T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS TANISINDA KULLANILAN HIZLI ANTİJEN VE REAL TIME PCR TESTLERİNİN PERFORMANSLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Muhammet Güzel KURTOĞLU

DOKTORA TEZİ

VİROLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Sibel YAVRU

KONYA-2021

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS TANISINDA KULLANILAN HIZLI ANTİJEN VE REAL TIME PCR TESTLERİNİN PERFORMANSLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Muhammet Güzel KURTOĞLU

DOKTORA TEZİ

VİROLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Sibel YAVRU

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğütarafından 19202044 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2021

ÖNSÖZ

Çocuklarda yaşamın ilk iki yılında solunum yolu enfeksiyonu yapan yaygın ve bulaşıcı bir virus olan Respiratory Syncytial Virus (RSV) bu yaş grubunda önemli oranda morbidite ve mortalite nedenidir. Bebeklerde bronşiyolit ve pnömoni gibi yaşamı tehdit eden şiddetli solunum yolu enfeksiyonlarına yol açar. Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde salgınlara neden olur. Yüksek riskli pediyatrik popülasyonda önemli oranda morbidite ve mortaliteye de neden olur.

Bebeklik yaş döneminde geçirilen RSV enfeksiyonları ileri yaşlarda reaktif hava yolu hastalığı (RAD- Reaktive Airway Disease) gelişimine neden olabilir. Halen şiddetli RSV enfeksiyonunun etkili ilaç tedavisi mevcut değildir. RSV enfeksiyonu 0-2 yaş grubu çocuklarda hospitalizasyon endikasyonlarını ve tedavi maliyetlerini de yükselttiğinden enfeksiyonun kontrolü ve önlenmesi en etkili seçenektir.

Bu nedenle çalışmamızda çocukluk yaş grubunda solunum yolu enfeksiyonlarına sıklıkla neden olan RSV'nin tanısında kullanılmakta olan iki farklı yöntemin karşılaştırılması ve bu yöntemlerin duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerlerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Tanıda etken RSV'yi saptamada bir ucuz ve bir de pahalı testin saptama oranları, daha doğru ve daha efektif yöntemin saptanması amaçlandı.

Bu çalışmanın yapılmasında ve doktora eğitimim boyunca yakın ilgi ve desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Sibel YAVRU'ya, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Atilla ŞİMŞEK, Prof. Dr. Orhan YAPICI, Prof. Dr. Oya BULUT, Doç. Dr. Oğuzhan AVCI'ya, İstatistik desteği veren Prof. Dr. Seyit Ali KAYIŞ hocama, doktora çalışmalarım süresince göstermiş olduğu ilgi, anlayış ve sabrı için sevgili eşim Dr. Songül Ekmen KURTOĞLU'ya, tezimdeki görsel şekilleri çizen oğlum Ahmet Şamil KURTOĞLU'ya, ve bu sürede bana moral ve motivasyon veren evlatlarıma sonsuz teşekkürü borç bilirim.

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP)'nin 19202044 numaralı projesi ile desteklenmiştir. Bu vesileyle Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne yaptıkları katkılardan dolayı teşekkür ederim. Çalışma esnasında vermiş oldukları katkılardan dolayı ayrıca Labosis firmasına da teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

SİMGELER VE KISALTMALAR vii

ÖZET viii

1.GİRİŞ 1

1.1. Genel Bilgiler 1

1.2. Etiyoloji 2

1.2.1. Sınıflandırma 4

1.3. Epidemiyoloji 6

1.4. Patogenez ve İmmünite 142

1.5. Laboratuvar Tanı Yöntemleri 18

1.5.1. Direk Tanı Yöntemleri 18

1.5.2. İndirekt Tanı Yöntemleri 18

1.6. Korunma ve Kontrol 20

2. GEREÇ VE YÖNTEM 26

2.1. Araştırmada Kullanılan Hastalar 26

2.2. Örneklerin Alınması, Hazırlanması ve Saklanması 26

2.3. Hızlı Antijen Testi 27

2.3.1. Sonuçların değerlendirilmesi 29

2.4. RT-qPCR 30

2.5. İstatistik Yöntem ve Analiz 32

3.BULGULAR 33

3.1. Çalışılan Tüm Örneklerin Genel Değerlendirilmesi 33

3.2. RSV Hızlı Antijen (RSV AG) Sonuçları 33

3.3. RT-qPCR sonuçları 38

3.4. RT-qPCR ile Hızlı Antijen (RSV AG) Yöntemlerinin İstatistiksel Karşılaştırılması 39

3.5. Duyarlılık, Özgüllük, Pozitif Prediktif ve Negatif Prediktif Değerlerinin Hesaplanması 50
4.TARTIŞMA **51**
5.SONUÇ VE ÖNERİLER **56**
6.KAYNAKLAR **58**
7.EKLER **70**
EK A: Etik Kurul Belgeleri 70
EK B: Onam Formu Örneği 71
8. ÖZGEÇMİŞ **74**

SİMGELER VE KISALTMALAR

Alt Solunum Yolu Enfeksiyonu (ASYE)

Antijen (Ag)

Bacillus Calmette-Guerin (BCG)

Centers for Disease Control and Prevention (CDC)

Direkt floresan antikor (DFA)

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)

Dünya Sağlık Örgütü (WHO, DSÖ)

Enzim immun assay (EIA)

Formalin ile etkisizleştirilmiş bir RSV aşısının (FI-RSV)

Gerçek zamanlı PCR (RT-PCR)

Gerçek zamanlı quantitative PCR (RT-qPCR)

Hızlı Antijen Testi (HAT)

Hidrofobik protein (SH)

Immünglobulin (Ig)

İnterferon (IFN)

kilobazlık (kb)

Küçük interfering RNA (ALN-RSV)

Makrofaj İnflamasyon Proteini (MIP)

Mikro RNA (miRNA)

Monoklonal antikor (mAb)

Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri (NAAT)

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

Real Time (gerçek zamanlı) quantitative PCR (RT-qPCR)

Reaktive Airway Disease (RAD)

Regulated upon ctivation normal t-cell expressed and secreted (RANTES)

RSV İntravenöz İmmünglobulin (RSV-IV Ig)

Shell vial kültür (SVC)

Toll benzeri reseptör (TLR)

Uluslararası Virus Taksonomisi Komitesi (ICTV)

Yapısal olmayan protein (NSP)

Yardımcı T lenfosit (Th)

ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA)

ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Respiratory Syncytial Virus tanısında kullanılan hızlı antijen ve Real Time PCR testlerinin performanslarının karşılaştırılması

Muhammet Güzel KURTOĞLU
Viroloji Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ / KONYA–2021

Respiratory Syncytial Virus (RSV) üst ve alt solunum yolu enfeksiyonlarına yol açan bir RNA virusudur. Yenidoğan ve çocuklarda RSV'in primer enfeksiyonunda %25-40 oranında bronşiyolit ve pnömoni semptomları görülmektedir. RSV'nin neden olduğu alt solunum yolu enfeksiyonları pnömoni, bronşiyolit ve trakeobronsittir. Hastalar başlangıçta subfebril bir ateş ve öksürükle başvururlar. Bu hastaların %0.5-2'sinde hastaneye yatış endikasyonu oluşmaktadır. Ancak premature veya kronik akciğer hastalığı anamnezi olan bireylerde ve yüksek riskli çocuk hastalarda hastaneye yatış endikasyonu oranları %25'i geçmektedir.

Alt solunum yolu enfeksiyonu ön tanısıyla başvuran 0-2 yaş grubundaki çocuklardan alınan nazofaringeal swap örneklerinde hızlı antijen testi (HAT) ile Real Time (gerçek zamanlı) quantitative PCR (RT-qPCR) yöntemiyle RSV varlığı araştırılmıştır. Hızlı antijen kiti ve/veya RT-qPCR testi ile pozitiflik saptanan 100 hastaya ulaşılınca çalışma sonlandırıldı. RT-qPCR yöntemiyle kıyaslanarak duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerler hesaplandı.

Çalışma grubumuzda RSV hızlı antijen pozitiflik ve RT-qPCR pozitiflik oranları sırasıyla %37 ve %49 olarak saptanmıştır. RSV hızlı antijen pozitifliği 0-12 aylık çocuklarda %31, 13-24 aylık çocuklarda ise %6 olarak saptandı. RT-qPCR pozitifliği ise 0-12 aylık çocuklarda %41, 13-24 aylık çocuklarda ise %8 olarak saptandı. RT-qPCR test sonuçları referans yöntem olarak kabul edildiğinde RSV hızlı antijen testinin duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer ve negatif prediktif değer oranları sırasıyla %71,4, %96,07, %%94,5 ve %77,7 olarak saptandı.

Sonuç olarak RSV düşünülen çocuklarda etken RSV'yi saptamada RT-qPCR testi 0-12 aylık çocuklarda %10, 13-24 aylık çocuklarda ise %2 daha avanjlı olduğu saptandı. Böylece tanıda etken RSV'yi saptamada bir ucuz ve bir de pahalı testin saptama oranları karşılaştırıldı. Bu nedenle Hızlı AG testlerinin ucuz ve saptama oranlarının yüksek olması nedeniyle tarama amaçlı olarak rahatlıkla kullanılabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar Sözcükler: Respiratory Syncytial Virus, çocuk, alt solunum yolu enfeksiyonu, hızlı antijen testi, Real Time PCR.

SUMMARY

REPUBLIC of TURKEY
SELCUK UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

Comparison of the performances of Rapid Antigen and Real Time PCR tests used in RSV identification

Muhammet Güzel KURTOĞLU
Department of Virology

PhD THESIS / KONYA-2021

Respiratory Syncytial Virus (RSV) which is an RNA virus is one of the causative agents of upper and lower respiratory tract infections. In neonatal period and early childhood, 25-40% of primary infections caused by RSV are associated with bronchiolitis and pneumonia. RSV can be identified from lower respiratory tract specimens of children with pneumonia, bronchiolitis, and tracheobronchitis. Usually, initial presentation of patients is a subfebrile fever with cough. Although overall hospitalization rate of patients at admission is 0.5-2%, the rate exceeds 25% in prematures, in children with chronic lung disease, and in high-risk pediatric population.

The aim of the present study is to investigate RSV positivity in nasopharyngeal swap samples taken from 0-2 year-old children with a pre-diagnosis of lower respiratory tract infection by using a rapid antigen test (kit marka, üretim yeri) and real-time quantitative PCR method (RT-qPCR) (kit marka, üretim yeri). (Hocam devam eden cümleler özette fazla ayrıntı olabilir mi? The study was terminated when the RSV positivity obtained from either method reached to 100.) The sensitivity, specificity, positive and negative predictive values of the rapid antigen test were determined in comparison with the RT-qPCR method.

In our study, RSV rapid antigen test positivity and RT-qPCR test positivity were found to be 37% and 49%, respectively. RSV rapid antigen test positivity in 0-12 month-old children was found to be 31% and in 13-24 month-old ones to be 6%. On the other hand, RT-qPCR test positivity was 41% in 0-12 month-old children and 8% in 13-24 month-old ones. Accepting the RT-qPCR method as the reference method, the sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value ratios of the RSV rapid antigen test were found to be 71,4%, 96,07%, 94,5%, and 77,7%, respectively.

As a result, RT-qPCR test was 10% more advantageous in identifying RSV in 0-12 month-old children and 2% in 13-24 month-old ones. In additon, our study compares the effectiveness of one cheap, easily accesable, and easy to use test method and one expensive test method in detecting RSV in nasopharengeal swab specimens of children.

Keywords: Respiratory syncytial virus, pediatric, lower respiratory tract infection, rapid antigen test, real time PCR.

1. GİRİŞ

1.1. Genel Bilgiler

Respiratuar sinsityal virus (RSV) tüm yaş gruplarında hastalık yapabilen, çocukluk çağının en sık solunum yolu enfeksiyonuna sebep olan viral etkenlerinin başında gelir (Glezen ve ark 1986). RSV, 1956'daki keşfinden bu yana, özellikle yaşamın ilk 6 ayında bebekler arasında morbidite ve mortalitenin önde gelen küresel bir nedeni olarak kabul edildi. RSV çocukluk çağı akut respiratuar enfeksiyonların en yaygın ve bebeklik döneminde hastaneye yatırılmanın en önemli nedenidir. Son yıllarda RSV'nin yaşlılar ve bağışıklığı zayıflamış kişiler dahil olmak üzere çeşitli risk altındaki yetişkinleri de etkilediği anlaşılmıştır. Gelişmemiş ülkelerde, RSV'ye bağlı alt solunum yolları enfeksiyonları pnömokokal pnömoni ve *Haemophilus influenzae tip B*'den daha fazla ölüme neden olur. Gelişmemiş ülkelerde gelişmiş ülkelere kıyasen, görülen ciddi hastalık insidansının iki katından daha fazlası görülür. RSV'ye bağlı tüm ölümlerin %99'u gelişmemiş ülkelerde görülmektedir (Nair ve ark 2010).

Genellikle çocukların tümü anneden kazandıkları antikorlara rağmen yaşamlarının ilk iki yılında bu virüs ile enfekte olurlar (Glezen ve ark 1986). Geçirilmekte olan ilk enfeksiyonlar genellikle semptomatiktir. Yaşamın ilerleyen dönemlerinde de semptomatik reenfeksiyonlar görülebilir. Çocuklarda RSV genellikle üst solunum yolu enfeksiyonuna neden olsa da %20-30 oranında alt solunum yolu enfeksiyonlarına da neden olur (Hall ve ark 2009). Dünya Sağlık Örgütü çocuklardaki akut alt solunum yolu enfeksiyonlarının %60'ından RSV'nin sorumlu olduğunu bildirmiştir. Özellikle bir yaş altı infantlarda bu oranın %80 üzerinde olduğunu bildirmiştir (Wright ve Piedimonte 2011).

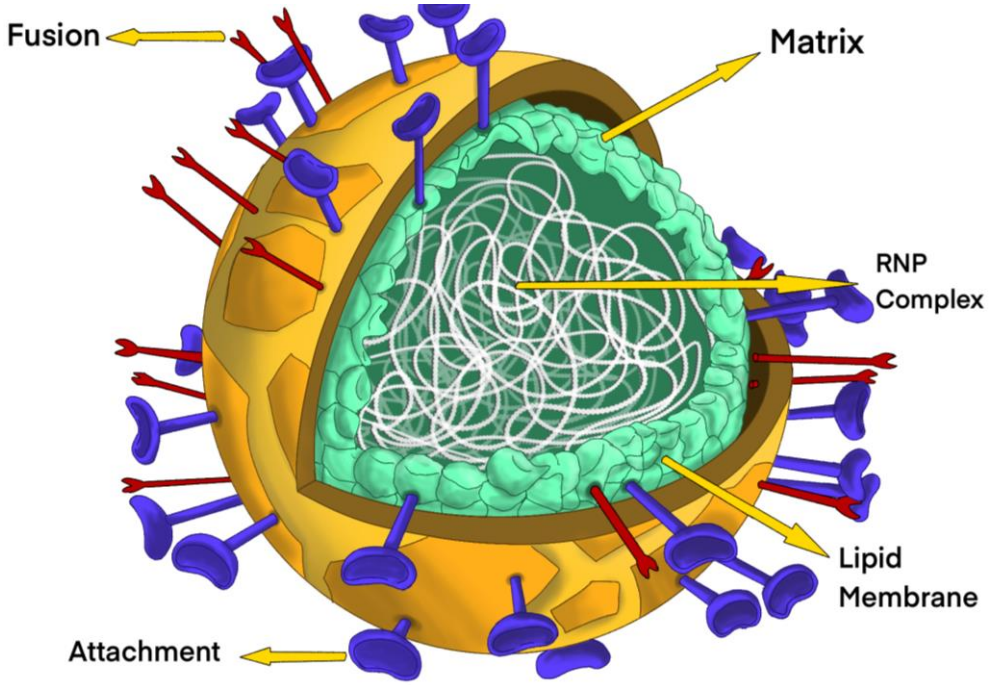
Çalışmamızda hızlı antijen testi (HAT)'nin duyarlılık, özgüllüklerini saptamak ve maliyeti düşük olan HAT ile maliyeti yüksek olan Real Time (gerçek zamanlı) quantitative PCR (RT-qPCR) yöntemleri karşılaştırılması amaçlanmıştır.

1.2. Etiyoloji

Respiratory Syncytial Virus tek sarmallı bir RNA virüsü olup dünya çapında dağılım gösterir ve mevsimsel olarak etkinliğinin arttığı kanıtlanmıştır (Theodoridou 2019, Barr ve ark 2019, Li ve ark 2019, Alchikh ve ark 2019). 1956'da ilk defa burun akıntısı ve koriza benzeri semptomlar gösteren şempanzelerin burun akıntılarından izole edilmiştir ve başlangıçta 'Şempanze koriza virüsu' (Chimpanzee coryza agent' (CCA)) olarak tanımlanmıştır (Blount ve ark 1956, Kapikian ve ark 2011). Sonraki yıllarda akut alt solunum yolları enfeksiyonlu çocuklardan alınan örneklerden tespit edildi. Yapılan incelemelerde elektron mikroskobunda virüsün doku kültürlerinde sinsitya oluşturduğu görülmüş olduğundan bu son adını aldı (Mammas ve ark 2020). 2016 yılında Uluslararası Virus Taksonomisi Komitesi (ICTV) tarafından Pneumoviridae ailesinden Orthopneumovirus sınıfına eklendi (CTV Virus Taxonomy Profile: Pneumoviridae) (Rima ve ark 2017, Mammas ve Spandidos 2019, ICTV). Diğer paramiksovirüslerden farklı olarak hemaglütinin ve nöraminidaz aktivitesi bulunmamaktadır. A ve B olmak üzere iki alt tipi salgınların çoğundan sorumludur (McConnochie ve ark 1990, Pollack ve Groothius 2002, Collins ve ark 2002, Papadopoulos ve ark 2004). Alt tip A daha ağır enfeksiyonlara neden olmaktadır (Walsh ve ark 1997). Bu alt tip içinde yer alan bazı genotipler baskın olabilmektedir. Sık reenfeksiyonların nedeni her yıl değişen baskın suşların varlığıdır (Peret ve ark 1998, Gilca ve ark 2006). RSV çok bulaşıcı olup insandan insana temas ya da kontamine eşyalarla bulaşır. Damlacık yoluyla bulaşma oldukça kısıtlıdır. Çünkü virüs aerosol içinde inaktive olmaktadır. Kuluçka süresi birkaç gün ile bir haftadır (Collins ve Pollard 2002). RSV dünya genelinde beş yaş altı çocuklarda yaklaşık %10'u hospitalizasyon ile sonuçlanan yılda 34 milyon ASYE epizoduna neden olmaktadır (Nair ve ark 2010). Viral çoğalma bebeklerde ve immünitesi yetersiz kişilerde oldukça fazla ve uzun olup hastaneye yatırılmış bebeklerin virüsü 21 gün boyunca yaydığı gösterilmiştir. Sekretuvar ve serum antikorları koruyucu olup, internal viral proteine karşı gelişen hücresel immün yanıt enfeksiyonu sonlandırır. İmmün yanıt humoral ve hücresel olmakla beraber doğal bağışıklık yetersiz olup reenfeksiyonlar sıktır (Collins ve Pollard 2002, Simoes ve Groothuis 2002).

1975 yılında Paramyxoviridae ailesinde sınıflandırılmaya başlanmıştır. ICTV 2016'da yayınladığı son kararla birlikte Pneumoviridae ailesinde, Orthopneumovirus genusunda yer alan RSV'yi Human orthopneumovirusu olarak adlandırmıştır. Mart 2020'de taksonomisini Riboviria - Orthornavirae - Negarnaviricota – Haploviricotina – Monjiviricetes – Mononegavirales – Pneumoviridae – Orthopneumovirus - Human orthopneumovirus şeklinde değiştirmiştir (https://talk.ictvonline.org/taxonomy/p/taxonomy-history?taxnode_id=201901651).

