. A., and He B. (2007). Recombinant parainfluenza virus 5 (PIV5) expressing the influenza A virus

hemagglutinin provides immunity in mice to influenza A virus challenge. *Virology,* 362(1), 139-150.

131. Rota S. (1999). Parainfluenza virüsü. Ustaçelebi Ş. (Editör). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji.* Ankara: Güneş Kitabevi, 937-940.

132. Schmidt A. C., Schaap-Nutt A., Bartlett E. J., Schomacker H., Boonyaratanakornkit J., Karron R. A., and Collins P. L. (2011). Progress in the development of human parainfluenza virus vaccines. *Expert Review of Respiratory Medicine,* 5(4), 515-526.

133. Liu W. K., Liu Q., Chen D. H., Liang H. X., Chen X. K., Huang W. B., Qin S., Yang Z. F., and Zhou R. (2013). Epidemiology and clinical presentation of the four human parainfluenza virus types. *BMC Infectious Diseases,* 13,28.

134. Pan Y., Zhang Y., Shi W., Peng X., Cui S., Zhang D., Lu G., Liu Y., Wu S., Yang P., and Wang Q. (2017). Human parainfluenza virus infection in severe acute respiratory infection cases in Beijing, 2014-2016: A molecular epidemiological study. *Influenza and Other Respiratory Viruses,* 11(6), 564-568.

135. Berrueco R., Antón A., Rives S., Català A., Toll T., Ruiz A., Camós M., Torrebadell M., Estella J., and Muñoz-Almagro C. (2013). Multiplex real-time PCR for prompt diagnosis of an outbreak of human parainfluenza 3 virus in children with acute leukemia. *Infection,* 41(6), 1171-1175.

136. Indumathi C. P., Gunanasekaran P., Kaveri K., Arunagiri K., Mohana S., Sheriff A. K., SureshBabu B. V., Padmapriya P., Senthilraja R., and Fathima G. (2015). Isolation & molecular characterization of human parainfluenza virus in Chennai, India. *The Indian Journal of Medical Research,* 142(5), 583-590.

137. GhelichKhan M., Hosseini S. M., Khansarinejad B., and Fotouhi F. (2017). Establishment of reverse transcription polymerase chain reaction assay for simultaneous detection of human parainfluenza virus types 1 to 4 in children with influenza like illnesses. *Bratislava Medical Journal,* 118(12), 772-776.

138. Aguilar J. C., Perez-Brena M. P., Garcia M. L., Cruz N., Erdman D. D., and Echevarria J. E. (2000). Detection and identification of human parainfluenza viruses 1, 2, 3, and 4 in clinical samples of pediatric patients by multiplex reverse transcription-PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(3), 1191-1195.

139. Yüksel H., ve Türkeli A. (2014). Pediatrik pnömoni hastalarında yeni viral etkenler. *Güncel Göğüs Hastalıkları Serisi,* 2(1), 106-116.

140. Guido M., Tumolo M. R., Verri T., Romano A., Serio F., De Giorgi M., De Donno A., Bagordo F., and Zizza A. (2016). Human bocavirus: Current knowledge and future challenges. *World Journal of Gastroenterology,* 22(39), 8684-8697.

141. Shen J., Zhu Q., Zeng M., and Yu H. (2013). Detection and genome analysis of human bocavirus 1-4 from hospitalized children with acute lower respiratory tract infection and symptoms of wheezing in Shanghai. *International Journal of Molecular Medicine,* 32, 1415-1420.

142. Schildgen O. (2013). Human Bocavirus: Lessons learned to date. *Pathogens,* 2, 1-12.

143. Jartti T, Hedman K, Jartti L, Ruuskanen O, Allander T, and Söderlund-Venermo M. (2011). Human bocavirus-the first 5 years. *Reviews in Medical Virology*, 22(1), 46-64.

144. Qiu J., Söderlund-Venermo M., and Young N. S. (2017). Human Parvoviruses. *Clinical Microbiology Reviews.* 30(1), 43-113.