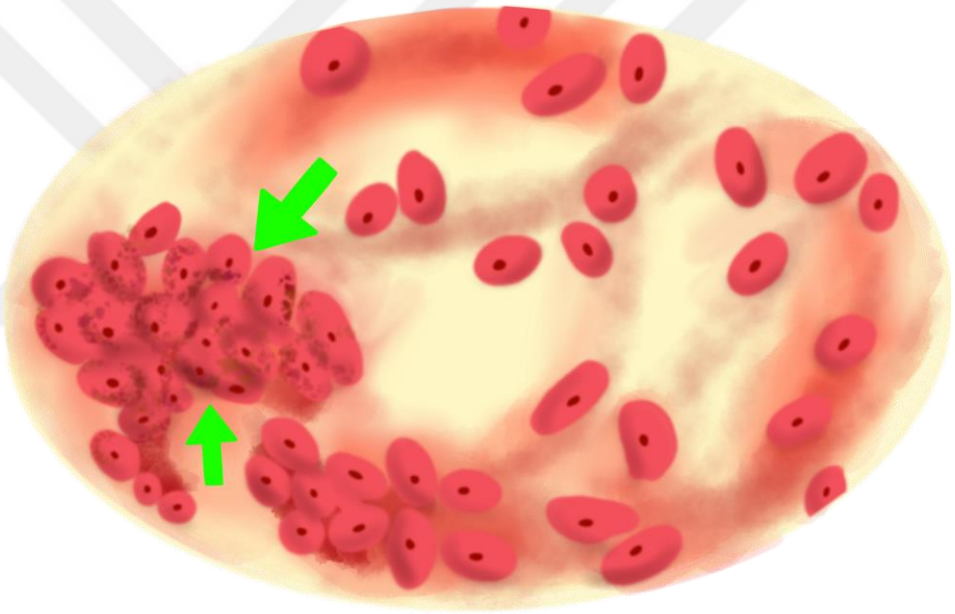
Respiratory Syncytial Virus 15.2 kilobazlık (kb) bir genom içinde kodlanmış 11 proteinden oluşan negatif polariteli, 120-300 nm büyüklüğünde, tek sarmallı solunum sistemine duyarlı bir RNA virüsüdür. Lipid yapılı bir zarf ve içindeki nüleokapsidden oluşur (Chertow 2017). Viryonların şekilleri küresel ya da ipliksi tarzda olabilecek şekilde pleomorfiktir. Hücre kültüründe üretildiklerinde 60-100 nm çapında, uzunluğu 10nm'ye varabilen çok miktarda filamentoz yapılar oluştururlar (Collins ve ark 1996). Bölümlendirilmemiş bir genoma sahip olduğundan, influenza ve rotaviruslardan farklı olarak, reassortman yaparak büyük pandemilere neden olma potansiyeline sahip antijenik kaymalara yol açan genom bölümlerini yeniden sınıflandırma kapasitesine sahip değildir (Welliver 2003).



Şekil 1.1. Respiratuvar Sinsityal Virus

1.2.1. Sınıflandırma

Respiratory Syncytial Virus, antijenik değişkenliği kaynaklı A ve B olarak adlandırılan iki farklı alt gruba (A ve B) ayrılmıştır (Mufson ve ark 1985). Bu iki grup, glikoprotein (G) ve füzyon (F) olarak adlandırılan iki ana yüzey proteininin monoklonal antikorlara (mAb) verdiği reaksiyonlara dayanarak tanımlanmıştır. G, hava yolunun silial hücrelerine viral bağlanmayı kolaylaştırırken (Jonson ve ark 2015), füzyon (F) proteini sinsityum ve viryon- konak hücre füzyonuna aracılık eder (Levine ve ark 1987). Alt tipler hızlı tanı için gerekli olan monoklonal antikorların tayini ve aşı geliştirilmesi için önemlidir (Jonson ve ark 2015).



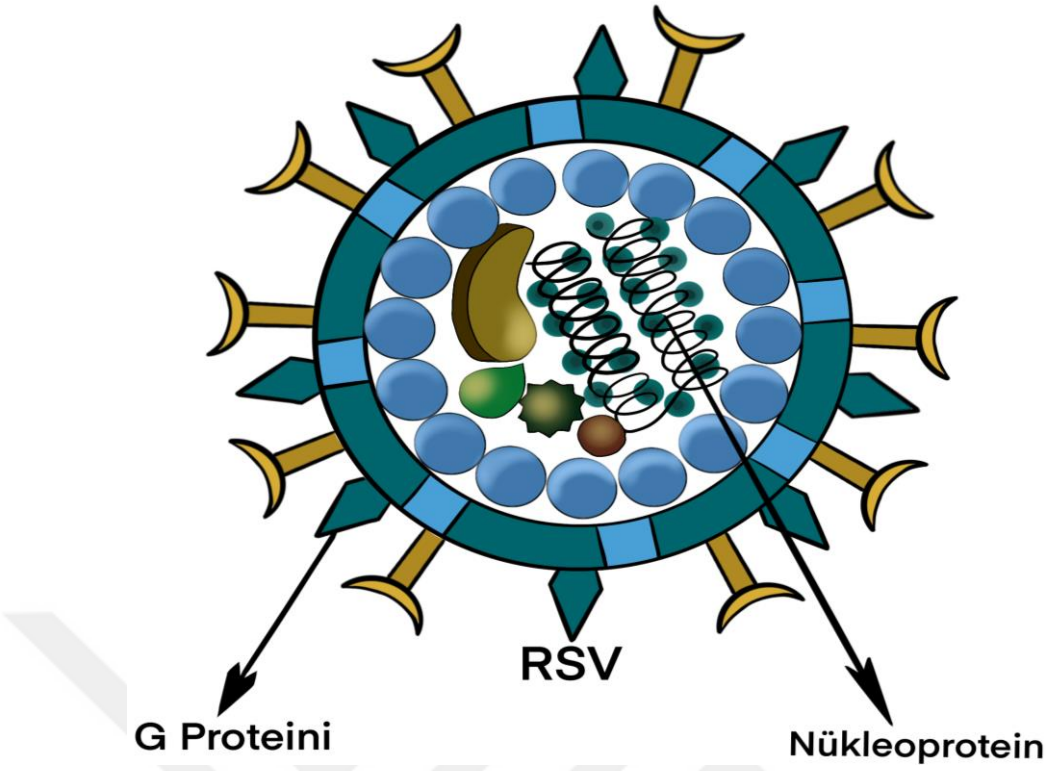
Şekil 1.2. RSV'nin hücre kültüründe yapmış olduğu sinsitya formasyonu.

A ve B gruplarında bulunan bu antijenik değişkenlikle patojenite, immun sistemin verdiği reaksiyonlar değişkenlik gösterir. G proteini en kapsamlı antijenik ve genetik çeşitlilik sağlarken F proteini daha stabildir (Meissner 1990). Bu sebeple RSV'nin patojenitesini G proteini sağlarken F proteinine bağlı olarak daha fazla antikor tepkisi oluşur. Alt tip A RSV marjinal olarak daha virülan olabilir ve in vivo ve in vitro grup B virüslerinden daha yüksek titrelerde replike olabilir (Sullender 2000). B grubu in vivo ve in vitro daha yavaş ve daha düşük titrede ürediği için

laboratuvar tanısı daha zor olduğu düşünülmektedir. Bu alt tipler salgınlarda eş zamanlı olarak görülebilir. Yeni RSV genotipleri periyodik olarak ortaya çıkabilir. Dolaşımdaki suş baskın hale gelmeye çalışır ve diğerinin yerini almaya çalışır. Eski ve yeni suşlar birlikte uzun süreler dolaşımda kalabilir ve bu durum orijinal molekülün yok olmasını engeller (Tan ve ark 2012).

Hidrofobik protein (SH) olarak adlandırılan proteinin tam olarak görevi bilinmemekle birlikte penetrasyondan sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Enfeksiyon oluşumu için şart olmamasına rağmen eksikliğinde solunum yollarına afinitesi 10 kata kadar azalmaktadır (Meissner 1990, Gan ve ark 2012).

Yapısal olmayan proteinlerden NS1 ve NS2 proteinleri interferon yanıtını engelleyerek, enfekte hücrenin sağ kalım süresini uzatır ve çoğalmayı arttırır (Bachi ve Howe 1973). RSV L (large), N (nukleocapsid), P (Phosphoprotein), M (matrix) ve M2-1 proteinleri adı verilen yapısal proteinleri içerir. G ve F proteinleri sırasıyla glikozaminoglikanlar ve RhoA adı verilen disakkarit alt birimlerine virionun tutunmasını ve füzyonunu sağlar. M2-2 proteini, transkripsiyondan genomik RNA üretimini sağlar (Gould ve Easton 2007). L proteini, RSV replikasyonu için gereken çoklu enzim işlevlerini yerine getiren viral RNA'ya bağımlı RNA polimerazdır. Mesajcı RNA (mRNA), genomik RNA'dan kopyalanır ve genomun antijenom adı verilen ve replikasyon için bir şablon görevi gören tam bir pozitif-sens RNA tamamlayıcısı oluşturur. Nükleoprotein (N), çoğaltma boyunca RNA'yı kapsülleyerek bozunmasını önler. Matris (M) proteini, zarf proteinlerinin nükleokapsid proteinlerle (N, fosfoprotein (P) ve M2-1) birleşimini koordine eder ve konak hücre membranını kullanarak yeni olgunlaşmamış viryonların tomurcuklanmasını kolaylaştırır. İpliksi virionlar, infeksiyöz ipliksi parçacıkların oluşumunda kritik bir rol oynayan M proteinlerinin sarmal bir birleşimini gösterir (Mitra ve ark 2012).



Şekil 1.3. Respiratory syncytial virus proteinleri

1.3. Epidemiyoloji

Türkiye'de büyük bir merkezden yapılan çalışmada, akut alt solunum yolu enfeksiyonu tanısıyla hastaneye yatırılan iki yaş altı çocuklarda RSV pozitiflik oranı %37,9 olarak saptanmıştır (Hacımustafaoğlu ve ark 2013). Dünya genelinde 2005 yılında beş yaş altı çocuklarda RSV ilişkili alt solunum yolu enfeksiyonu 33 milyon olarak saptanmıştır. Bu enfeksiyona bağlı olarak 0-5 aylık infantlarda hastaneye yatış oranı 16,9/1000, 6-11 aylık infantlarda ise 5,1/1000 olarak hesaplanmıştır. Beş yaş altı çocuklardaki RSV ilişkili yıllık mortalite hızı 66.000/yıl-199.000/yıl arasında değiştiği bildirilmiştir (Nair ve ark 2010). Dünya Sağlık Örgütü çocuklardaki akut alt solunum yolu enfeksiyonlarının %60'ından RSV'nin sorumlu olduğunu bildirmiştir. Özellikle bir yaş altı infantlarda bu oranın %80 üzerinde olduğunu bildirilmiştir (Wright ve Piedimonte 2011).

Respiratory Syncytial Virus, tüm dünyada önemli morbidite ve mortaliteye neden olur ve bebeklerde pnömoni ve bronşiolitin önde gelen nedenidir. Yaşlılarda hali hazırda bilinmeyenlere nazaran her yıl dünya çapında 30 milyon akut solunum

yolu enfeksiyonuna ve 60000'den fazla çocukluk dönemi ölümüne neden olduğu tahmin edilmektedir (Hall ve ark 2009, Nair ve ark 2010). Hastalığın ana yükü 5 yaşın altındaki gruptadır, ancak RSV'nin çeşitli risk altındaki yetişkin popülasyonları üzerinde de önemli etkisi vardır (Falsey ve ark 2005, Branche ve Falsey 2015).

Tek bir serotipi olan RSV'nin A ve B olmak üzere iki majör subgrubu vardır. Genellikle her ikisi birden enfeksiyon yaparlar ancak biri daha baskın olur. Moleküler tanı analiz sonuçları birkaç genotipin herhangi bir bölge ve sezonda aynı anda görüldüğü bildirilmiştir. Bununla beraber komşu bölgelerde farklı suşlar da görülebilmektedir.

Yapılan çalışmaların çoğu yeni doğanların ev içindeki büyük kardeşlerinden virusu aldığını bildirmiştir. RSV enfeksiyonlarında inkübasyon süresi 2-8 gün arasında değişmekle beraber sıklıkla ortalama 4-6 gün olduğu bildirilmiştir (Kimberlin ve ark 2015). Bu süreç küçük bebeklerde ve bağışıklığı baskılanmış olgularda 3-4 haftaya kadar da uzayabilir. Toplu yaşanılan yerlerde, özellikle çocuk yuvalarında hızla yayılır ve tüm çocuklar enfekte olurlar. Çocuk yoğun bakım ünitelerindeki RSV salgınları yüksek morbidite ile ilişkilidir (Hall ve Douglas 1981).

Respiratory Syncytial Virus'un tek kaynağı insandır. Kontamine sekresyonların nazofarengeal mukozaya, göz mukozasına ve daha az oranda da oral mukozaya ulaşması ile geçiş olur. Bu geçiş sıklıkla nefes alıp verme, hapşırma, öksürme sırasında yayılan, kısa mesafedeki (≤0,9 m) büyük partiküllü damlacıklar ya da enfekte sekresyonlarla kontamine olmuş yüzeylerle temas sonucu olur. RSV ellerde yarım saatten daha uzun süre, kontamine çevrede ise saatlerce canlı kalabilir, bu nedenle el yıkama ve temas önlemleri bulaştırıcılığın önlenmesinde önemli bir faktördür (Kimberlin ve ark 2015).

Respiratory Syncytial Virus özellikle çocukluk çağında yaygındır. Genellikle bir yaşına kadar bütün çocukların %50'si iki yaşına kadar da hemen hemen hepsi RSV virüsü ile enfekte olmaktadır. Bir RSV salgını esnasında ABD'de aktif sürveyans hızı bebeklerde %29 ile %32 arasında bulunmuştur. Buna karşılık Çin'den elde edilen seroprevalans verileri yaşamın ilk yılı boyunca RSV enfeksiyonun

yüksek oranda seyrettiğini göstermektedir. Sonraki bir yıl içindeki bireysel maruz kalma da RSV enfeksiyonu salgın şiddetinin önemli bir belirleyicisi olarak görülmektedir (Öz S ve ark 2018).

ABD'de Centers for Disease Control and Prevention (CDC) tarafından yapılan retrospektif bir çalışmada 1979-1997 yılları arasında akut bronşiyolite bağlı 1806 ölüm (yılda 66-127, ortalama 95 ölüm/yıl) gözlenmiş olup bu ölümlerin 1453'ünün (%79) bir yaşın altındaki çocuklara ait olduğu bildirilmiştir (Shayk ve ark 2001).

Pnömoni, dünya çapında çocuklarda önde gelen ölüm nedenidir. RSV, küçük çocuklarda akut solunum yolları enfeksiyonunun tek nedenidir (Hall ve ark 2009, Rudan ve ark 2008). Onsekiz aylık olduğunda, çocukların %87'sinde RSV'ye karşı antikor vardır ve 3 yaşına gelindiğinde hemen hemen tüm çocuklar enfekte olmuş olur (Simoes 1999). 2005 yılında derlenen dünya çapında bir meta-analizin yayımlanması sonucunda çocuklarda 33,8 milyon RSV ile ilişkili akut solunum yolları enfeksiyon vakası olduğu bildirilmiştir (Nair ve ark 2010).

Respiratory Syncytial Virus ile ilişkili akut solunum yolları enfeksiyonu olan çocukların çoğunda altta yatan komorbidite yoktur. Konjenital veya edinilmiş immün yetmezlik ve çeşitli kardiyopulmoner, kronik akciğer hastalığı ve nörogelişimsel bozukluklar gibi, düşük doğum ağırlığı ve prematüre doğumlar da hastaneye yatış için başlıca risk faktörleridir (Moyes ve ark 2013, Collins ve Graham 2008). Artan duyarlılığa katkıda bulunan çevresel faktörlere sigara dumanına maruz kalma, emzirme eksikliği ve düşük sosyoekonomik durumu eklemek gerekir (Sommer ve ark 2011).

Sağlık hizmeti sunumunda ve farklı coğrafi ve sosyoekonomik ortamlarda kaynaklara erişimde büyük farklılıklar olduğu için, RSV hastalığının farklı ortamlarda gerçek etkisini tahmin etmek zordur. Bu uyarılara rağmen, sağlıklı, bağışıklığı yeterli yetişkinlerin RSV enfeksiyonu nedeniyle hastaneye yatışa ihtiyaç duymasının nadir olduğu söylenebilir. Bununla birlikte, RSV enfeksiyonu o kadar yaygındır ki, en azından yaşlı kişilerde influenza ile karşılaştırılabilir bir hastalık

yüküne neden olduğu tahmin edilmektedir (Fleming ve ark 2015). Batı ülkelerindeki yaşlanan nüfus yapısı göz önüne alındığında, yetişkin RSV ile ilişkili mortalite, büyük bir sağlık ve ekonomik yük oluşturmakta ve giderek daha büyük bir sorun haline gelmektedir (Branche ve Falsey 2015, Thompson ve Shay 2003). Yapılan bir Kuzey Amerika çalışmasında, sağlıklı yaşlı hastalar (n = 608), yüksek riskli yetişkinler (kronik kalp veya akciğer hastalığı olanlar (n = 540) ve akut solunum yolu hastalığı nedeniyle hastaneye kaldırılan hastalar (n = 608) üzerinde arka arkaya dört kış boyunca RSV'nin etkisi inceledi. Tüm grupların ortalama yaşı 70'in üstündeydi. RSV enfeksiyonu, sağlıklı yaşlı hastaların %3-7'sinde ve yüksek riskli yetişkinlerin %4-10'unda gelişmiş olduğu bildirilmiş ve akut solunum yolu enfeksiyonu ile hastaneye yatırılan hastaların %8-13'ünde mevcut olduğu bildirilmiştir. Çalışma süresi boyunca RSV enfeksiyonu, pnömoni nedeniyle hastaneye yatışların %11'ini, KOAH için %11'ini, konjestif kalp yetmezliği için %5'ini ve astım için %7'sini oluşturduğunu tespit etmişlerdir (Falsey ve ark 2005). Birleşik Krallık'ta, yetişkin nüfus arasında 65 yaşın üzerindeki kişilerin, her mevsimde yaptıkları genel muayenehane ziyaretlerinin %36'sını, hastaneye yatışların %79'unun RSV'ye bağlı olduğu ve solunum yolları enfeksiyonlarına bağlı ölümlerin %93'ünden RSV'nin sorumlu olduğu bildirilmiştir (Fleming ve ark 2015). Dünya üzerinde influenza benzeri semptomlarla başvuran yaşlı (> 65 yaş) bireylerin %7,4'ünün RSV ile enfekte olduğu gözlemlenmiştir (Falsey ve ark 2014).

Respiratory Syncytial Virus enfeksiyonunun mevsimsel dağılımı dünya genelinde farklılık göstermektedir. RSV enfeksiyonunun sezon zamanlaması enlem ve iklim ile değişmekle beraber, genellikle her yıl aynı zamanda gerçekleşmektedir (Kanra ve ark 2005). Ilıman bölgeler sonbaharın sonlarında, kışın ve/veya ilkbaharda RSV salgınları yaşama eğilimindeyken (Zambon ve ark 2001), tropikal ve arktik iklimler daha az tanımlanmış yıllık varyasyon göstermektedir ve bazı ortamlarda yıl boyunca RSV enfeksiyonu görülmektedir (Tang ve Loh 2014). Ilıman iklimlerdeki RSV'ye karşı özel antikor oluşumunun siklik patern göstermesi, RSV enfeksiyonlarının oluşumunda mevsimsel değişikliklerin önemini ortaya koymuştur. Kuzey tropikal bölgelerde mevsimsellik, sıcaklıkta bir düşüş ve yağışta artış ile ilişkiliyken, daha tropikal iklimlerde ılık ve yağışlı mevsimlerde yıllık salgınlar meydana gelebilir (Bloom-Feshbach ve ark 2013, Tran ve ark 2015). Avrupa'da

RSV, ağırlıklı olarak bir kış hastalığı olup, aralık ve ocak aylarında Birleşik Krallık, Belçika, Almanya ve Hollanda'da hastalık pik yapar. Mart ayında da Yunanistan gibi Akdeniz ülkelerinde pik yapar. Kuzey Avrupa'da iki yılda bir RSV aktivite döngüleri tanımlanmıştır (Constantopoulos ve ark 2002, Simoes 2003, Bloom-Feshbach 2013). Ülkemizin de yer almış olduğu Kuzey Yarım Küre'de RSV sezonu Kasım-Aralık aylarında başlar, Ocak-Şubat aylarında da pik yapar, Mart-Nisan aylarında da sonlanır (Kanra ve ark 2005). RSV'nin mevsimsel değişikliğinden günlük ortalama sıcaklığın, nem ve yağış oranının, ultraviyole ışınlarının da etkili olduğu da bildirilmiştir (Yurdakok 2012). Bazı epidemiyolojik çalışmalarda, vitamin D'nin RSV'ye bağlı alt solunum yolu enfeksiyonlarına karşı koruyucu rol oynadığı da bildirilmiştir. Bu çalışmalar kış aylarında artan enfeksiyon sıklığını da bu mevsimde düşen serum vitamin D konsantrasyonları ile ilişkilendirmiştir (Meissner ve Hall 2014).

Respiratory Syncytial Virus vakalarındaki artışın azalan sıcaklıklarla ilişkisi şunlara atfedilmiştir: 1) Havanın soğumasına bağlı olarak kapalı ortamlarda kalış süre ve birey sayısının artışı, bu da artan viral aktarıma yol açar; 2) viral stabiliteyi artıran daha düşük sıcaklıklar; 3) konakçının duyarlılığını arttırır ve 4) konağın vücut sıcaklığının düşük olması uykuda olan virüsün aktivasyonunu arttırır (Shaw 2015).

Respiratory Syncytial Virus Epidemileri arası 7-12 ay gibi kısa bir süre veya 13-16 ay gibi uzun bir süre devam edebilir (WohlMEB). ABD'de sezon Kasım'dan Mart'a kadar genellikle 2-5 ay sürmektedir. Hollanda, Belçika ve Birleşik Krallık gibi ılıman bölgelerde, sonbaharın sonu veya kışın başlarında başlayan ayrı bir mevsimsellik göstermektedir. Aralık ayının sonlarında ve şubat ayının başlarında olmak üzere pik yapmaktadır. Endonezya gibi tropikal ülkelerde patern daha az tahmin edilmektedir ve yıl boyunca enfeksiyon oranları çok düşük ve oldukça sabittir. Ülkemizin kuzey bölgelerinde, güney bölgelerine göre daha kısa olma eğilimindedir (Öz S ve ark 2018). Ülkemizde de İstanbul'da yapılan bir calışmada akut bronşiyolitli olguların %88'i Kasım-Nisan ayları arasında hastaneye başvurduğu bildirilmiştir. Bursa'da yapılan bir çalışmada RSV'ye bağlı akut bronşiyolit olgularının %92'sinin Ekim-Nisan ayları arasında başvurduğu, mevcut epideminin yaklaşık 7 ay kadar sürdüğü gözlenmiştir (Hacimustafaoğlu 2004).

Ankara'da yapılan çok merkezli bir çalışmada alt solunum yolu bulgularıyla yatırılan 24 ay altındaki riskli bebeklerde %29,5 RSV bildirilmiştir (Kanra ve ark 2005). RSV'ye bağlı gelişen bronşiyolit, risk faktörü taşıyan bebeklerde daha ciddi klinik tabloya ve daha yüksek mortaliteye yol açabilir. Yapılan farklı çalışmalarda sağlıklı olup da hastaneye yatışı gerektiren bebeklerde mortalite %0,5-1 iken ciddi kardiyak bozukluğu olanlarda %3-33, prematüre ve altta akciğer hastalığı olan bebeklerde ise %3-5 arasında olduğu bildirilmiştir (Rechsteiner ve Winkler 1969, Meurman ve ark 1984, Toms ve Scott 1987, Nicolai T, Pohl A 1990, Navas ve ark 1992, Wang ve ark 1995, Johnson ve ark 1997, Shay ve ark 2001, Openshaw 2002, Piedra 2003, Nicholson ve ark 2006).

Respiratory Syncytial Virus ile ilişkili epidemiyolojik çalışmalarda en düşük atak hızı %17 ile erişkinlerde, en yüksek atak, hızı ise %98 ile yoğun bakım ünitelerinde yatan ve daha önce enfekte olmamış bebeklerde bulunmuştur. RSV'nin primer ve koprimer olgular dışında aile içinde sekonder atak hızı yaşlara göre değişkenlik gösterir, <1 yaşta %45 iken, 1-17 yaş arasında ise %16-21 arasında bildirilmiştir (Hall 1976, Hall 2004).

Respiratory Syncytial Virus ile enfekte olan vakaların %25-33 kadarı alt solunum enfeksiyonu şeklinde kendini gösterir, %1'i ise hospitalizasyon gerektiren ağır pnömoni şeklinde görülür ABD'de yıllık 51000-82000 hastanın hastane yatışlarına neden olur (Brief report). Alt solunum yolu enfeksiyonu ile gelen hastalarda RSV özellikle ayırıcı tanıda düşünülmelidir (Kimberlin ve ark 2015).

Bursa'da yapılan farklı bir çalışmada ilk 6 ay içindeki çocuklarda saptanan akut bronşiyolitli olguların yarısında etken olarak RSV saptanmıştır (Hacimustafaoglu ve ark 2004). Ankara'da yapılan bir çalışmada Ocak-Mart aylarında 123 üst solunum yolu enfeksiyonu tanısıyla konulan ve bunların 91'inde klinik olarak grip benzeri hastalık bulguları saptanan 0-19 yaş çocukların 20'sinde RSV, 10'unda influenza A ve 6'sında da influenza B bildirilmiştir (Akin ve ark 2005)

Türkiyede genel olarak değerlendirildiğinde çalışmanın ilk yılındaki RSV aktivitesi ekimde başlayıp ocakta zirveye ulaştıktan sonra nisanda azalma gösterirken; ikinci yıl ise ekim ayında artış gösterdiği martta zirve değerine ulaştığı ve temmuza kadar da azalmanın devam ettiği bildirilmiştir. RSV virus enfeksiyonları

meteorolojik değişkenler ile sadece %15-40 oranında ilişkilidir. Okulların açılması veya tatiller esnasında oluşan kalabalıklar ile soğuk ve duyarlı yeni doğan nüfusunun varlığı epidemik RSV aktivitesini tetikler. Klima kullanımı ile sıcaklığın ve bağıl nemin düşürülmesi virüsün iç mekanlarda canlı kalmasına imkân vermektedir. RSV enfeksiyonu, difteri ve boğmaca gibi uzun süreli bağışıklık bırakmadığından yeniden bulaşma yaygındır. Ayrıca, konağın immünolojik özellikleri ve virüsün genetik yapısı da aktivitesini etkilemektedir (Öz S ve ark 2018).

1.4. Patogenez ve İmmunite

Respiratory Syncytial Virus nazofarenks sekresyonunda bulunur. Enfekte bireyler üç hafta boyunca virusu yayabilir. RSV ağız, burun ve konjonktiva mukozası yoluyla vücuda girer. Enfeksiyon, burun veya gözlerin büyük partiküllü aerosollere maruz kalması veya enfeksiyonlu bir kişiyle doğrudan temas ile 2-8 günlük bir inkübasyon sonrasında başlar. Oldukça bulaşıcı bir virüs olup bulaş yolunda konjonktiva önemli bir rol alır. Hem toplum hem de hastane ortamlarında salgınlara neden olabilir. Sağlık personelleri yanlışlıkla enfekte bebeklerin göz losyonlarını enfekte olmayan veya göz losyonu olmayan bir bebeğe kullanması durumunda bulaşmaya sebep olur. Yenidoğan yoğun bakım üniteleri de RSV bulaşında önemlidir. RSV enfeksiyonu riski konjenital kalp hastalığı olan, prematüre, kronik akciğer hastalığı, lösemi veya kemik iliği nakli olan veya yaşlı hastalar arasında artmıştır. RSV'nin nasıl bulaştığını bilmek enfeksiyonun kontrolünü sağlamak açısından önemlidir (Öz S ve ark 2018, Thorburn ve ark 2004, Bont 2009).

Respiratory Syncytial Virus deri, kumaş ve diğer nesneler üzerinde uzun süre hayatta kalabilir ve yayılmasını kolaylaştırabilir (Hall 20001). Virusun nasıl bu kadar iyi hayatta kaldığı tartışmalı olup laboratuvarda in vitro olarak üretile bilen bu virüs, oda sıcaklığında stabil değildir (Jensen ve Johnson 1994). RSV, üst ve alt solunum yollarının silier epitel hücrelerini enfekte eder. Alt solunum yollarında bronşiyollerin kirpikli hücrelerini spesifik olarak hedef alır ancak aynı zamanda tip 1 pnömositlerde ve epitel içi dendritik hücrelerde de bulunabilir. Daha yakın zamanlarda, RSV'nin hava yolu epitelinin morfogenezini etkileme potansiyeline sahip olduğu, bazal hücreleri (iletici hava yolu epitelinin öncüleri) enfekte edebildiği gösterilmiştir

(Persson ve ark 2014). Virus peribronşiyal monosit ve T hücre infiltrasyonu sonucunda epitel nekrozu, submukozal ödem ve aşırı mukus üretimine neden olarak yaygın inflamasyona neden olur (Wu ve ark 2011). Bu yayılımın hücreden hücreye veya sekresyonların aspirasyonu yolu ile olduğu düşünülmektedir Alt solunum yollarının enfeksiyonu 1-3 gün sonrasında gelişir (Aherne ve ark 1970, Hoffman ve ark 2004 Johnson ve ark 2007). Enfeksiyon ve doku hasarı, dağınık olmaktan çok düzensiz olma eğilimindedir. Epitel hücrelerinin, mukus tıkaçlarının, birikmiş lüminal ve lümen içi immün hücrelerin dökülmesine sekonder olarak küçük hava yollarında tıkanmalar meydana gelir. Ek olarak, bağışıklığı baskılanmış hastalarda daha sık olmak üzere, ara sıra sinsitya görülebilir (Collins ve Graham 2008). Bunun viral veya konakçı varyasyonuna bağlı olma derecesi henüz tam olarak anlaşılmış değildir. Muhtemelen, şiddetli hastalığın gelişimi, belirli bir viral suşun, o spesifik suşa ters tepki veren bir konakçı ile talihsiz bir çarpışmasından kaynaklanır (Chertow 2017).

Respiratory Syncytial Virus'un etken olduğu enfeksiyonlar solunum yolları ile sınırlıdır. Bronşiyal epitel nekrozu, submukozada ödem ile seyrederek peribronşiyal dokuda mononükleer infiltrasyon ve mukus hipersekresyonu sonucunda küçük hava yollarında tıkaçlar oluşturarak doku nekrozuna neden olur. RSV bronşiyolitinde daralan hava yolunda türbülanslı hava akımı sonucunda hırıltılı solunuma neden olur. Prematür ve küçük bebeklerde solunum yolları zaten dar olduğundan bu popülasyonda solunum semptomları riski daha da artmaktadır. Astım prevalansı, bebeklik veya erken çocukluk döneminde RSV ile hastaneye yatırılan çocuklar arasında daha yaygındır. Atopik eğilim, astım gelişimine kolaylık sağlamaktadır. Enfeksiyon sonrası sitokin ve kemokin içeren patojen inflamatuar yanıta sekonder astım gelişmesi olasıdır. Doğal enfeksiyon immünite sağlamamaktadır (Henderson ve ark 1979, Glezen ve ark 1981, Hall ve ark 1999, Stensballe ve ark 2009, Öz S ve ark 2018).

Respiratory Syncytial Virus'e karşı immun cevap yaşa göre değişiklik göstermektedir. RSV'ye karşı immun cevap hem humoral hem de hücresel karakterdedir. Humoral ve hücresel immunite virusun eliminasyonunda rol alırlar. Genellikle primer infeksiyonlar bebeklikte ASYE, akut bronşiyolit ve pnömoni gibi

şiddetli hastalık tabloları şeklinde kendini gösterir. RSV infeksiyonunda immunite kısa süreli ve inkomplet şeklinde olduğundan reinfeksiyonlar yaşam boyunca yaygın bir şekilde görülebilir. Büyük çocuklarda ve erişkin bireylerde reinfeksiyon genellikle daha az şiddettedir. Bu durum kısmi edinsel immünite ile akciğer hava yollarının yaşla orantılı olarak artış göstermesiyle ilişkilidir. Serumdaki antikorlar akciğer hastalığını önleyebilir, ancak lokal antikorlar yetersiz ise serum antikorları yeterli olsa bile üst solunum yolu yolu enfeksiyonu (ÜSYE) gelişimi önlenememektedir. Bir yaşın altında bebeklerde RSV'ye konak yanıtı geçici ve inkomplettir. Bu bebekler primer infeksiyondan sonra reinfeksiyona de oldukça duyarlıdır. Sağlıklı erişkinlerde bile RSV infeksiyonu sonrası zayıf bir koruyucu immun yanıt gelişir. Etkili serum antikorları ancak birkaç infeksiyon sonrası gelişebilir. Serum nötralizan antikorları koruyucu özellikte olup serumda 1/200-1/400 üstü titredeki nötralizan antikor düzeyleri kişiyi ASYE'dan korur (Groothius ve ark 1993). Günümüzde özellikle bronkopulmoner displazili bebeklere RSV mevsiminde proflaktik olarak yüksek titrede RSV İntravenöz İmmünglobulin (RSV-IV Ig) ve anti-RSV nötralizan antikorları önerilmekte olup bu antikorlar bebeği RSV infeksiyonundan korumuş olurlar. Yapılan çalışmalarda Anti-RSV nötralizan poliklonal antikorun 25-30 μg/ml ve üzerindeki serum konsantrasyonunun koruyucu olduğu gösterilmiştir (McIntosh 1993, Johnson ve ark 1997). İnfeksiyon sonrasında kısa süreli koruma amaçlı lokal nazal antikor gelişir. Bu nedenle erişkin bireylerde yaşam boyunca semptomatik RSV üst solunum yolu infeksiyonu görülebilir. Eğer serum antikor konsantrasyonu akciğerlere yeterli düzeyde ulaşır ise koruyucu olur. Transplasental antikorlar çocoğu tam korumaz (kısmen koruyabilir) ama infeksiyon riski ve şiddetini düşürür.

İnfeksiyondan korunma için bir infeksiyon etkenine karşı koruyucu antikor değerinin bilinmesi aşı çalışmalarına ışık tutmaktadır. Antikor düzeylerinin kinetik hesaplamaları koruyucu antikor titresinin ne kadar bir süre devam ettiği konusunda da fikir verebilir. Önceden geçirilen RSV infeksiyonu sonrası antikor yanıtları sonraki RSV infeksiyonlarının daha hafif geçmesini sağlayabilir. Anneden geçen maternal nötralizan anti-RSV antikorları bebeği koruyabilir ve hastalığın daha hafif geçirilmesine sebep olabilir. Doğum sonrası ilk 2 ay içinde anne kaynaklı transplasental geçişli pasif antikorlar yenidoğanı RSV'ye karşı koruyabilir. Anneden

geçen antikorlar ilk 6 ay içinde hızla azalır ve bebekler genellikle 2-4 aylar arasında RSV'ye duyarlı hale gelirler (Glezen ve ark 1981). Bursa'da yapılan bir çalışmada, doğum anında anne kaynaklı %83 anti-RSV IgG pozitifliği, birinci ayda %73 olarak devam etmiş ve doğum anındaki antikor titrelerine kıyasla bir ayda ortalama antikor titrelerinde %45 oranında azalma gösterilmiştir. Üçüncü ayda %6 anti-RSV IgG pozitif saptanmış olup bebeklerde bu aydan itibaren RSV'ye duyarlılığın başladığı da görülmüştür. Aynı çalışmada infeksiyon acısından anti-RSV IgG koruyucu konsantrasyon eşik değeri (cut off değeri) 20 RU/ml olarak belirtilmiştir (Hacimustafaoglu ve ark 2004). Muhtemelen maternal antikorların varlığına bağlı olarak özellikle ilk 3 aydaki primer infeksiyonlarda antikor yanıtının zayıflaması neden olur. İlk 6 aydaki primer infeksiyonlarda antikor yanıtı daha büyük çocuklara göre genellikle daha düşük olup esas olarak serum IgG artışından ziyade sekretuar IgA yanıtı şeklinde olma eğilimindedir (Kaul ve ark 1981, Toms ve ark 2003). Altı aydan sonra primer infeksiyonlarda antikor yanıtı IgM, IgA veya IgG şeklinde olduğundan etki değeri daha fazladır. Bu yanıtlar alt veya üst solunum yolu infeksiyonu olduğuna bakmadan tekrarlayan infeksiyonlarda giderek artma eğilimindedirler (Kaul ve ark 1981). Gönüllülerde yapılan çalışmalarda serum IgG yüksekliğinin sekresyonlarda bulunan IgA'ya göre reinfeksiyonlardan korunmada daha etkili olduğu gösterilmiştir (Hall ve ark 1990).

Hücresel immünitede epitelyal hücreler ve alveolar makrofajlar infeksiyon sonrası sellüler immünitenin uyarılmasında anahtar rol oynamaktadır. Bu hücreler kemokin, proinflamatuvar sitokin ve mediatörler (IL-1, IL-6, IL-8, TNF alfa, makrofaj inflamasyon proteini (MIP)- 1 alfa, RANTES gibi) salarlar (Pickering (ed) 2003). Bu sitokin ve kemokinlerin kısmen de olsa hava yolu inflamasyonu, bronşiyal hiper reaktivite ve solunum yolu semptomlarında rolleri vardır. Bu kimyasalların infeksiyonun klinik bulguları geçtikten sonra bile aylarca salınımı devam edebilir (Openshaw 2002, Welliver 2003). Hücresel immunite RSV infeksiyonuna yanıtta, iyileşmede ve hastalığın çabuk sonlandırılmasında ve wheezing gelişiminde önemlidir. Hücresel immun yetmezlik sendromu olan çocuklarda atipik ama solunum sisteminde bol miktarda virus çoğalması ile karakterize progresif pnömoni görülür, ama beklenenin aksine wheezing gelişmez (Fishaut ve ark 1980).