145. Peltola V., Söderlund-Venermo M., and Jartti T. (2013). Human bocavirus infections. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 32(2), 178-179.

146. Demirci P., Akın Y., Midilli K., Karaaslan A., and Camcıoğlu Y. (2016). Human bocavirus infection in İstanbul. *Cukurova Medical Journal*, 41(4),762-766.

147. Schildgen O., Muller A., Allander T., Mackay I. M., Völz S., Kupfer B., and Simon A. (2008). Human bocavirus: Passenger or pathogen in acute respiratory tract infections? *Clinical Microbiology Reviews*, 21(2), 291-304.

148. Pillet S., Lardeux M., Dina J., Grattard F., Verhoeven P., Le Goff J., Vabret A., and Pozzetto B. (2013). Comparative evaluation of six commercialized multiplex PCR kits for the diagnosis of respiratory infections. *PLoS One,* 8(8):e72174.

149. Ly N., Tokarz R., Mishra N., Sameroff S., Jain K., Rachmat A., An U. S., Newell S., Harrison D. J., and Lipkin W. I. (2014). Multiplex PCR analysis of clusters of unexplained viral respiratory tract infection in Cambodia. *Virology Journal*, 11:224.

150. Çiçek C., Bayram N., Anıl M., Gülen F., Pullukçu H., Saz E.U., Telli C., ve Çok G. (2014). Solunum virusları ve influenza A virus alt tiplerinin multipleks PCR yöntemi ile aynı anda saptanması. *Mikrobiyoloji Bülteni,* 48(4), 652-660.

151. Choudhary M.L., Anand S. P., Tikhe S. A., Walimbe A. M., Potdar V. A., Chadha M. S., and Mishra A.C. (2016) Comparison of the conventional multiplex RT–PCR, real time RT–PCR and luminex xTAGW RVP fast assay for the detection of respiratory viruses. *Journal of Medical Virology* 88(1), 51–57.

152. Ecemiş T., Yılmaz Ö., Şanlıdağ T., Akçalı S., ve Yüksel H. (2012). Üst solunum yolu infeksiyonlu çocuklarda viral etkenlerin multipleks PCR ile araştırılması. *İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları Dergisi,* 2(1), 1-5.

153. Rhedin S., Lindstrand A., Rotzén-Östlund M., Tolfvenstam T., Ohrmalm L., Rinder M. R., Zweygberg-Wirgart B., Ortqvist A., Henriques-Normark B., Broliden K., and Naucler P. (2014). Clinical utility of PCR for common viruses in acute respiratory illness. *Pediatrics,* 133(3): e538-545.

154. Mahony J. B. (2008). Detection of respiratory viruses by molecular methods. *Clinical Microbiology Reviews,* 21(4), 716–747.

155. Krause J. C., Panning M., Hengel H., and Henneke P. (2014). The role of multiplex PCR in respiratory tract infections in children. *Deutsches Ärzteblatt International,* 111, 639–645.

156. Burns J.L. Emerson J., Kuypers J., Campbell A. P., Gibson R. L., McNamara S., Worrell K., Englund J. A. (2012). Respiratory viruses in children with cystic fibrosis: viral detection and clinical findings. *Influenza and Other Respiratory Viruses,* 6(3), 218-223.

157. Talbot H. K., and Falsey A. R. (2010). The diagnosis of viral respiratory disease in older adults. *Clinical Infectious Diseases*, 50(5), 747-751.

158. Liolios L., Jenney A., Spelman D., Kotsimbos T., Catton M.,4 and Wesselıngh S. (2001). Comparison of a multiplex reverse transcription-PCR-enzyme hybridization assay with conventional viral culture and immunofluorescence techniques for the detection of seven viral respiratory pathogens. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(8), 2779–2783.