Maternal antikorlar, küçük bebeklerde RSV hastalığının şiddetini azaltabilir (Shi ve ark 2015, Koutsounaki 2019, Collins ve Graham 2008). RSV'ye özgü antikorların transplasental geçişinin ağırlıklı olarak gebeliğin üçüncü trimesterinde meydana geldiği varsayılmaktadır. Yüksek titreler, doğmuş bebekleri dört aya kadar potansiyel olarak koruyabilir (Scheltema ve ark 2018). Prematüre bebeklerde, pasif bağışıklık tehlike oluşturabilir, faydalı da olabilir (Mammas ve ark 2018). Enfeksiyon bir kez oluştuğunda, doğuştan gelen bağışıklık sistemi, viral yükü azaltmada ve sekonder bağışıklık tepkisi oluşturmada ikili bir rol oynar (Aranda ve Polack 2019). Prematürite ve bağışıklık tepkisini tehlikeye atan diğer durumlar, interferonlar gibi antiviral sitokinlerin düşük seviyede salgılanmasına yol açabilir (Goritzka ve ark 2014). Bebeklerde, düşük interlökin (IL) -12 ve artmış IL-6 ile IL-23 üretimiyle beraber, TLR'ler tarafından azaltılmış sinyal ve değiştirilmiş antijen sunan hücre fonksiyonları, düzenleyici T hücrelerinin azaltılmış aktivasyonu ile birleştiğinde adaptif bir yanıt ortaya çıkabilir (Sun ve López 2017). İnsanlarda patern tanıma reseptörleri (PRR)'inden olan Toll benzeri reseptör (TLR)'lerinden bazıları mutasyona uğradığında hırıltılı solunum ile karekterize bir fenotip oluştuğu öne sürülmüştür (Caballero ve ark 2015). Bireysel genetiğin yanı sıra, term ve prematüre bebeklerde akciğer olgunlaşma aşaması Th1'den Th2'ye geçişi etkiler. Prematüre durumunda, alveolarizasyondan önceki mukozada, bronkopulmoner displazinin daha erken aşamalarında bile Th2 enflamatuar yanıtları görülmektedir (Drysdale ve ark 2014, Restori ve ark 2018). B hücresi belleğinin az olması veya hiç olmamasıyla birleşen bozulmuş Th1 aktivasyonu ve IFN-gama tarafından antikor üretiminin inhibisyonu, düşük titreli, düşük afiniteli antikor oluşumuna neden olur (Varricchi ve ark 2016). Duyarlı bebeklerde bronşiolite yol açan zayıf koruyucu ve düzensiz bir savunma mekanizması ortaya çıkabilir. Daha sonra konakçı immün tepkisi, kalıcı olarak RSV tarafından tetiklenen hırıltılı solunuma neden olur (Blanken ve ark 2013).

Mikro RNA (miRNA)'lar transkripsiyon sonrası gen regülasyonunda yer alıp solunum yolundaki epitel bariyerinin korunmasında da önemli rolleri vardır (Rossi ve ark 2015, Koutsaftiki 2019). MiRNA'lar, sadece immün efektör ve enflamatuar hücreleri değil, aynı zamanda parankimal hücreleri de içeren konjenital ve adaptif immünite tarafından kontrol edilen antiviral savunmanın modülasyonunda da rol

oynar (Rossi ve ark 2015). RSV dahil olmak üzere solunum virüsleri, solunum yolunun epitel hücrelerine primer hedef olarak saldırır ve hava yolu hücrelerinde farklı miRNA'ların değişmiş ekspresyonuna neden olurlar. İnsanın doğuştan gelen bağışıklık tepkisi (interferonların etkisiyle) aşılamadan hemen sonra RSV replikasyonunu inhibe eder (Thornburg ve ark 2012). Oluşan enfeksiyon, hücre tipine özgü bir şekilde birden fazla miRNA'yı indükler. RSV, interferon tepkisi ile ilgili miRNA'ların ekspresyonunun düzenlenmesi yoluyla konakçı hücre gen ekspresyonunu değiştiriyor gibi görünmektedir (Maltby ve ark 2016). RSV ile enfekte bebeklerde miRNA'ların anormal ekspresyonu, hem periferik kan hücrelerinde hem de hava yolu epitel hücrelerinde saptanmıştır (Feng ve ark 2018). MiRNA ekspresyon profillerindeki değişiklikleri anlamak ve RSV'nin patogeneziyle ilişkili miRNA hedef genlerini belirlemek, hem virüs-konak etkileşim mekanizmalarını hem de solunum yolu hiper-reaktivitesine ve kronik solunum yolu hastalıklarına (astım gibi) yol açan immün disfonksiyonu açıklığa kavuşturmaya yardımcı olur (Thornburg ve ark 2012, Rossi ve ark 2015). İn vivo çalışmalarda elde edilen biyoakışkanlarda, tam kan örneklerinde ve doku örneklerinde miRNA ekspresyon profillerinin saptanması ve karakterizasyonu için birkaç yöntem vardır (Anderson ve ark 2016). MiRNA'lar üzerine daha fazla araştırma yapmak, RSV enfeksiyonlarının biyobelirteçlerini ve sekellerini (yani, tekrarlayan hırıltı ve astım) açıklığa kavuşturmada yardımcı olabilir (Mammas ve ark 2020)

Çocukluk çağında sekonder trombositozun en sık görülen nedenleri akut solunum yolu enfeksiyonlarıdır (Schafer 2004, Mammas ve Spandidos 2019). Bugüne kadar birçok yazar diğer akut solunum yolu enfeksiyonları olan hastalara göre RSV'li hastalarda önemli ölçüde daha yüksek trombosit sayısı bildirmişlerdir (Kubota ve ark 2005, Zheng ark 2016). Trombositozun klinik olarak hırıltılı solunum ve dispne belirtileri olan genç hastalarda ortaya çıkması daha da olasıdır. Ayrıca trombositoz, RSV enfeksiyonunun erken bir belirteci olarak da öne sürülmüştür. RSV pozitif bronşiolit vakalarında erken dönemde aşırı trombositoz da bildirilmiştir (Kubota ve ark 2005). Trombositozlu hastaların daha şiddetli bir klinik seyir ve daha uzun hastanede kalış süresine sahip olması, trombosit sayısının artışı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Mammas ve ark 2010). Tersine bazı araştırmacılar da trombosit

sayımlarının hastalık şiddeti ve kliniğiyle ilişkili olmadığını öne sürmüşlerdir (Denton ve Davis 2007).

1.5. Laboratuvar Tanı Yöntemleri

1.5.1. Direkt Tanı Yöntemleri:

Solunum yolu sekresyonlarında etken virusun hücre kültürü ile üretilmesi RSV tanısında altın standart olarak kabul edilmektedir. Kültür yüksek oranda duyarlı ve özgüldür. RSV kültürü diğer solunum yolu viruslarına göre daha zor ürer çünkü virus oldukça labil olduğundan örneklerin soğukta bekletilmesi gerekmekte, dondurulup çözdürülmeye duyarlı olması durumu, hücre kültürü çalışmalarında önemli sorunlara neden olmaktadır. RSV kültürü araştırma laboratuarları dışında rutin tanıda kullanılmamaktadır. Hücre kültüründe RSV'yi üretmek 4 gün-2 hafta kadar bir zaman gerektirmektedir. İlk izolasyon için Hep-2, HeLa ve A549 hücreleri kullanılmaktadır.

Direkt floresan antikor (DFA), enzim immun assay (EIA) ya da geleneksel kültür yöntemleriyle karşılaştırıldığında duyarlılığı %67-92 arasında değişmektedir. Çoğu laboratuvarlarda DFA ve Shell vial kültür (SVC) yöntemleri birlikte kullanılmaktadır. DFA'nın duyarlılığı monoklonak antikor mevcutiyetinde %80 ile %97 kadar artmaktadır. SVC yöntemi tüp kültürüne nazaran daha erken sonuç vermekte ve duyarlılığı daha yüksektir. SVC yöntemi gelişmiş ülkelerde klinik laboratuvarların çoğunda kabul edilmiştir.

1.5.2. İndirekt Tanı Yöntemleri:

Hızlı EIA yöntemleri uzun zamandır RSV tanısında kullanılmaktadır. Bu yöntemler 15-30 dk arasında sonuç vermekte olup duyarlılıkları düşüktür. Birçok hızlı test RSV için onay almıştır ve çoğunun performansları benzerdir. Duyarlılıkları kültüre göre %50-96 (sıklıkla %80-90) arasında değişmekte olup bu yöntemler hızlı tanı testleri olarak kullanılmaktadır. DFA ve PCR yöntemleriyle kıyaslandıklarında ise duyarlılıkları %80-85 civarındadır. Bebeklerde en sık olarak immünofloresan testi

ve EIA yöntemleri kullanılmakta olup duyarlılıklarının %75-94 arasında olduğu bildirilmiştir (Collins ve ark 2002).

Erişkin bireylerde ise nazofaringeal yıkama suyunda viral titre daha az yoğunlukta olduğundan duyarlılık biraz daha düşüktür ve daha çok akut enfeksiyonlarda RSV spesifik IgM yüksekliği ve akut konvelesan dönemde IgG yüksekliği de değerlendirmeye alınabilir. Ancak RSV infeksiyonu özellikle küçük bebeklerde olmak üzere her zaman serokonversiyonla birlikte değildir. RSV infeksiyonlarında IgM antikor sonucları güvenilir değildir ve duyarlılığı farklı calışmalarada değişkenlik göstermektedir. Cranage ve Gardner (Cranage ve Gardner 1980)'in çalışmasında RSV-IgM immünoflöresan yöntemiyle %62, Hornsleth ve ark (Hornsleth ve ark 1984)'nın çalışmasında ise %77 pozitiflik bildirilmiştir. Welliver ve ark.'nın (Welliver ve ark 1980) yaptığı çalışmada ise 1-3 aylık çocuklarda %13, 3-6 aylık cocuklarda %50, 6-12 aylık cocuklarda %71 oranlarında RSV-IgM pozitifliği bildirilmiştir. Branderburg ve ark. (Branderburg ve ark 1997)'nın yaptığı ve RSV infeksiyonu düşünülen 6 aydan küçük 38 bebeğin 32'sinde hücre kültürü ile RSV'nin saptandığı çalışmada, sadece bir bebekte (%3) RSV-IgM pozitifliği saptanmıştır. Bu çalışmalarda yazarların yorumu küçük bebeklerde RSV-IgM antikor oluşumundaki yetersizliği şeklinde olmuştur. Meurman ve ark. (Meurman ve ark 1984)'nın yaptığı çalışmada %73 olguda RSV-IgM antikoru saptanmış olup bu antikorlar hastalığın başlangıcından ortalama 10-20 gün sonra oluşmuştur. Bazı çocuklarda 20. güne kadar antikor oluşumu gözlenmezken, bazılarında da 67-68. günlerde antikor pozitifliğinin devam ettiği görülmüştür (Branderburg ve ark 1997). Bu çalışmalarda bir yaşından küçük çocuklarda RSV-IgM antikor cevabının daha düşük olduğu, ya da büyüdükçe oluşan titrenin artışı görülmüştür (Welliver ve ark 1980, Hornsleth ve ark 1984, Meurman ve ark 1984). Araştırmacıların yorumu küçük çocuklardaki düşük antikor cevabının immun sistemdeki immaturasyona bağlı olabileceği ve bu nedenle yaş arttıkça antikor cevabının daha fazla olabileceği şeklinde olmuştur.

Geleneksel testlerin düşük duyarlılıklarını gidermek için son yıllarda hassas ve özgül nükleik asit amplifikasyon testleri (NAAT) de geliştirilmiştir. NAAT'leri RSV saptanmasında DFA, SVC, tüp kültürü, EIA gibi yöntemlerin tümünden daha duyarlı olduğu bilinmektedir. Gerçek zamanlı PCR (RT-PCR) testlerinin nazofarinks swap

örneklerinde RSV saptama duyarlılıkları %97.5 olduğu bildirilmiştir (Collins ve ark 2002).

1.6. Korunma ve kontrol

Günümüzde geliştirme sürecinde birkaç yeni terapötik ajan bulunmaktadır. Bunlar genel olarak dört farklı gruba ayrılırlar. Bunlar; küçük müdahaleci RNA, immünoglobulinler, füzyon inhibitörleri ve küçük moleküllerdir. Her biri, RSV tarafından üretilen proteinlerin üretimini veya eylemini bozmayı ve böylece patojenitesini sınırlandırmayı hedeflemektedir. Etkililik gösteren ajanlar, viral protein sentezini ve dolayısıyla viral replikasyonu bozmak için antisens mekanizmaları kullanan ALN-RSV01'i içerir. ALN-RSV01, RSV replikasyonunu hedefleyen küçük bir enterferans RNA (RNAi)'dır. RSV ile deneysel olarak aşılanan sağlıklı yetişkinlerde, intranazal ALN-RSV01 kullanımı enfeksiyon oranlarında azalma gösterdiği ayrıca bu bileşiğin RSV enfeksiyonu olan akciğer transplant hastalarında kullanıldığında yeni enfeksiyon oranlarını düşürdüğü görülmüştür (DeVincenzo ve ark 2010, Gottlieb ve ark 2016).

Sağlıklı yetişkin gönüllülerde çift kör, plasebo kontrollü bir viral yükleme çalışmasında klinik hastalığın viral yükünü ve ciddiyetini azaltan füzyon inhibitörü GS-5806 ile de ümit verici sonuçlar bildirilmiştir (DeVincenzo ve ark 2014). Daha yakın zamanlarda, ikinci bir antiviralin (RSV polimeraz L proteinine etki eden ve enfekte olmuş hücrelerde viral replikasyonu inhibe eden ALS-008176) plasebo kontrollü bir denemesinde, viral klirensi artırdı ve hastalık şiddetini azalttığı bildirilmiştir. Bu bileşiğin uygulanmasının, virüs tespitinden 12 saat sonrasına kadar ertelendiğinde bile etkili olduğu görülmüştür (DeVincenzo ve ark 2015).

Hastalığın önemli küresel yükü ve maliyetinin yanı sıra RSV için etkili, hastalığa özgü tedavilerin eksikliği ve aşı keşfine büyük ilgi araştırmaları tetiklemiştir. Bununla birlikte, RSV aşılarının geliştirilmesi bir dizi faktör tarafından engellenmiştir. Bunlardan ilki hem doğuştan hem de uyarlanabilir yenidoğan bağışıklık yanıtlarındaki kusurların çocukluk çağı aşılamasını sorunlu hale getirmesidir. Bir diğeri de maternal antikorların varlığıdır. Maternal antikorlar yeni

doğan çocuğa değerli koruma sağlamasına rağmen, intrinsik antikor yanıtlarının gelişimini baskılayabilmesidir (Jorquera ve ark 2016).

Yeni doğanlarda belirli bağışıklama stratejileri etkili olsa da (örn. Tüberküloz için BCG), birçok aşı tekrarlanan güçlendiriciler gerektirmekte ve/veya çocuğun bağışıklık sistemi olgunlaşana kadar ertelenme gerektirir (Alexander-Miller 2014). Konakçı yanıtının getirdiği zorluklara ek olarak, bir patojen olarak RSV, aşı geliştirmede zorluklar yaratır. Özellikle doğal enfeksiyon, yetişkinlerde bile kalıcı bir bağışıklık sağlamaz ve aynı virüs suşu ile yeniden enfeksiyon olağandır. Bu nedenle başarılı bir aşının, doğal enfeksiyondan daha güçlü bir şekilde bağışık yanıt oluşturması ve aynı zamanda konakçıda aşırı duyarlılık ve patolojik bir reaksiyon oluşturmaması gerektirmektedir (Hall ve ark 1991). Ne yazık ki, bu denge erken aşı girişimleriyle henüz sağlanamamıştır. 1960'larda bebeklerde ve çocuklarda kullanılmak üzere formalinle inaktive edilmiş bir aşı geliştirilmişti. Poliovirüs aşılamasında benzer bir yaklaşım etkili ve güvenli olmasına rağmen, yetersiz bir nötralize edici antikor tepkisi ve sonraki doğal enfeksiyon sırasında gelişmiş hastalık ile sonuçlanmıştı. Bir denemede, aşılanan doğal enfekte çocukların yaklaşık %80'inin hastaneye kaldırılması gerekti ve bunlardan ikisi de öldü. Sonuç olarak, RSV aşılama çalışmalarında ilerleme son derece temkinli ve yavaş olmuştur (Kim ve ark 1969).

Hem RSV doğal enfeksiyonuna hem de çeşitli potansiyel aşılara karşı bağışıklık tepkisinin araştırılmasını mümkün kılan stratejiler, sıklıkla hayvan modellerinin kullanımına dayanmaktadır. Ne yazık ki, insan enfeksiyonundaki durumu kopyalamak için tek bir model yeterli olmamıştır (Guvenel ve ark 2014). İnsan RSV mücadelesinin kullanılması hayvan modellerine göre önemli avantajlara sahiptir, ancak bu da kusurludur. Yetişkinler, infantil bronşioliti önlemek için tasarlanmış RSV aşılarının birincil hedefi değildir. Ancak hamile kadınların, yetişkin bakıcıların ve ciddi RSV hastalığı riski taşıyan yetişkinlerin aşılanmasında bir rol olabilir. Bununla birlikte, meydan okuma çalışmaları şu anda normal sağlıklı yetişkinlerle sınırlıdır ve bebekler, hamile kadınlar, bağışıklığı zayıflamış ve zayıf yetişkinler deneysel enfeksiyona maruz bırakılamaz. Nihayetinde, tüm hedef gruplar için tek bir aşılama stratejisinin tercih edilmesi şu anda olası değildir (Guvenel ve ark 2014).

Bu engellere rağmen, çok sayıda potansiyel aşı geliştirme aşamasındadır. Bir veya daha fazla başarılı aşının önümüzdeki yıllar içinde pazara sunulma olasılığı yüksektir (Guvenel ve ark 2014). Bu aşılar dört geniş kategoriye ayrılmaktadır. Canlı zayıflatılmış, alt birim, vektör tabanlı ve partikül aşılarıdır. Her biri farklı immünolojik mekanizmayı hedefler ve bu nedenle potansiyel olarak risk altındaki farklı birey gruplarına uyarlanacaktır. Aşıların etkisini optimize etmeye yönelik stratejiler, immünoglobulinler aracılığıyla immünitesi zayıf bir bebekte etkili koruma sağlamak için yeterli seviyelerde pasif bağışıklık transferini mümkün kılmak için maternal aşılamanın kullanımını içermektedir. Pasif aşı transferinin optimal olması için ikinci veya üçüncü trimesterde aşının anneye uygulanması gerekecektir. Bu durum, trans-plasental antikor transferinin yetersiz olduğu prematüre bebekler için daha az değerlidir. Sağlık bakım çalışanları, kreş çalışanları veya yaşlı bakım personelleri gibi savunmasız gruplarla temas halinde olan bireylerin aşılanması, sürü bağışıklığı yoluyla virüs bulaşma oranlarını düşürebilir (Jorquera ve ark 2016).

Canlı zayıflatılmış aşılar, güvenli bir şekilde lokal koruyucu bağışıklığı indükleyebildikleri için bebeklerde umut vaat etmektedir. Bununla birlikte, sınırlı immüniteye sahip olabilirler ve saptanamamış immün yetmezlik durumlarında patolojik yanıt olasılığı da dikkate alınmalıdır (Alexander-Miller 2014). Bununla birlikte bazı başarılar da elde edilmiştir ve çeşitli faz 1 ve faz 2 klinik denemeleri günümüzde devam etmektedir. Bu alanın önde gelen yarışmacısı MEDI-559'dur (MedImmune / Ulusal Alerji ve Bulaşıcı Hastalıklar Enstitüsü, Bethesda, MD, ABD). Bu aşı, sağlıklı çocuklar ve bebekler tarafından iyi tolere edilmiştir. Katılımcıların çoğu, PCR ile tespit edildiği üzere, saptanabilir bir serolojik yanıt sergilemekte veya aşı virüsünü saçmaktadır. Diğer canlı zayıflatılmış aşıların denemeleri halen devam etmektedir (kliniktrials.gov tanımlayıcı numaraları: NCT02040831, NCT01893554 ve NCT01852266). Canlı zayıflatılmış aşıların avantajları intranazal yolla verilme, pasif olarak verilen maternal antikor varlığında bile replike olma ve bağışıklık sisteminin birden çok bileşenini uyarma becerilerini içermesidir (Jorquera ve ark 2016). Bu özelliklere rağmen, vahşi tipe geri dönme ve aşılanmış bir çocuktan temaslılara ikincil bulaşma potansiyeli ve yeterli zayıflama üretmedeki zorluk, klinik kullanıma doğru ilerlemeyi yavaşlatmıştır (Guvenel ve ark 2014). Bu sorunlardan bazılarını, aşılarda veya temaslarında bulaşma potansiyeli

olmayan alt birim aşıların kullanılmasıyla önlenebilir. Ne yazık ki, henüz olgunlaşmamış bir bebeğin bağışıklık sisteminde yeterli bir yanıt oluşturması beklenmemektedir. Bunlara uygulanması durumunda sonuç başarısız olabilir. İmmün uyarıcı adjuvanlar ilavesiyle veya eklenmeden saflaştırılmış proteinler içeren alt birim aşıların, yetişkinlerin serumunda nötralize edici antikorları indüklediği gösterilmiştir (Gonzalez ve ark 2000). Bu aşılar yaşlılar ve hamile kadınlar için etkili bir seçenek sunabilir (Mazur ve ark 2015).

Seronegatif bireylerde, aşı ile güçlendirilmiş olası bir hastalık riski vardır. Bu nedenle bu aşıların daha önce maruz kalmamış yenidoğanlarda yararlı olma olasılığı düşüktür. Virüs/bakteri benzeri yapılar kullanılarak düzenlenmiş çok sayıda proteinden oluşan partikül bazlı aşılar, enfektif ajanları taklit ederler ve kalıcı bir bağışıklık oluşturabilirler. Vektör tabanlı aşılar, RSV genetik bileşenlerinin verilmesi için başka virüsler veya bakteriler kullanılarak hazırlanırlar. Viral protein üretimi, vektör zararsız hale getirilirken, antijenlerin de konakçı içinde yapılmasına izin verir (Guvenel ve ark 2014).

Aşı geliştirmedeki son ilerlemelerin çoğu, RSV'nin yapısı ve işlevi, yaptığı immünojenler ve bunların konakçıda ortaya çıkardığı koruyucu ve zararlı bağışıklık tepkileri konusundaki bilgilerimizin gelişmesinden kaynaklanmaktadır. RSV'ye karşı konakçı immün yanıtın (özellikle T ve B hücre reaksiyonlarının) ayrıntılı incelenmesi gelecekteki aşı gelişimi için hayati önem taşımaktadır. RSV'yi önleme stratejilerinin odak noktasında pasif bağışıklama yer almaktadır (Guvenel ve ark 2014).

Yukarıda tartışıldığı gibi, pasif antikor ile RSV'nin önlenmesinin potansiyel faydaları, akut morbidite ve mortalite üzerindeki etkinin ötesine uzanabilir ve tekrarlayan hırıltılı solunum gibi daha uzun vadeli sekellerin oluşumu üzerindeki olası etkileri de aydınlanmış olur (Blanken ve ark 2013). RSV morbiditesi ve mortalitesinin önlenmesi, küresel bir hedef olmaya devam etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre, çocuklarda ve yetişkinlerde RSV enfeksiyonunun önlenmesinde önemli stratejik hedef, immünoglobulinlerin pasif uygulanmasının yanı sıra aktif aşılamanın da yapılmasıdır. Pasif aşılama şu anda 6 aylıktan küçük

bebekler için mevcut tek seçenektir. Pasif bağışıklama bebeğe antikorların uygulanmasıyla veya hamilelik sırasında annenin aktif aşılanmasıyla sağlanabilir. Pasif bağışıklık zamanla kaybolur, bu nedenle aktif aşılama, altı aylıktan büyük bebekler ve yaşlılar dahil olmak üzere daha büyük çocuklar ve yetişkinler için tercih edilen seçenektir. Bugüne kadar, bazı yüksek riskli bebeklerde RSV enfeksiyonundan hastaneye yatışı %80 azaltan monoklonal antikor (mAb) RSV enfeksiyonunun önlenmesinde tek üründür. Bu yöntem pahalı ve geçici etkili olduğundan özellikle yüksek gelirli ülkelerdeki yüksek riskli bebekler için önerilmektedir. Maliyet etkin olan aktif aşılama ise RSV enfeksiyonlarının önlenmesinde ve yüksek riskli bireylere bulaşmayı önlemede en uygun yoldur. Bugüne kadar, birkaç aşı adayı geliştirme aşamasına gelmiştir. Ancak hiçbiri henüz ruhsat almamıştır. RSV aşılarının geliştirilmesinin önündeki ana engellerden biri, bebeklerdeki şiddetli vakaların çoğunun yaşamın ilk üç ayında, yani aktif aşılamanın gerçekten mümkün olmayacağı bir dönemde ortaya çıkmasıdır. Formalin ile etkisizleştirilmiş bir RSV aşısının (FI-RSV) tarihsel başarısızlığı (artmış solunum hastalığı) nedeniyle ek tedbirler alınmasını zorunlu kılmıştır. Elli yıldan fazla bir süredir canlı zayıflatılmış (atenüe) aşı çalışmaları, immünite ve aşı güvenliğini dengelemedeki zorluklar nedeniyle sonuç verememiştir. Son yıllarda RSV füzyon (F) glikoproteininin yapısını ve antijenik içeriğini belirleyen gelişmeler, aşı geliştirme araştırmalarına ilgiyi artırmıştır. Aşı için genel yaklaşımlar, RSV gen fonksiyonu bilgisini kullanan tasarlanmış virüsleri, RSV ile ilişkili virüslerin genleri ile birleştiren doğal olarak zayıflatılmış kimerik virüsü, RSV yüzey antijenlerini kodlayan viral vektörleri ve RSV antijenlerini kodlayan mesajcı RNA (mRNA) kullanan nükleik asit aşılarını içermektedir.

Günümüzde en gelişmiş aday aşı ResVax'dır. Bu aşı adjuvan olarak alüminyum fosfat içermekte olup RSV füzyon proteini ise rekombinant nanopartiküldür. Bu aşıyı geliştirmeye yönelik yeni yaklaşım, değiştirilmiş RSV proteinleri taşıyan küçük parçacıkların mühendisliğine dayanmaktadır. Nanopartiküller, bağışıklık sistemini virüse karşı duyarlı hale getirir, böylece bir kişi onunla temas ettiğinde bağışıklık sistemi güçlü bir yanıt verir. Şu anda ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ve Avrupa ruhsatlandırma kurumları tarafından ruhsatlandırma

için olası bir yol aranmakta ve dünya çapında sayısız küçük bebeğin hayatını kurtarabilecek bir aşı umudu taşımaktadır (Precision vaccinations, 2019).

Ülkemizde çocukluk yaş grubunda rutinde uygulanan aşı takviminde RSV aşısı henüz yer almamaktadır. Bu aşının uygulanması isteğe bağlı olarak gerçekleşmektedir.

Türk Neonatoloji Derneği RSV proflaksisinde Palivizumab uygulanmasını önermiştir. Palivizumab Ekim-Mart ayları arasında kabul edilen RSV sezonu boyunca 1 ay aralarla bir hasta için en fazla 5 doz uygulanmalıdır (Acunaş ve ark. 2018).

RSV aşısı geliştirme çalışmaları öncelik olmaya devam etmektedir. Günümüzde canlı zayıflatılmış RSV aşıları, RSV subunit aşılar, vektör türevli aşılar ve DNA tabanlı aşılar üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. RSV aşısı geliştirme üzerine daha fazla çalışma ve güvenlik testleri gerektirecektir. Doğal enfeksiyonun ardından RSV'ye karşı bağışıklık tepkisi eksik olduğundan, biri pediatrik, RSV-naif denekler için ve diğeri RSV ile enfekte yaşlı yetişkinler için olmak üzere iki aşının geliştirilmesi mümkündür (Yoshihiko Murata 2009).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Araştırmada Kullanılan Hastalar

Çalışmaya 24.05.2018 – 24.05.2021 tarihleri arasında çocuk sağlığı ve hastalıkları kliniğine başvuran alt solunum yolu enfeksiyonu bulguları (ateş, öksürük, hırıltılı solunum, ekspiryumda uzama, inleme, solunum seslerinde kabalaşma, interkostal çekilme, burun akıntısı, kusma, apne, akciğer grafisinde infiltrasyon gibi) saptanarak alt solunum yolu enfeksiyonu ön tanısı konularak hastaneye yatırılmış 0-2 yaş grubunda 100 çocuk alınmıştır. Bu yaş grubunda RSV ağır seyirli viral solunum yolu enfeksiyonlarına neden olduğu için çalışma kapsamına alınmıştır. Çalışmada alt solunum yolu enfeksiyonu ön tanısı alan hastalardan alınan nazofaringeal sürüntü örneklerinde RSV araştırılmıştır. Çalışmaya alınan çocukların ebeveynlerinden yazılı bilgilendirilmiş onamlar alınmıştır.

Respiratory Syncytial Virus tanısında kullanılmakta olan hızlı antijen testi ve Real Time-Quantitative PCR (RT-qPCR) yöntemlerinin performanslarının karşılaştırılması amaçlanmıştır. Hızlı antijen testinin duyarlılık, özgüllüklerini saptamak ve maliyeti düşük olan hızlı antijen testi ile maliyeti yüksek olan Real Time PCR yöntemleri karşılaştırılıp çok ciddi bir fark olmaması durumunda ucuz yöntemlerin tanıda daha sık kullanılması amaçlanmıştır.

Hem hızlı antijen testi hem de RT-qPCR yöntemiyle pozitif olarak saptanan pozitiflikler gerçek pozitif olarak kabul edilmiştir. Her iki yöntemle de negatif olanlar gerçek negatif olarak kabul edilmiştir.

2.2. Örneklerin Alınması, Hazırlanması ve Saklanması

Araştırma kapsamındaki hastalardan alınan nazal swab (cultiplast tampone swab, LP Italiana SPA, Italya) örnekleri nazofaringeal bölgeden alınmıştır. Alınan örnek viral transport besiyeri (Bio-Speedy NAT^{TM} Transfer medium, Bioeksen, Türkiye) içinde en kısa zamanda laboratuvara ulaştırılması sağlanmıştır. Laboratuvara ulaştırılan örnekler kayıt altına alınarak çalışılmaya başlanmıştır. Hemen çalışılamayan örnekler ise en fazla 8 saat kadar buzdolabında (2-4 °C) muhafaza edildikten sonra çalışılmıştır. Test kasetleri, swablar ve kontroller

çalışılmadan önce oda sıcaklığına (15-30°C) getirildi. Testin uygulanacağı zamana kadar da ambalajları açılmadı. Alınan örneklerden öncelikle hızlı antijen testi çalışılmış olup sonuçlar kaydedilmiştir.

Çalışılan örnek daha sonra -80 ^{o}C'de saklanarak biriktirilmiştir. Haftalık olarak biriktirilen örnekler -80 ^{o}C'den çıkartılıp RT-qPCR testine (Bio-Speedy Multiplex qPCR kiti, Bioeksen, Türkiye) tabi tutulmuşlardır. Alt solunum yolu ön tanısı almış olan 0-24 aylık 100 çocuk hasta çalışma grubunu oluşturmuştur. Hızlı antijen testi ve RT-qPCR testi üretici firmanın kit kullanma klavuzunda belirtmiş oldukları prosedüre göre çalışılmıştır.

2.3. Hızlı Antijen Testi

Hızlı antijen saptama yöntemleri uzun zamandır RSV tanısında kullanılmaktadır. Bu yöntemler 15-30 dk arasında sonuç vermekte olup duyarlılıkları düşüktür. Birçok hızlı test RSV için onay almıştır ve çoğunun performansları benzerdir. Duyarlılıkları kültüre göre %50-96 (sıklıkla %80-90) arasında değişmekte olup bu yöntemler hızlı tanı testleri olarak kullanılmaktadır.

Çalışmada kullandığımız hızlı antijen testi (CerTest RSV-Adeno Resp Card Test, Biotec, Spain) nazal swab, nazal akıntı ve nazal aspirate örneklerden RSV ve Adenovirus tespiti için tek kullanımlık kalitatif bir test olup renklendirilmiş immunokromatografik assay'dir. Test paketleri; test kasetleri, A Reaktifi (tuzlu su solüsyonu), B Reaktifi (örnek diluenti), test tüpleri, steril swablar, tek kullanımlık pipetler ve kullanım klavuzu içermekteydi. Bu testte araştırma konumuz olan RSV sonuçları ele alınmıştır. Bu testler kullanım süresince 2-30°C' de ağızları kapalı paketlenmiş halde muhafaza edildi. Her kullanımdan önce test üzerinde yazılan son kullanma tarihleri kontrol edildi. Kullanma tarihleri geçmeyen testler ile çalışıldı. Çalışılan bütün numuneler potansiyel tehlike oluşturma ihtimali göz önünde bulundurularak kullanımdan sonra tıbbi atık kurallarına uygun şekilde imha edildi.

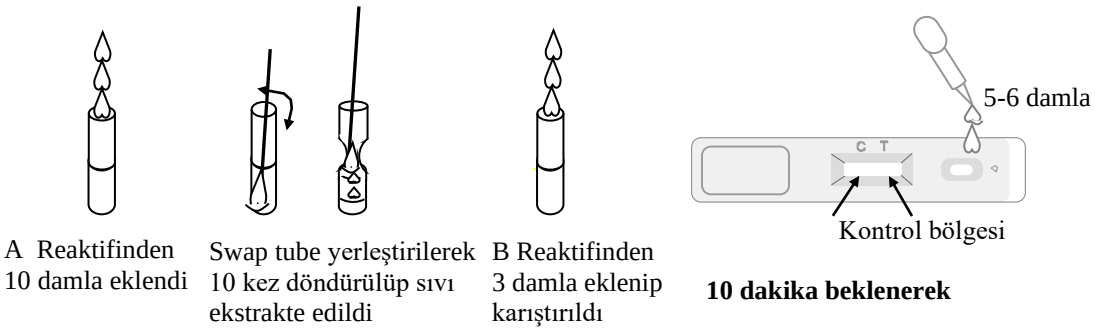
Test bandı bölgesindeki membran, viral antijenlere karşı ilk olarak fare monoklonal antikorlarla kaplanmıştır. Test işlemi sırasında, test stribi üzerinde önceden kurutulmuş olan renklendirilmiş konjugat ile numunenin tepkimeye girmesi

sağlanmıştır. Anti-RSV fare monoklonal antikorları kırmızı mikro kürecikler ile anti-adenovirüs fare monoklonal antikorları ise mavi mikro kürecikler ile kombine edilmiştir. Karışım daha sonra kapiller hareket ile membran üzerinde ileriye doğru hareket eder. Alınan örnek, test membranı üzerinde hareket ettikçe renkli partiküller de yer değişikliğine uğrarlar. Antijenin pozitif olması durumunda membran üzerinde bulunan spesifik antikorlar renklendirilmiş konjugatları yakalayarak belirirler. Böylece örnekteki antijene göre farklı renkte çizgiler oluşur.

Sonuç, oluşan bu çizgilere göre yorumlanır. Karışım, kontrol bandı boyunca yerleştirilmiş hareketsiz antikora doğru membran üzerinde ilerleyerek YEŞİL renkte bir bant oluşturur. Oluşan YEŞİL bant şu anlamlara gelir: 1. Yeterli miktarda örneğin eklendiğini, 2. Uygun akışın elde edildiğini ve 3. Dahili kontrol olarak reaktiflerin çalıştığını gösterir.

Nazal swab örnekleri şu şekilde çalışıldı: Boş tüpe A reaktifinden 10 damla eklendi, örneğin alındığı nazofaringeal swab hemen tüpe yerleştirildi. Swap tüpün kenarlarına bastırılarak yaklaşık 10 defa döndürülerek solüsyon karıştırıldı. Swabın ucunu tübün iki yanından sıkarak tüm sıvının boşalması sağlandı ve swap çıkarılarak tıbbi atık kutusuna atıldı. Daha sonra bu karışıma 3 damla B reaktifi ilave edildi. Bu solüsyon da steril pipetle en az 10 defa karıştırıldı.

CerTest RSV-Adeno Resp Card ambalajı açılarak içindeki test kaseti çıkarıldı. Test düz bir zemine yerleştirildi. Her örnek veya kontrol için ayrı bir pipet ve test kullanımına dikkat edildi. Solüsyon tüpünden tam olarak 5-6 damla ya da 200µL oklarla belirtilmiş dairesel pencerenin içine damlatıldı. Sonuçlar 10 dakika sonra değerlendirildi.



Şekil 2.3.1. CerTest RSV-Adeno Resp Card çalışma aşamaları (Cer Test 2007).

2.3.1. Sonuçların değerlendirilmesi



Şekil 2.3.1.1 CerTest RSV-Adeno Resp Card testinin değerlendirilmesi (Cer Test 2007).

NEGATİF: Pencerenin merkezinde "**C**" harfi (Kontrol Çizgisi) ile belirtilmiş alanda sadece YEŞİL bandın belirmesi.

RSV POZİTİF: YEŞİL kontrol bandına ek olarak "**T**" harfi ile gösterilmiş alanda ayrıca KIRMIZI bant (RSV Test Çizgisi) belirmesi.

GEÇERSİZ: Sonuç çizgisinin (KIRMIZI) belirmesine bakılmaksızın renklendirilmiş kontrol bandının (YEŞİL) oluşmaması. Yetersiz numune miktarı, uygun olmayan prosedürel teknikler veya reaktiflerin bozulması kontrol çizgisinin belirmemesinde en etkili nedenler olduğundan prosedürün tekrar edilmesi ve testin yeni bir test kasetiyle tekrarlanması sağlandı. Sonuç çizgisi bölümündeki kırmız rengin banttaki yoğunluğu, numunede bulunan antijenlerin konsantrasyonuna göre değişiklik gösterir.

Kontrol bölgesinde beliren yeşil çizgi dahili prosedürel kontroldür. Bu çizgi, numunenin yeterli miktarda olduğunu ve doğru prosedürel tekniklerin kullanıldığını teyit etmektedir.

Testin kullanım klavuzunda fare monoklonal antikorlarının kullanıldığı, nazofaringeal swap örneklerinde RSV saptama duyarlılığının %95, özgüllüğünün ise daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

2.4. RT-qPCR

Çalışmada kullandığımız Bio-Speedy Multiplex qPCR testi, nazofaringeal sürüntü örneğinde RSV'nin Real Time-Quantitative PCR (RT-qPCR) yöntemi ile saptanması esasına dayalı bir testtir. RSV'nin ilgili gen bölgesine göre tasarlanmış işaretli oligonükleotidler yardımıyla tanı konulmaktadır. lNFAB-H1- Oligo Mix' in içeriğinde bulunan, insan RnaseP geni hedefli oligolar intern al (iç) kontrol amacıyla kulla nılmaktadır. Uygulanan internal kontrol reaksiyonuyla nükleik asit ekstraksiyon kontrolü numune kaynaklı inhibisyon kontrolü, numunenin doğru alınıp alınmadığı ve kit reaktif kontrolü gerçekleştirildi. Çalışmada kullandığımız bu kit; RINA^{TM} M14 viral NA izolasyon kiti, Robotik Nükleik Asit izolasyon sistemi, RINA™M14 Robotik Nükleik asit izolasyon sistemi, RINA^{TM} N14 viral NA izolasyon Kiti, Bio - Speedy vNAT Viral Nükleik Asit Tamponu (BS-BA-510) ve Roche light Cycler 96, Cobas Z 480, ABI 7500 / 7.500 Fast (Thermo), Bio-Rad CFX96 Touch^{TM}, Qiagen Rotor-Gene 5 Plex Real Time PCR Sistemi ile valide edilmiş ve tam uyumlu bir kittir.

Bu test ile hedef etkene ait gen bölgesini multipleks tek basamaklı ters transkripsiyon qPCR ile çoğaltmış, gerçek zamanlı olarak tespit edilmiş ve maksimum 90 dakikada sonuç verilmiştir. Testin kullanım klavuzunda testin analitik duyarlılığı (%97,3) ve özgüllüğü (%96,3) bildirilmiştir.