159. Durmaz R. (2001). Polimeraz zincir reaksiyonu tipleri. Durmaz R. (editör). *Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji.* İstanbul: Nobel tıp kitabevi, 35.

160. Salez N., Vabret A., Leruez-Ville M., Andreoletti L., Carrat F., Renois F., and de Lamballerie X. (2015). Evaluation of four commercial multiplex molecular tests for the diagnosis of acute respiratory infections. *PLoS One,* 10(6):e0130378.

161. Babady N. E., England M. R., Smith K. L. J., He T., Wijetunge D. S., Tang Y. W., Chamberland R. R., Menegus M., Swierkosz E. M., Jerris R. C., and Greene W. (2018). Multicenter evaluation of the ePlex respiratory pathogen panel for the detection of viral and bacterial respiratory tract pathogens in nasopharyngeal swabs. *Journal of Clinical Virology*, 56(2), e01658-17.

162. Kim Y. G., Yun S. G., Kim M. Y., Park K., Cho C. H., Yoon S. Y., Nam M. H., Lee C. K., Cho Y. J., and Lima C. S. (2017). Comparison between saliva and nasopharyngeal swab specimens for detection of respiratory viruses by multiplex reverse transcription-PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 55(1), 226-233.

163. Hanson K. E. and Couturier M. R. (2016). Multiplexed molecular diagnostics for respiratory, gastrointestinal, and central nervous system infections. *Clinical Infectious Diseases*, 63(10), 1361-1367.

164. Stone C.B., and Mahony J. B. (2014). Molecular detection of bacterial and viral pathogens–where do we go from here? *Clinical Microbiology: Open Access,* 3(6): 175.

165. Olofsson S., Brittain-Long R., Andersson L. M., Westin J and Lindh M. (2011). PCR for detection of respiratory viruses: seasonal variations of virus infections. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 9(8), 615-626.

166. Singanayagam A., Joshi P. V., Mallia P., and Johnston S. L. (2012). Viruses exacerbating chronic pulmonary disease: the role of immune modulation. *BMC Medicine,* 10:27.

167. Adeloye D., Chua S., Lee C., Basquill C., Papana A., Theodoratou E., Nair H., Gasevic D., Sridhar D., Campbell H., Chan K. Y., Sheikh A., and Rudan I. (Global Health Epidemiology Reference Group (GHERG)). (2015). Global and regional estimates of COPD prevalence: Systematic review and meta–analysis. *Journal of Global Health*, 5(2): 020415.

168. Sørheim I. C., Johannessen A., Gulsvik A, Bakke P. S., Silverman E. K., and DeMeo D. L. (2010). Gender differences in COPD: Are women more susceptible to smoking effects than men? *Thorax,* 65(6),480-485.

169. Raherison C., and Girodet P. O. (2009). Epidemiology of COPD. *European respiratory review*, 18,(114), 213–221.

170. Aryal S., Diaz-Guzman E., and Mannino D. M. (2014). Influence of sex on chronic obstructive pulmonary disease risk and treatment outcomes. *International Journal of COPD*, 9,1145-1154.

171. Lamprecht B., McBurnie M. A.,. Vollmer W. M., Gudmundsson G., Welte T., Nizankowska-Mogilnicka E., l Studnicka M., Bateman E., Anto J. M., Burney P., Mannino D. M., and Buist S.A., for the BOLD Collaborative Research Group (2011). COPD in never smokers, results from the population-based burden of obstructive lung disease study. *Chest,* 139(4),752–763.

172. Ntritsos G., Franek J., Belbasis L., Christou M.A., Markozannes G., Altman P., Fogel R., Sayre T., Ntzani E. E., and Evangelou E. (2018). Gender-specific estimates of COPD prevalence: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of COPD*, 13, 1507-1514.

173. Cukic V. (2013). The most common detected bacteria in sputum of patients with the acute exacerbation of COPD. *Materia socio-medica*, 25(4), 226-229.