Respiratory Syncytial Virus'un RT-qPCR çalışması esnasında aşağıdaki hususlara azami dikkat edilmiştir:

1. Ana stok reaktifler PCR kurulumu sırasında, soğuk blok üzerinde bekletilmiş, PCR kurulumu soğuk blok üzerinde gerçekleştirilmiştir.
2. Kit bileşenleri kullanım öncesinde hafifçe karışmış, nükleik asit izolasyonu

ile PCR kurulumu aşamaları farklı ortamlarda gerçekleştirilmiştir.

3. QPCR mikslerinin tüplere dağıtılması ile kalıp nükleik asitlerin tüplere eklenmesi farklı alanlarda gerçekleştirilmiştir.

4. QPCR miksleri ve kalıp nükleik asitlerin pipetleme işleminde farklı mikropipetler kullanılmıştır.

5. Kalıp nükleik asit ve pozitif kontrol tüpleri, sıvı transferleri dışında sürekli kapalı tutulmuştur.

6. PCR Kurulum UV Kabini her çalışma günü başlangıcında ve sonunda en az 15 dakika boyunca UV'ye maruz bırakılmıştır.

7. Analizin gerçekleştirildiği odalar, tezgahlar ve cihazların silinebilir tüm yüzeyleri düzenli olarak %10'1uk NaClO ile temizlenip ardından da distile su ile silinmiştir.

8. Çalışma esnasında tek kullanımlık temiz ve yeni eldivenler kullanılmıştır.

9. QPCR'ı tamamlanmış reaksiyon tüpleri laboratuvarda açılmadan bertaraf edilmiştir.

Reaksiyon kurulumu ve qPCR programı detayları Tablo 2.1'e göre yapıldı.

Tablo 2.1. Reaksiyon kurulumu ve qPCR programı detayları.

<table>
<tr><th colspan="3">Reaksiyon kurulumu</th><th colspan="3">qPCR programı
Reaksiyon hacmi 20 µL'ye ayarlandı</th></tr>
<tr><th>Bileşen</th><th>Ekleme sırası</th><th>Miktar/Reaksiyon</th><th>Döngü Sayısı</th><th>Sıcaklık</th><th>Süre</th></tr>
<tr><td>2X prime Scrip Mix</td><td>1</td><td>-</td><td>1</td><td>45 ºC</td><td>15 dk</td></tr>
<tr><td>Hedef Oligo Mix</td><td rowspan="2">3</td><td rowspan="2">-</td><td>1</td><td>95 ºC</td><td>3 dk</td></tr>
<tr><td rowspan="3"></td><td>95 ºC</td><td></td></tr>
<tr><td>Kalıp Nükleik Asit</td><td>4</td><td>5 µL</td><td>55 ºC</td><td></td></tr>
<tr><td colspan="2">TOPLAM REAKSİYON HACMİ</td><td>10 µL</td><td colspan="2">RSV strip okuma</td></tr>
<tr><td colspan="6">PC-SY tüpü içerisinde 2X prime Scrip ve oligo mix ve hedef hazır bulundu. PCR kuyucuğuna doğrudan 20 µL pipetlenerek kullanıldı.
*PC-SY: Strip pozisyonu olup ilgili oligo tarafından hedeflenen gen gölgesini içeren plazmid, 2X Prime Scrip Mix ve Oligo karışımı içerir.</td></tr>
</table>

Test çalışıldığında oluşan reaksiyon eğrisi sigmoidal ise pozitif, sigmoidal değil ise negatif olarak değerlendirildi. Cq (eşik döngü sayısı)<40 olduğunda eğri

sigmoidal olarak görüldü ve sonuç pozitif olarak kaydedildi.

Reaksiyon sonuçların yorumlanması ve sonuç değerlendirme:

1. Çoğalma eğrilerinin şekli incelendi Sigmoidal olmayan eğriler Negatif olarak değerlendirildi. 2. Eşik döngü sayısı değerleri kit kullanım klavuzuna göre hesaplandı.

3. Pozitif sonuç : NC qPCR 45≤ Cq ve Hedef qPCR Cq; 0-40 arası (ilgili kanalda sigmoidal egri var) ise hedef Pozitiftir olarak değerlendirildi.

4. Kontaminasyon problem: Hedef qPCR ve PC qPCR dan bagımsız; NC qPCR Cq: 0-45 arası sigmoidal bir eğriye sahip ise kontaminasyon olarak değerlendirildi.

5. Reaktif problem: PC-SY qPCR, 40≤Cq ise reakti f sorunlu olarak değerlendirildi.

6. İnternal control: İnsan RNaseP geni hedefli Internal Kontrol kullanıldığından Negatif control reaksiyonlarında, Cq<35 amplifikasyon egrisi gözlenmesi normal bir durum olarak görüldü ve kontaminasyon olarak değerlendirilmedi.

7. Örneklem/ Ekstraksiyon/ İnhibisyon problemi: İnternal Kontrol (RNaseP) qPCR, 40≤Cq olduğunda nükleik asit izolatı 1/10 oranında moleküler ölçekli su ile seyreltildi ve deney tekrarlandı. Benzer sonuç elde edildiği takdirde ekstraksiyon işlemi tekrarlandı ve yeni izolat ile PCR kuruldu. Yeni izolat ile yapılan deneyde de İnternal Control (RNaseP) qPCR, 40≤Cq olması durumunda ise hastalardan yeni örnek talep edildi.

2.5. İstatistik Yöntem ve Analiz

Değişkenler kategorik değişkenler olduğundan iki yönlü tablolar oluşturuldu. İki yönlü tablolarda sınıflarda bağımlılık olup olmadığı Ki kare testi ile değerlendirildi. Bir serbestlik dereceli Ki kare testlerinde Yates düzeltmesi yapıldı. Ayrıca bir serbestlik Ki kare testlerinde Fisher exact testi de uygulanmıştır.

Hızlı antijen testinin duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negative prediktif değerleri aşağıdaki formüller ile hesaplanmıştır.

Duyarlılık = (Gerçek Pozitif / (Gerçek P + Yalancı Negatif)) X 100 = %

Özgüllük = (Gerçek Negatif / (Yalancı Pozitif + Gerçek Negatif)) X100 = %

Pozitif Prediktif Değer = (Gerçek Pozitif / (Gerçek Pozitif + Yalancı Pozitif)) X 100 = %.

Negatif Prediktif Değer = (Gerçek Negatif / (Gerçek Negatif + Yalancı Negatif)) X 100 = % (David ve ark 2009)

3. BULGULAR

3.1. Çalışılan tüm örneklerin genel değerlendirilmesi

Çalışmamızda yaş grupları 2 grupta değerlendirilmiştir. Yaş gruplarından 1. Grup 0-12 aylık çocukları, 2. Grup ise 13-24 aylık çocukları içermektedir.

Çalışmaya alınan hastalardan alınan tüm örneklerin test sonuçları, cinsiyet ve mevsimsel dağılımı tablo 3.1.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1.1. Test sonuçlarının cinsiyet, yaş ve mevsimsel dağılımları.

SIRA NO	RSV RT-qPCR	RSV-AG	E/K	YAŞ (AY)	MEVSİM
1	NEGATİF	POZİTİF	E	0,5	SONBAHAR
2	NEGATİF	NEGATİF	K	0,5	SONBAHAR
3	NEGATİF	NEGATİF	E	0,5	YAZ
4	NEGATİF	NEGATİF	E	0,5	YAZ
5	NEGATİF	NEGATİF	E	1	SONBAHAR
6	POZİTİF	POZİTİF	K	1	SONBAHAR
7	POZİTİF	NEGATİF	E	1,5	İLKBAHAR
8	NEGATİF	NEGATİF	E	1,5	KIŞ
9	NEGATİF	NEGATİF	K	1,5	YAZ
10	NEGATİF	NEGATİF	E	1,5	KIŞ
11	POZİTİF	NEGATİF	E	1,5	KIŞ
12	POZİTİF	NEGATİF	E	1,5	KIŞ
13	POZİTİF	POZİTİF	K	1,5	KIŞ
14	POZİTİF	POZİTİF	K	1,5	KIŞ
15	POZİTİF	NEGATİF	E	2	KIŞ
16	NEGATİF	NEGATİF	K	2	İLKBAHAR
17	NEGATİF	NEGATİF	K	2	İLKBAHAR
18	POZİTİF	POZİTİF	E	2	SONBAHAR
19	NEGATİF	NEGATİF	E	2	SONBAHAR

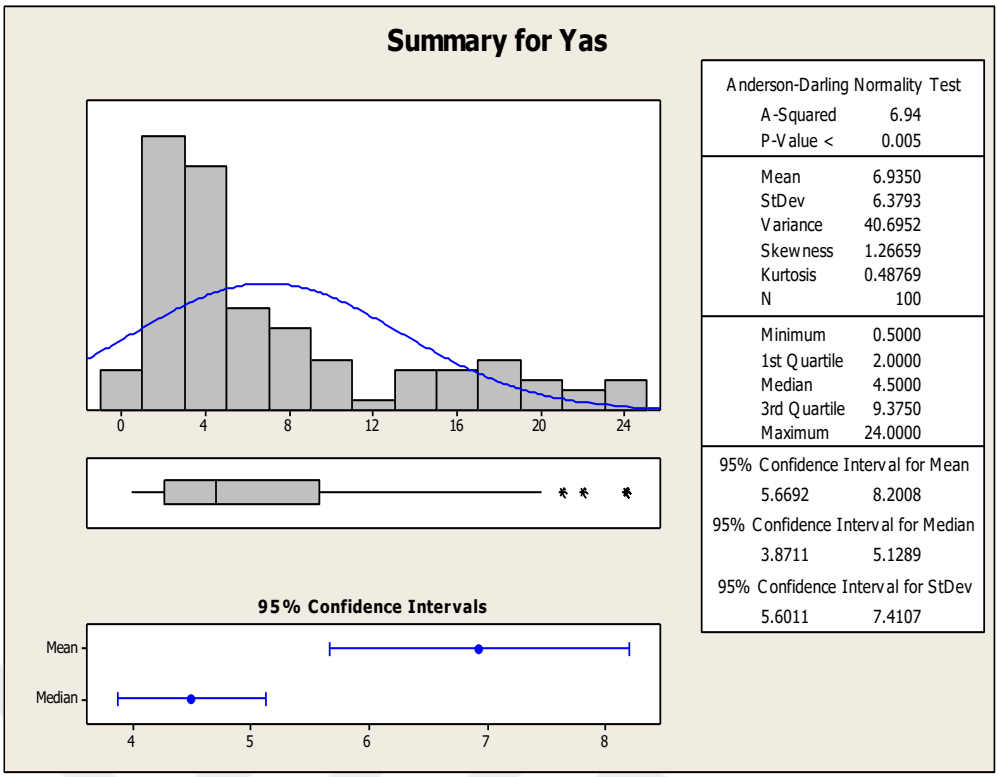
20	POZİTİF	NEGATİF	K	2	KIŞ
21	POZİTİF	POZİTİF	E	2	KIŞ
22	POZİTİF	NEGATİF	K	2	KIŞ
23	POZİTİF	POZİTİF	K	2	KIŞ
24	POZİTİF	POZİTİF	E	2	İLKBAHAR
25	POZİTİF	POZİTİF	E	2	SONBAHAR
26	POZİTİF	POZİTİF	E	2	KIŞ
27	POZİTİF	POZİTİF	E	2	İLKBAHAR
28	NEGATİF	NEGATİF	E	2	YAZ
29	NEGATİF	NEGATİF	E	2,5	KIŞ
30	POZİTİF	NEGATİF	K	2,5	KIŞ
31	POZİTİF	POZİTİF	K	2,5	SONBAHAR
32	NEGATİF	NEGATİF	E	3	İLKBAHAR
33	POZİTİF	POZİTİF	E	3	İLKBAHAR
34	POZİTİF	NEGATİF	K	3	SONBAHAR
35	NEGATİF	NEGATİF	K	3	SONBAHAR
36	POZİTİF	POZİTİF	E	3	SONBAHAR
37	NEGATİF	NEGATİF	K	3	İLKBAHAR
38	NEGATİF	NEGATİF	E	3	SONBAHAR
39	NEGATİF	NEGATİF	K	3	İLKBAHAR
40	NEGATİF	NEGATİF	K	3,5	KIŞ
41	POZİTİF	POZİTİF	K	4	KIŞ
42	NEGATİF	NEGATİF	K	4	İLKBAHAR
43	POZİTİF	POZİTİF	K	4	SONBAHAR
44	NEGATİF	NEGATİF	K	4	SONBAHAR
45	NEGATİF	NEGATİF	E	4	SONBAHAR
46	POZİTİF	POZİTİF	K	4	İLKBAHAR
47	POZİTİF	POZİTİF	K	4	İLKBAHAR
48	NEGATİF	NEGATİF	K	4	YAZ
49	POZİTİF	POZİTİF	K	4,5	KIŞ
50	POZİTİF	POZİTİF	K	4,5	KIŞ
51	NEGATİF	NEGATİF	K	4,5	KIŞ
52	POZİTİF	NEGATİF	K	4,5	SONBAHAR

53	POZİTİF	NEGATİF	K	4,5	KIŞ
54	NEGATİF	NEGATİF	E	4,5	İLKBAHAR
55	NEGATİF	NEGATİF	E	4,5	İLKBAHAR
56	NEGATİF	NEGATİF	E	5	SONBAHAR
57	NEGATİF	NEGATİF	K	5	KIŞ
58	POZİTİF	POZİTİF	E	5	KIŞ
59	POZİTİF	POZİTİF	K	5	KIŞ
60	POZİTİF	POZİTİF	E	5	İLKBAHAR
61	NEGATİF	NEGATİF	E	5,5	SONBAHAR
62	NEGATİF	NEGATİF	E	5,5	İLKBAHAR
63	NEGATİF	NEGATİF	E	6	İLKBAHAR
64	POZİTİF	NEGATİF	K	6	İLKBAHAR
65	POZİTİF	POZİTİF	E	6,5	SONBAHAR
66	NEGATİF	NEGATİF	K	7	KIŞ
67	POZİTİF	POZİTİF	K	7	SONBAHAR
68	NEGATİF	NEGATİF	K	7	SONBAHAR
69	POZİTİF	POZİTİF	K	7,5	SONBAHAR
70	NEGATİF	NEGATİF	K	7,5	KIŞ
71	POZİTİF	POZİTİF	E	8	SONBAHAR
72	POZİTİF	POZİTİF	E	8	KIŞ
73	POZİTİF	POZİTİF	K	8	SONBAHAR
74	NEGATİF	NEGATİF	K	9	İLKBAHAR
75	NEGATİF	NEGATİF	K	9	KIŞ
76	POZİTİF	POZİTİF	E	9,5	KIŞ
77	NEGATİF	NEGATİF	K	10	KIŞ
78	NEGATİF	NEGATİF	K	10	KIŞ
79	POZİTİF	POZİTİF	K	11	KIŞ
80	NEGATİF	POZİTİF	K	13	SONBAHAR
81	NEGATİF	NEGATİF	E	13	SONBAHAR
82	NEGATİF	NEGATİF	E	13	KIŞ
83	POZİTİF	POZİTİF	E	14	KIŞ
84	NEGATİF	NEGATİF	E	15	İLKBAHAR
85	NEGATİF	NEGATİF	E	15	KIŞ

86	POZİTİF	NEGATİF	K	16	İLKBAHAR
87	POZİTİF	NEGATİF	K	16	İLKBAHAR
88	NEGATİF	NEGATİF	K	17	SONBAHAR
89	NEGATİF	NEGATİF	K	18	KIŞ
90	NEGATİF	NEGATİF	K	18	KIŞ
91	NEGATİF	NEGATİF	K	18	SONBAHAR
92	NEGATİF	NEGATİF	E	18	SONBAHAR
93	POZİTİF	POZİTİF	E	19	KIŞ
94	POZİTİF	NEGATİF	K	20	KIŞ
95	POZİTİF	POZİTİF	E	20	KIŞ
96	NEGATİF	NEGATİF	K	21	KIŞ
97	NEGATİF	NEGATİF	K	22	İLKBAHAR
98	POZİTİF	POZİTİF	E	24	KIŞ
99	POZİTİF	POZİTİF	K	24	KIŞ
100	NEGATİF	NEGATİF	E	24	KIŞ

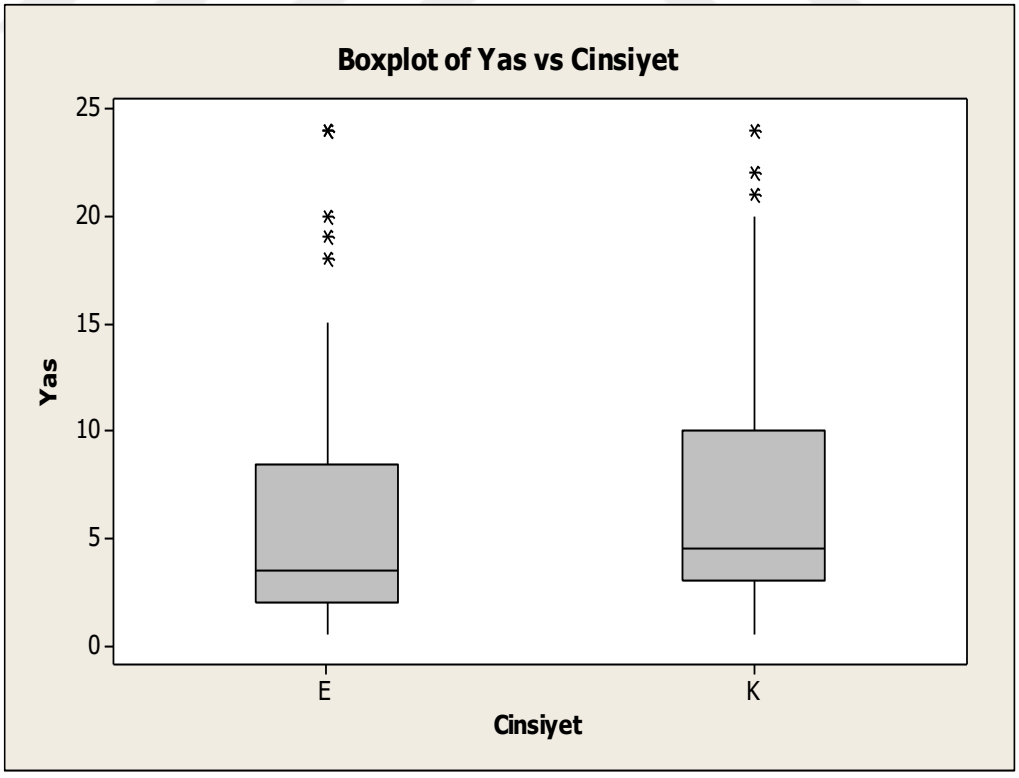
Çalışmada saptanan gerçek pozitif 35 örneğin 18 (%51,4)'inin kış mevsiminde, 11 (%31,4)'inin sonbahar mevsiminde ve 6 (%17,2)'sının da ilkbahar mevsiminde görüldüğü gözlemlenmiştir. Gerçek pozitif örneklerin çoğunluğunun kış mevsiminde saptandığı görülmüştür. Çalışılan hasta grupları çoğunlukla sonbahar, kış ve ilkbahar mevsiminde olduğu görülmüştür.

Tüm hastalar değerlendirildiğinde (n=100) ortalama yaş değeri median olarak 4,5, minimum 0,5, maximum 24 ay olarak bulunmuştur. Hastalara ait yaş değişkeni normal dağılım göstermemiştir. Erkeklerde (n=46) median 3,5, minimum 0,5, maximum 24 ay kızlarda ise (n=54) midian 4,5, minimum 0,5, maximum 24 ay olarak bulunmuştur. Hastalara ait yaş değişkeni cinsiyetlere göre de normal dağılım göstermemiştir (Histogram 3.1.1).



Histogram 3.1.1. Histogram olarak yaş dağılımı ve tanıtıcı istatistikler.

Cinsiyete göre yaş dağılımını gösteren boxplot grafiği grafik 3.1'de verilmiştir.



Grafik.3.1.1. Cinsiyete göre yaş dağılım grafiği.

3.2. RSV Hızlı Antijen (RSV AG) Sonuçları

Tüm hastalar arasında RSV AG pozitiflik oranı %37 olarak saptanmıştır. Bunların %19'u Erkek, %18'i ise Kız olduğu saptanmıştır.

Tablo 3.2.1. RSV AG sonuçlarının cinsiyet dağılımı.

	RSV AG		
	E	K	**TOPLAM**
POZİTİF	19	18	**37**
NEGATİF	27	36	**63**

Yaşlar iki grupta değerlendirildi. Birinci grup 0-12 ay arasındaki çocukları, ikinci grup ise 13-24 aylık çocukları içermektedir. Birinci grupta pozitiflik oranı %31 iken ikinci grupta ise pozitiflik oranı %6 olduğu saptanmıştır.

RSV AG negative (n=63) yaş ortalaması median olarak 4,5, minimum 0,5, maximum 24 ay olarak bulunmuştur. Pozitiflerin (n=37) ise yaş ortalamaları median olarak 4,5, minimum 0,5, maximum 24 olarak bulunmuştur.

3.3. RT-qPCR sonuçları

Tüm hastalar arasında RT-qPCR pozitiflik oranı %49 olarak saptanmıştır. Bunların %22'u Erkek, %27'i ise Kız olduğu saptanmıştır.

Tablo 3.3.1. RSV AG sonuçlarının cinsiyet dağılımı.

	RSV RT-qPCR		
	E	K	**TOPLAM**
POZİTİF	22	27	**49**
NEGATİF	24	27	**51**

Yaşlar iki grupta değerlendirildi. Birinci grup 0-12 ay arasındaki çocukları, ikinci grup ise 13-24 aylık çocukları içermektedir. Birinci grupta pozitiflik oranı %41 iken ikinci grupta ise pozitiflik oranı %8 olduğu görülmüştür.

RSV RT-qPCR negative (n=51) yaş ortalaması median olarak 4,5, minimum 0,5, maximum 24 ay olarak bulunmuştur. Pozitiflerin (n=49) ise yaş ortalamaları median olarak 4,0, minimum 1, maximum 24 olarak bulunmuştur.

Hızlı Antijen testi ile Gold Standart olarak Kabul ettiğimiz RT-qPCR testinin karşılaştırılması tablo 3.2.2 de karşılaştırılmıştır.

Tablo 3.3.2. RSV AG testi ile Gold Standart olarak Kabul ettiğimiz RT-qPCR testinin karşılaştırılması.

RSV AG	RT-qPCR	
	POZİTİF	NEGATİF
POZİTİF	35	14
NEGATİF	2	49

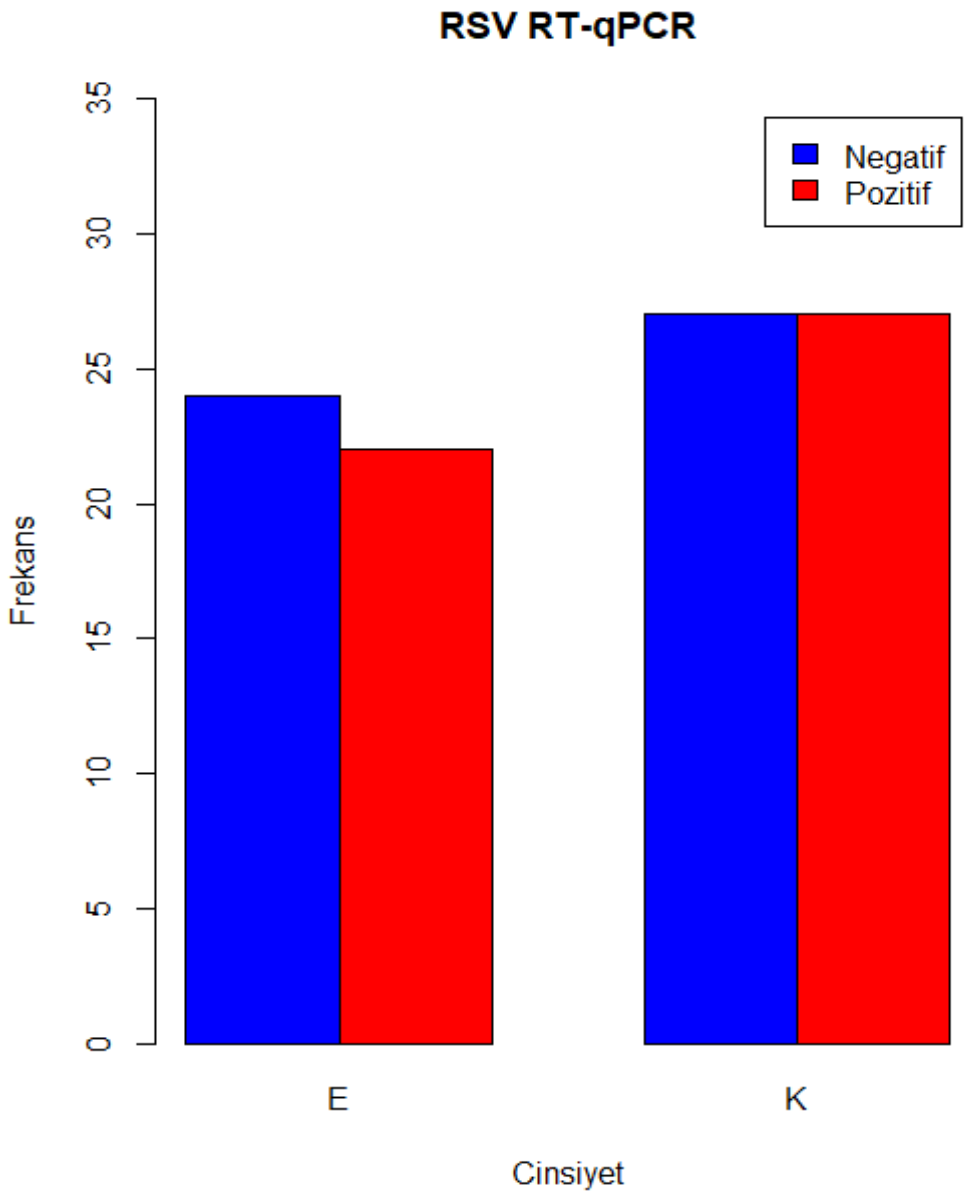
3.4. RT-qPCR ile Hızlı Antijen (RSV AG) Yöntemlerinin İstatistiksel Karşılaştırılması

Alt solunum yolu tanısı almış 0-2 yaş arası çocukların yaş ortalaması 0.5 yaş olup %43'ü erkek (E), %57'si ise kız (K) idi. Tüm örnekler arasında hızlı antijen ve RT-qPCRT testinde pozitiflik oranları sırasıyla %37 ve %49 olarak saptanmıştır.

Sonuçlar iki yönlü tablolar ve grafikler olarak ifade edildi. RSV RT-qPCR ile RSV AG sonuçlarının cinsiyet dağılımı tablo ve grafikleri aşağıda verilmiştir.

Tablo 3.4.1. RSV RT-qPCR ile RSV AG çalışma yöntemlerinin cinsiyet dağılımı.

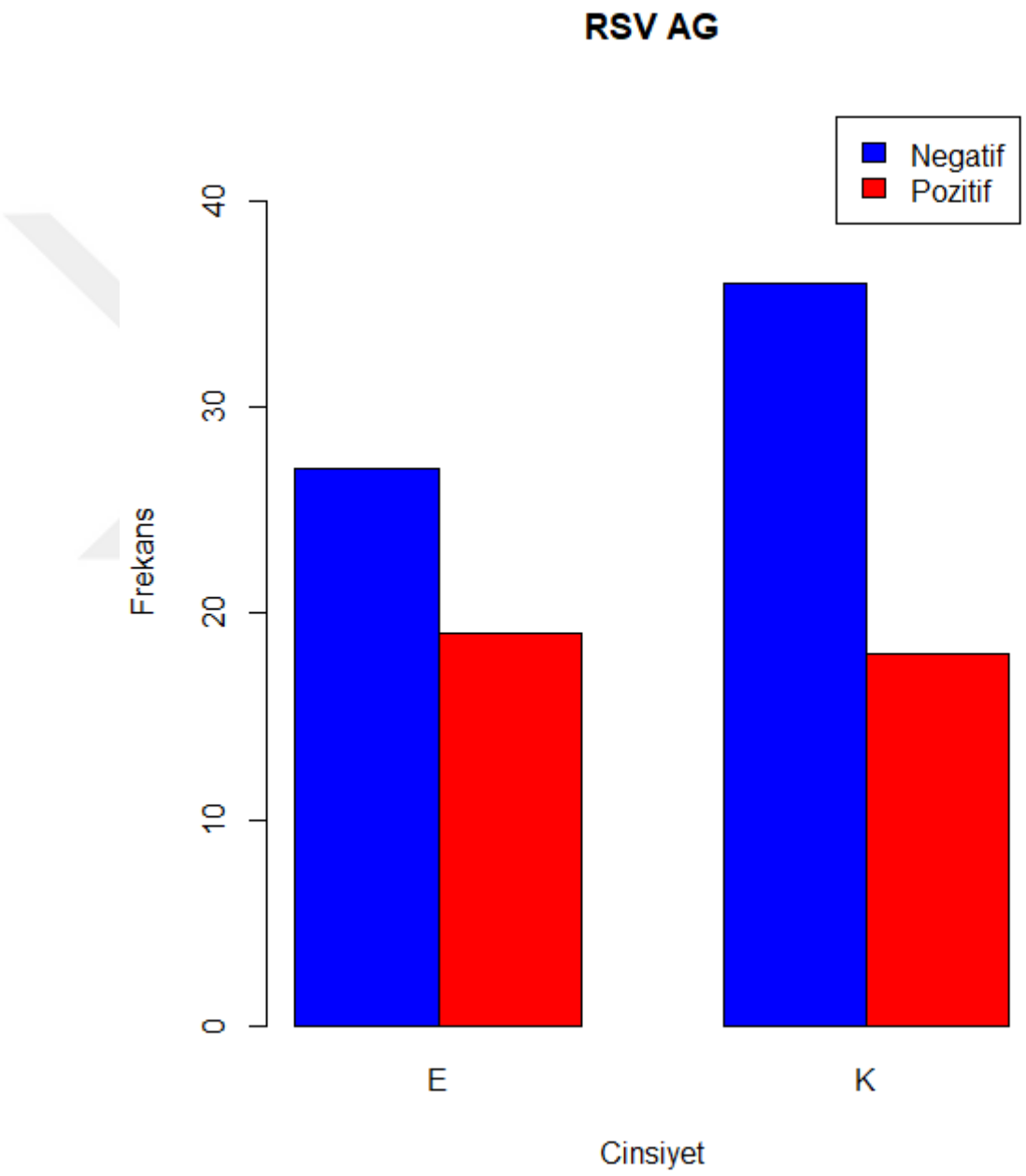
	RSV RT-qPCR		RSV AG	
	E	K	E	K
POZİTİF	22	27	19	18
NEGATİF	24	27	27	36



Grafik.3.4.1. RSV RT-qPCR sonuçlarının cinsiyet dağılımı.

RSV RT-qPCR sonuçlarının cinsiyete göre dağılımında Ki kare ve Fisher testleri uygulandığında Cinsiyet ile bağımlı olmadığı saptanmıştır (sırasıyla, P=0.99 ve P= 0.84).

Odds oranı 1.09 ise (%95 güven aralığı 0.46 -2.58) saptanmıştır.



Grafik.3.4.2. RSV AG sonuçlarının cinsiyet dağılımı.

RSV AG sonuçlarının cinsiyete göre dağılımında Ki kare ve Fisher testleri uygulandığında Cinsiyet ile bağımlı olmadığı saptanmıştır (sırasıyla, P=0.54 ve P= 0.53).

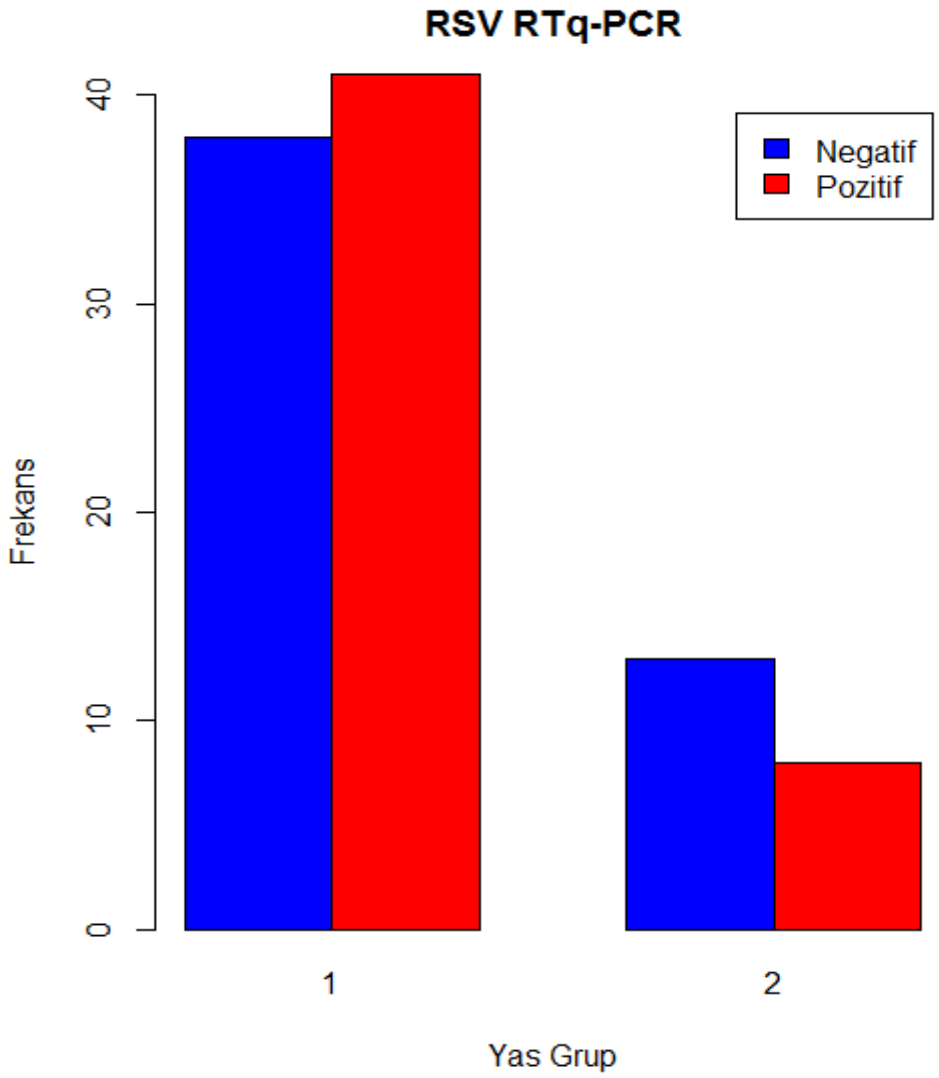
Odds oranı ise 0.71 (%95 güven aralığı 0.29 -1.74) saptanmıştır.

RSV RT-qPCR ile RSV AG sonuçlarının Yaş dağılımı tablo ve grafikleri aşağıda verilmiştir.

Tablo 3.4.2. RSV RT-qPCR ile RSV AG çalışma yöntemlerinin yaş gruplarına göre dağılımı.

	RSV RT-qPCR		**RSV AG**	
YAŞ (AY)	**0-12**	**13-24**	**0-12**	**13-24**
POZİTİF	41	8	31	6
NEGATİF	38	13	48	15

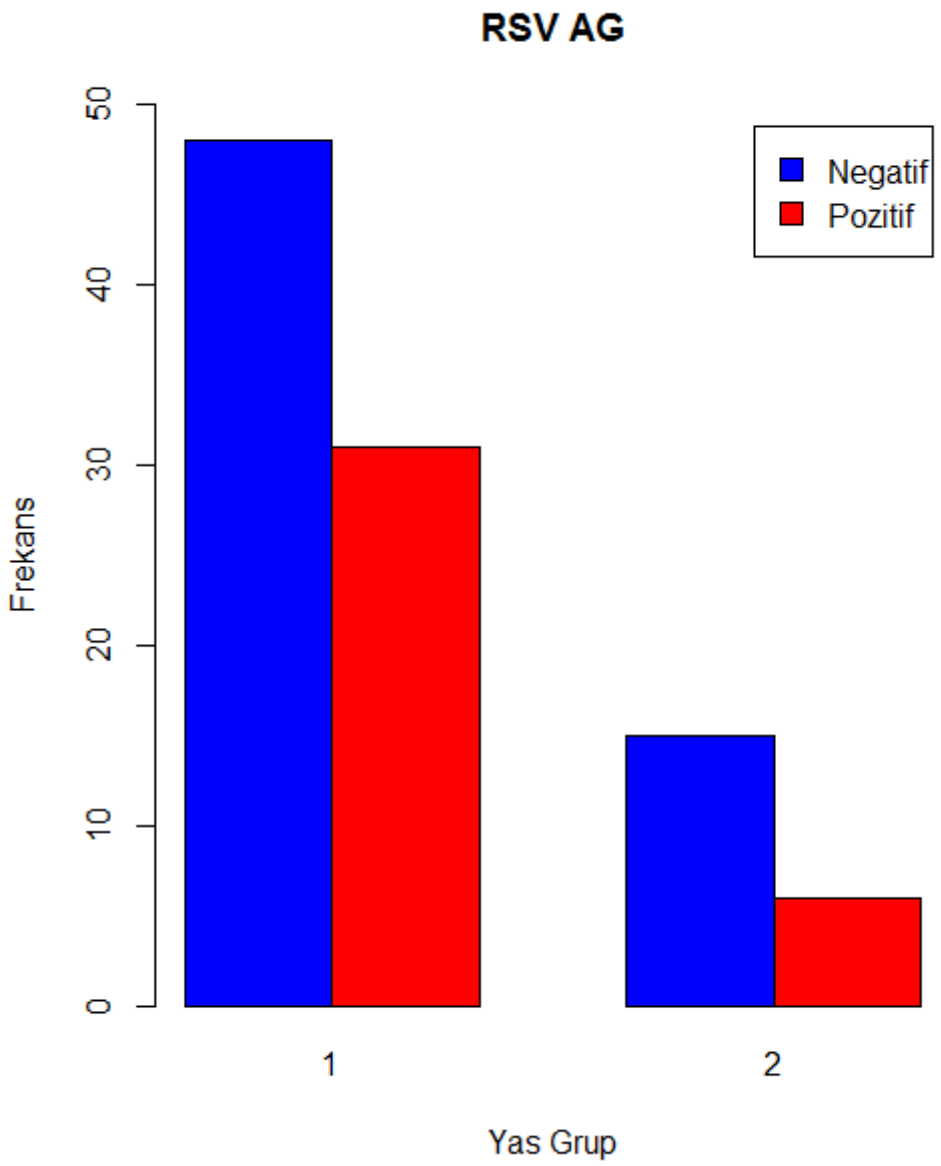
1. Grup 0-12 ay arası çocukları, 2. Grup ise 13-24 ay arası çocukları içermektedir.



Grafik.3.4.3. RSV RT-qPCR sonuçlarının yaş gruplarına göre dağılımı.

RSV RT -qPCR sonuçlarının 0-2 yaş arasında yapılan gruplara göre dağılımında Ki kare ve Fisher testleri uygulandığında yaş grupları ile bağımlı olmadığı saptanmıştır (sırasıyla, P=0.38 ve P= 0.33).

Odds oranı ise 0.57 (%95 güven aralığı 0.18 -1.68) saptanmıştır.