174. Estirado C., Ceccato A., Guerrero M., Huerta A., Cilloniz C., Vilaró O., Gabarrús A., Gea J., Crisafulli E., Soler N., and Torres A. (2018). Microorganisms resistant to conventional antimicrobials in acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Respiratory Research*, 19, 119.

175. Kokturk N., Bozdayi G., Yılmaz S., Dogan B., Gulbahar O., Rota S. and Tatlıcıoglu T. (2015). Detection of adenovirus and respiratory syncytial virus in patients with chronic obstructive pulmonary disease: Exacerbation versus stable condition. *Molecular Medicine Reports*, 12, 3039-3046.

176. Boixeda R., Almagro P., Díez-Manglano J., Cabrera F. J., Recio J., Martin-Garrido I. and Soriano J.B. (2015). Bacterial flora in the sputum and comorbidity in patients with acute exacerbations of COPD. *International Journal of COPD*, 10, 2581-2591.

177. Choi J., Oh J. Y., Lee Y. S., Hur G. Y., Lee S. Y., Shim J. J., Kang K. H., and Min K. H. (2018). *Pseudomonas aeruginosa* infection increases the readmission rate of COPD patients. *International Journal of COPD,* 13, 3077-3083.

178. Ni Y., Shi G., Yu Y., Hao J., Chen T., and Song H. (2015). Clinical characteristics of patients with chronic obstructive pulmonary disease with comorbid bronchiectasis: a systemic review and meta-analysis. *International Journal of COPD*, 10, 1465-1475

179. Garcha D. S., Thurston S. J., Patel A. R., Mackay A. J., Goldring J. J., Donaldson G. C., McHugh T. D., and Wedzicha J. A. (2012). Changes in prevalence and load of airway bacteria using quantitative PCR in stable and exacerbated COPD. *Thorax*, 67(12), 1075-1080.

180. Aydemir O., Aydemir Y., and Ozdemir M. (2014). The role of multiplex PCR test in identification of bacterial pathogens in lower respiratory tract infections. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 30(5), 1011-1016.

181. Aydemir Y., Aydemir O., and Kalem F. (2014). Relationship between the GOLD combined COPD assessment staging system and bacterial isolation. *International Journal of COPD*, 9, 1045-1051.

182. Akın B. (2010). *Kronik obstrüktif akciğer hastalığının alevlenmelerinde balgamda Streptococcus pneumonıae, Haemophılus ınfluenzae ve Moraxella catarrhalıs'in real-tıme pcr ile kantitatif olarak saptanması,* Uzmanlık tezi, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Konya, 53-61.

183. Kuwal A., Joshi V., Dutt N., Singh S., Agarwal K. C., and Purohit G. (2018). A prospective study of bacteriological etiology in hospitalized acute exacerbation of COPD patients: Relationship with lung function and respiratory failure. *Turkish thoracic journal*, 19(1), 19-27.

184. Dai M. Y., Qiao J. P., Xu Y. H., and Fei G. H. (2015). Respiratory infectious phenotypes in acute exacerbation of COPD: An aid to length of stay and COPD assessment test. *International Journal of COPD*, 10, 2257-2263.

185. Ritchie A. I., Farne H. A., Singanayagam A., Jackson D. J., Mallia P., and Johnston S. L. (2015). Pathogenesis of viral infection in exacerbations of airway disease. *Annals of the American Thoracic Society,* 12(2), S2:S115-132.

186. Frickmann H., Jungblut S., Hirche T. O., Groß U., Kuhns M., and Zautner A. E. (2012). The influence of virus infections on the course of COPD. *European journal of microbiology & immunology*, 2(3),176-185.

187. Zhang D., Feng Z., Zhao M., Wang H., Wang L., Yang S., Li G., Lu L., and Ma X. (2016). Clinical Evaluation of a Single-Tube Multiple RT-PCR Assay for the Detection of 13 Common Virus Types/Subtypes Associated with Acute Respiratory Infection. *PLoS One,* 11(4):e0152702.

188. Bhat N., O'Brien K. L., Karron R. A., Driscoll A. J., Murdoch D. R.; and Pneumonia Methods Working Group. (2012). Use and evaluation of molecular diagnostics for pneumonia etiology studies. *Clinical infectious diseases,* 54(S2), S153-158.

189. Elnifro E. M., Ashshi A. M., Cooper R. J., Klapper P. E. (2000). Multiplex PCR: Optimization and application in diagnostic virology. *Clinical Microbiology Reviews*,13(4), 559–570.

190. Kabir S. (2018). Molecular methods for detection of pathogenic viruses of respiratory tract-A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine,* 8(5), 237-244.

191. Wang M., Cai F., Wu X., Wu T., Su X., and Shi Y. (2015). Incidence of viral infection detected by PCR and real-time PCR in childhood community-acquired pneumonia: A meta-analysis. *Respirology*, 20(3), 405-412.

192. Shimizu K., Yoshii Y., Morozumi M., Chiba N., Ubukata K., Uruga H., Hanada S., Saito N., Kadota T., Ito S.,1 Wakui H., Takasaka N., Minagawa S., Kojima J., Hara H., Numata T., Kawaishi M., Saito K., Araya J., KanekoY., Nakayama K., Kishi K., and Kuwano K. (2015). Pathogens in COPD exacerbations identified by comprehensive real-time PCR plus older methods. *International Journal of COPD*, 10 2009-2016.

193. Biancardi E., Fennell M., Rawlinson W., and Thomas P. S. (2016). Viruses are frequently present as the infecting agent in acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease in patients presenting to hospital. *Internal medicine journal*, 46(10), 1160-1165.

194. Hosseini S. S., Ghasemian E., Jamaati H., Tabaraie B., Amini Z., and Cox K. (2015). Association between respiratory viruses and exacerbation of COPD: A case-control study. *Infectious diseases*, 47(8), 523-529.

195. Koul P.A., Mir H., Akram S., Potdar V., Chadha M.S. (2017). Respiratory viruses in acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Lung India*, 34(1), 29-33.

196. Wilkinson T. M. A., Aris E., Bourne S., Clarke S. C., Peeters M., Pascal T. G., Schoonb.oodt S., Tuck A. C. Kim V., Ostridge K., Staples K. J., Williams N., Williams A., Wootton S., and Devaster J. M., AERIS Study Group. (2017). A prospective, observational cohort study of the seasonal dynamics of airway pathogens in the aetiology of exacerbations in COPD. *Thorax*, 72(10), 919-927.

197. Güldaval F., Evciler İ., Şenol G., and Özacar R. (2009).Respiratory viruses and atypical agents in acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary diseases in İzmir district, Turkey. *Medical Journal of Trakya University*, 26(4), 306-311.

198. Erdem E., Muz M. H., Kırkıl G., Turgut T., Deveci F., ve Akbulut H. (2011). Kronik obstrüktif akciğer hastalığı alevlenme etkenleri ve solunum fonksiyon parametreleri ile ilişkisi. *Solunum Dergisi*, 13(2), 100–106.

199. Branche A.R., Walsh E. E., Formica M. A., and Falsey A. R.(2014). Detection of respiratory viruses in sputum from adults by use of automated multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(10), 3590–3596.

200. Dimopoulos G., Lerikou M., Tsiodras S., Chranioti A., Perros E., Anagnostopoulou U., Armaganidis A., Karakitsos P. (2012). Viral epidemiology of acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Pulmonary pharmacology and therapeutics*, 25(1), 12-18.

201. Clark T. W., Medina M. J., Batham S., Curran M. D., Parmar S., and Nicholson K. G.(2015). C-reactive protein level and microbial aetiology in patients hospitalised with acute exacerbation of COPD. *The European Respiratory Journal*, 45(1), 76-86.

202. Gallego M., Pomares X., Capilla S., Marcos M. A., Suárez D., Monsó E., and Montó C. (2016). C-reactive protein in outpatients with acute exacerbation of COPD: its relationship with microbial etiology and severitiy. *International Journal of COPD*, 11, 2633–2640.

203. Djamin R. S., Uzun S., Snelders E., Kluytmans J. J., Hoogsteden H. C., Aerts J. G., Van Der Eerden M. M.(2015). Occurrence of virus-induced COPD exacerbations during four seasons. *Infectious Diseases*, 47(2), 96–100.

EKLER

Ek-1. Etik Kurul Onay Belgesi

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
Ankara İli Kamu Hastaneleri Birliği 2 Nolu Genel Sekreterliği
Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Baştabipliği
Klinik Araştırma Etik Kurulu

Sayı : 2012-KAEK-15/1044 13.01.2016
Konu: Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Etik Kurul Kararı

KEÇİÖREN EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ KLİNİK ARAŞTIRMA ETİK KURULU

"Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH) Akut Alevlenmelerinde Solunum Yolu Virüslerinin (Influenza A, Influenza B, Influenza A H1N1, Rhinovirüs, Coronavirüs NL63, 229E, OC43, HKU1, Parainfluenza 1,2,3,4, Human Metapneumovirüs A/B, Bocavirüs, Respiratuar Sinsityal Virüs A/B, Adenovirüs, Enterovirüs, Parechovirüs) Moleküler Yöntemle Araştırılması Ve Human Metapneumovirüs Pozitif Bulunan Olguların Genotip Tayini Ve Filogenetik Analizi."adlı klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç,yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına ve kurulumuz kararının başvuru sahibi tarafından sağlık bakanlığına arzına gerek olmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.

Op.Dr. Ömer Faruk TANER
Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı

Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurul
Pınarbaşı Mahallesi Sanatoryum Cad.
Ardahan Sokak No:25 Keçiören / ANKARA
Web: www.akeah.gov.tr

EK-1. (devam) Etik Kurul Onay Belgesi

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH) Akut Alevlenmelerinde Solunum Yolu Virüslerinin (Influenza A, Influenza B, Influenza A H1N1, Rhinovirüs, Coronavirüs NL63, 229E, OC43, HKU1, Parainfluenza 1,2,3,4, Human Metapneumovirüs A/B, Bocavirüs, Respiratuar Sinsityal Virüs A/B, Adenovirüs, Enterovirüs, Parechovirüs) Moleküler Yöntemle Araştırılması Ve Human Metapneumovirüs Pozitif Bulunan Olguların Genotip Tayini Ve Filogenetik Analizi.
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	-

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 2012-AKAEK-15
	AÇIK ADRESİ:	Pınarbaşı Mah. Sanatoryum Cad. Ardahan Sok. No:25 06380 Keçiören / Ankara
	TELEFON	0312 356 90 00-1117
	FAKS	
	E-POSTA	etikkurulkeah@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Gülendam BOZDAYI			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Mikrobiyoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Gazi Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZI VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
		Gözlemsel ilaç çalışması	☐		
		Tıbbi cihaz klinik araştırması	☐		
		İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları	☐		
		İlaç dışı klinik araştırma	☒ Akademik Araştırma		
		Diğer ise belirtiniz			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ ☒	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı: Op.Dr.Ömer Faruk TANER
İmza:

Zelihan ÖZBİLGİ
Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Üyesi

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

EK-1. (devam) Etik Kurul Onay Belgesi

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH) Akut Alevlenmelerinde Solunum Yolu Virüslerinin (Influenza A, Influenza B, Influenza A H1N1, Rhinovirüs, Coronavirüs NL63, 229E, OC43, HKU1, Parainfluenza 1,2,3,4, Human Metapneumovirüs A/B, Bocavirüs, Respiratuar Sinsityal Virüs A/B, Adenovirüs, Enterovirüs, Parechovirüs) Moleküler Yöntemle Araştırılması Ve Human Metapneumovirüs Pozitif Bulunan Olguların Genotip Tayini Ve Filogenetik Analizi.
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	-

	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐

	Belge Adı		Açıklama
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	SİGORTA	☐	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒	
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐	
	İLAN	☐	
	YILLIK BİLDİRİM	☐	
	SONUÇ RAPORU	☐	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐	
	DİĞER:	☐	
KARAR BİLGİLERİ	**Karar No:1044**	**Tarih: 13.01.2016**	
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.		

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Op.Dr.Ömer Faruk TANER

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım*		İmza
Op.Dr.Ömer Faruk TANER Bşk.	Plastik Ve Rekonstrüktif Cerrahi	Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Doç. Dr. Baran ACAR Bşk.Yardımcısı	Kulak Burun Boğaz Hastalıkları	Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Doç.Dr .Derun Taner ERTUĞRUL Bilgil. görevli üye	Endokrinoloji	Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof. Dr Ahmet ERGÜN	Fizyoloji	Ankara Ünv. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı: Op.Dr.Ömer Faruk TANER
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

EK-1. (devam) Etik Kurul Onay Belgesi

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH) Akut Alevlenmelerinde Solunum Yolu Virüslerinin (Influenza A, Influenza B, Influenza A H1N1, Rhinovirüs, Coronavirüs NL63, 229E, OC43, HKU1, Parainfluenza 1,2,3,4, Human Metapneumovirüs A/B, Bocavirüs, Respiratuar Sinsityal Virüs A/B, Adenovirüs, Enterovirüs, Parechovirüs) Moleküler Yöntemle Araştırılması Ve Human Metapneumovirüs Pozitif Bulunan Olguların Genotip Tayini Ve Filogenetik Analizi.
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	-

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr. Mehmet Ali ERGÜN	Tıbbi Genetik	Gazi Ünv. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Mustafa N. İLHAN	Halk Sağlığı,İş Ve Meslek Hastalıkları	Gazi Ünv. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Ecz. Dr. Işıl ÖZAKCA	Farmakoloji (PhD)	Ankara Ünv.Ecz.Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Doç. Dr. Nermin ÇAPAN	Göğüs Hastalıkları	Atatürk Göğüs Hst.Ve Göğüs Cer. E.A.H.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Op. Dr. Selim Şakir Erkmen GÜLHAN	Göğüs Cerrahisi	Atatürk Göğüs Hst.Ve Göğüs Cer.E.A.H.	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Doç. Dr. Semih DEĞERLİ	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Doç. Dr. Şamil HIZLI	Çocuk Gastroenteroloji	Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Doç.Dr.Selma UYSAL RAMADAN	Radyodiagnostik	Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Av. Abdullah Emin TEKİN	Avukat	Serbest	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Necmettin TEKİN	Din Görevlisi	Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı: Op.Dr.Ömer Faruk TANER
İmza:

Zeliha ÖZBİLGE

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

ÖZGEÇMİŞ



Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : AVCIKÜÇÜK, Havva
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 1980/Şarkikaraağaç
Medeni hali : Evli
Telefon : 03125932929
e-mail : havva.sakar@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Ens. Tıbbi Mikrobiyoloji	Devam Ediyor
Uzmanlık eğitimi	Ankara Numune EAH, Tıbbi Mikrobiyoloji	2009
Lisans	Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi	2004

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2014-Devam ediyor	Ankara, SB 29 Mayıs Devlet Hastanesi	Tıbbi Mikrobiyoloji Uzm.
2012-2014	Kırıkkale,SB 29 Mayıs Devlet Hastanesi	Tıbbi Mikrobiyoloji Uzm.
2010-2012	Kahramanmaraş,SB Elbistan Devlet Hastanesi	Tıbbi Mikrobiyoloji Uzm.
2005-2010	Ankara, SB Numune EAH.	Tıbbi Mikrobiyoloji Asistanı

Yabancı Dil

İngilizce



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