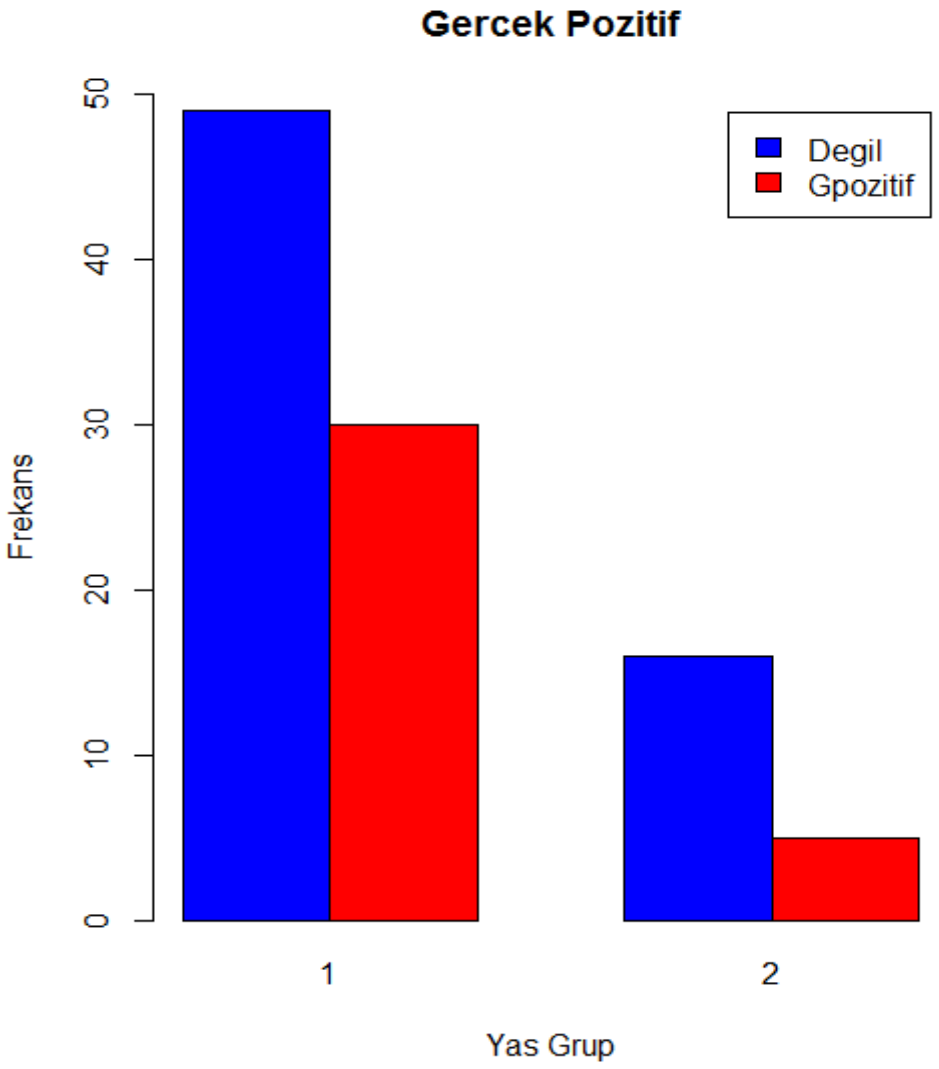
Grafik.3.4.4. RSV AG sonuçlarının yaş gruplarına göre dağılımı.

RSV AG sonuçlarının 0-2 yaş arasında yapılan gruplara göre dağılımında Ki kare ve Fisher testleri uygulandığında yaş grupları ile bağımlı olmadığı saptanmıştır (sırasıyla, P=0.52 ve P= 0.45).
Odds oranı ise 0.62 (%95 güven aralığı 0.18 – 1.93) saptanmıştır.

Gerçek pozitif sonuçların yaş gruplarına göre dağılımı tablo ve grafikleri aşağıda verilmiştir.

Tablo 3.4.3. Gerçek pozitif sonuçların yaş gruplarına göre dağılımı.

YAŞ (AY)	**0-12**	**13-24**
GERÇEK POZİTİF OLANLAR	30	5
GERÇEK POZİTİF OLMAYANLAR	49	16



Grafik.3.4.5. Gerçek pozitifliklerin yaş gruplarına göre dağılımı.

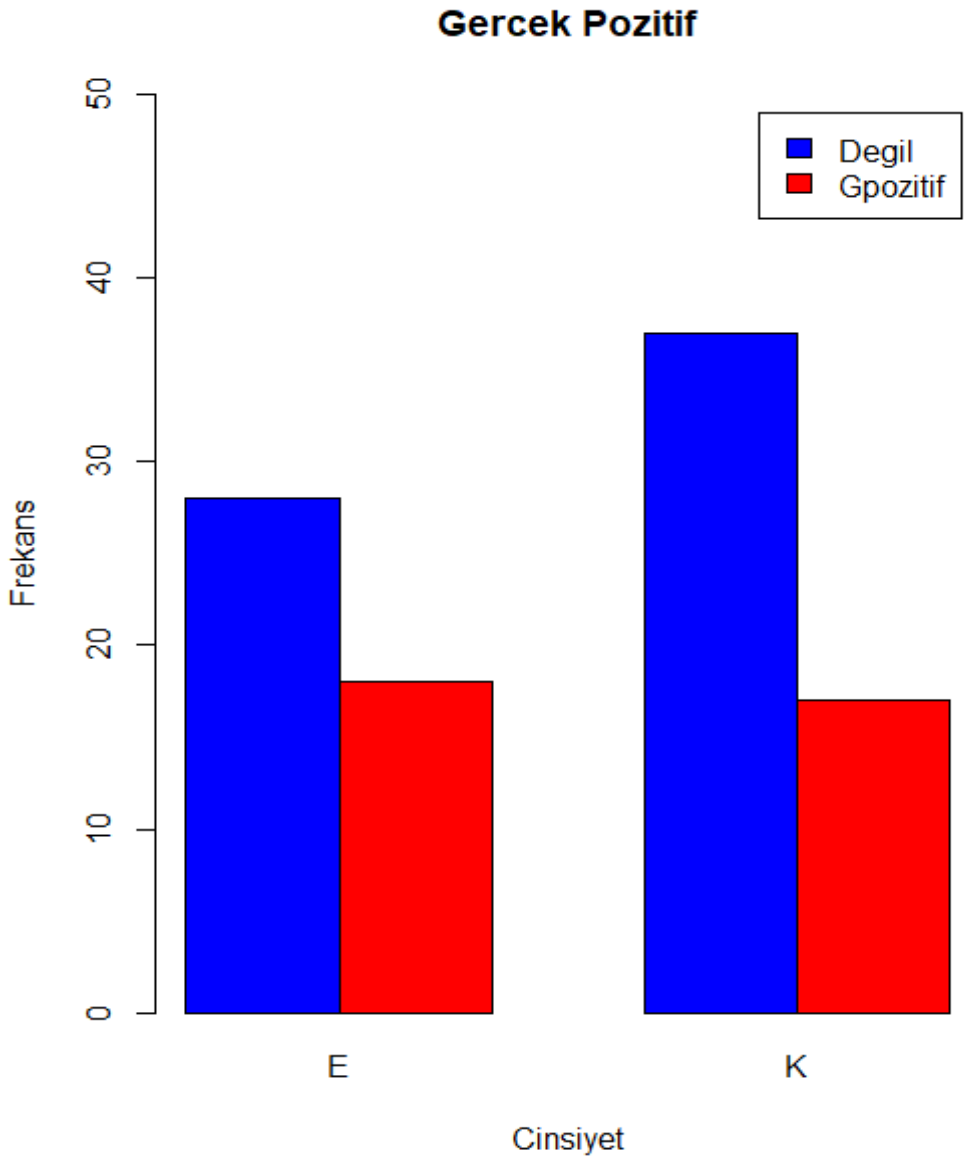
Gerçek pozitif sonuçlarının 0-2 yaş arasında yapılan gruplara göre dağılımında Ki kare ve Fisher testleri uygulandığında yaş grupları ile bağımlı olmadığı saptanmıştır (sırasıyla, P=0.34 ve P= 0.31).

Odds oranı ise 0.51 (%95 güven aralığı 0.13 – 1.67) saptanmıştır.

Gerçek pozitif sonuçların cinsiyet dağılımı tablo ve grafikleri aşağıda verilmiştir.

Tablo 3.4.4. Gerçek pozitif sonuçların cinsiyet dağılımı.

CİNSİYET	**E**	**K**
GERÇEK POZİTİF OLANLAR	18	17
GERÇEK POZİTİF OLMAYANLAR	28	37



Grafik.3.4.6. Gerçek pozitifliklerin cinsiyete göre dağılımı.

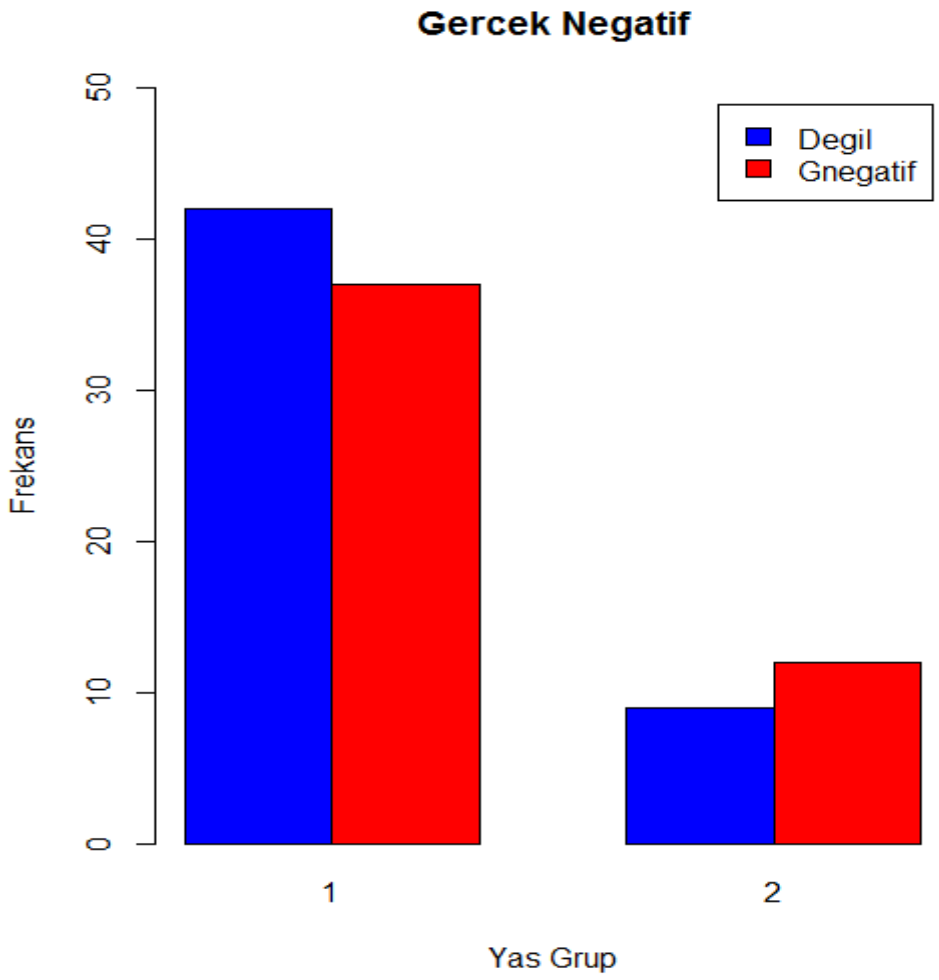
Gerçek pozitif sonuçlarının cinsiyete göre dağılımında Ki kare ve Fisher testleri uygulandığında Cinsiyet ile bağımlı olmadığı saptanmıştır (sırasıyla, P=0.56 ve P= 0.53).

Odds oranı ise 0.72 (%95 güven aralığı 0.29 – 1.77) saptanmıştır.

Gerçek negatif sonuçların yaş gruplarına göre dağılımı tablo ve grafikleri aşağıda verilmiştir.

Tablo 3.4.5. Gerçek negatifliklerin yaş gruplarına göre dağılımı.

YAŞ (AY)	**0-12**	**13-24**
GERÇEK NEGATİF OLANLAR	37	12
GERÇEK NEGATİF OLMAYANLAR	42	9



Grafik.3.4.7. Gerçek negatifliklerin yaş gruplarına göre dağılımı.

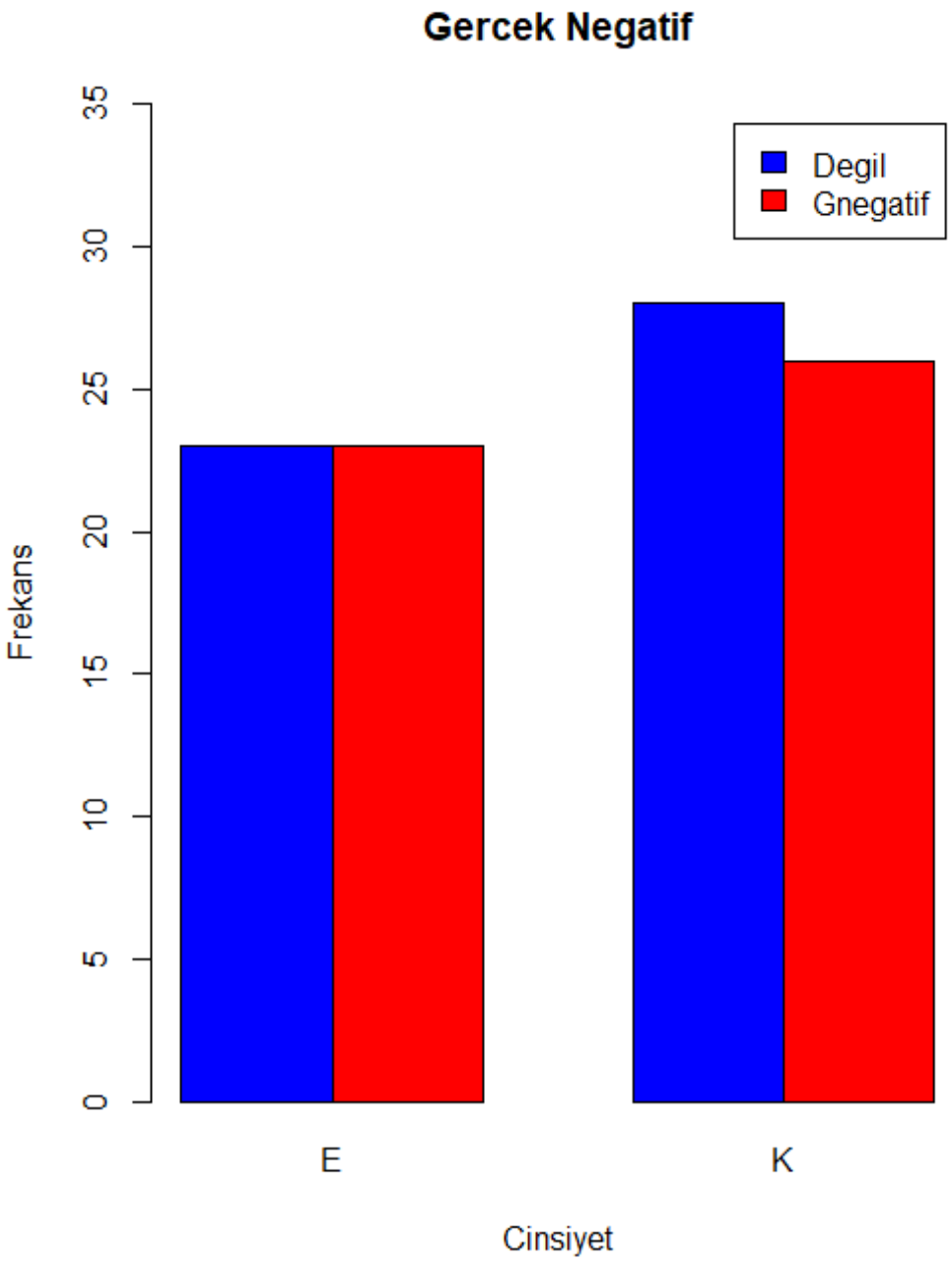
Gerçek negatif sonuçlarının 0-2 yaş arasında yapılan gruplara göre dağılımında Ki kare ve Fisher testleri uygulandığında yaş grupları ile bağımlı olmadığı saptanmıştır (sırasıyla, P=0.55 ve P= 0.47).

Odds oranı ise 1.51 (%95 güven aralığı 0.52 – 4.55) saptanmıştır.

Gerçek negatif sonuçların cinsiyet dağılımı tablo ve grafikleri aşağıda verilmiştir.

Tablo 3.4.6. Gerçek negatifliklerin cinsiyete göre dağılımı.

CİNSİYET	**E**	**K**
GERÇEK NEGATİF OLANLAR	23	26
GERÇEK NEGATİF OLMAYANLAR	23	28



Grafik.3.4.8. Gerçek negatifliklerin cinsiyete göre dağılımı

Gerçek negatif sonuçlarının cinsiyete göre dağılımında Ki kare ve Fisher testleri uygulandığında cinsiyet ile bağımlı olmadığı saptanmıştır (sırasıyla, P=1.00 ve P= 1.00).

Odds oranı ise 0.93 (%95 güven aralığı 0.39 – 4.19) saptanmıştır.

3.5. Duyarlılık, Özgüllük, Pozitif Prediktif ve Negatif Prediktif Değerlerinin Hesaplanması

Hızlı antijen testi, referans bir yöntem olan RT-qPCR ile karşılaştırılarak duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri aşağıdaki gibi hesaplanmıştır.

Gerçek Pozitif: Hızlı Antijen testi ve RT-QPCR teslerinin her ikisi de pozitif = 35
Gerçek Negatif: Hızlı Antijen testi ve RT-QPCR teslerinin her ikisi de negatif = 49
Yalancı Pozitif: Hızlı Ag pozitif RCR negatif = 2
Yalancı Negatif: Hızlı Ag negatif PCR Pozitif = 14

Tüm bu hesaplar, Hızlı Antijen testinin bir referans yöntem olan RT-qPCR test sonuçları ile karşılaştırılmasıyla hesaplanmıştır.

Duyarlılık = (Gerçek Pozitif / (Gerçek P + Yalancı Negatif)) X 100 = % olarak ifade edilir.
Duyarlılık = (35 / (35+14)) X 100 = 35/49 X100 = 71,4

Özgüllük = (Gerçek Negatif / (Yalancı Pozitif + Gerçek Negatif)) X100 = % olarak ifade edilir.
Özgüllük = (49 / (2+49)) X100 = 96,07

Pozitif Prediktif Değer = (Gerçek Pozitif / (Gerçek Pozitif + Yalancı Pozitif)) X 100 = %
Pozitif Prediktif Değer = (35 / (35+2)) X 100 = 94,5
Negatif Prediktif Değer = (Gerçek Negatif / (Gerçek Negatif + Yalancı Negatif)) X 100 = %
Negatif Prediktif Değer = (49 / (49+14)) X 100 = 77,7

4.TARTIŞMA

Ülkemizde Alt Solunum Yolu Enfeksiyonu (ASYE) ön tanısıyla hastaneye yatırılan iki yaşın altındaki çocuklarda yapılan çok merkezli bir çalışmada tüm örneklerdeki RSV pozitiflik oranı %16,9 olarak bildirilmiştir (Altındiş 156, Turkish Neonatal Society 2012).

Ülkemizde ASYE'lu çocuklarda yapılan çalışmalarda RSV prevalansının %16,9 - %54,8 arasında olduğu bildirilmiştir (Hacımustafaoğlu ve ark. 2013). Çalışmamızda saptamış olduğumuz %35'lik gerçek pozitiflik değeri bu çalışmalarla uyumluluk göstermiştir.

En yüksek RSV pozitifliği 0-3 ay aralığındaki çocuklarda belirlenmiştir (%37,5) (Öz S ve ark 2018). İstanbul'da iki periyotta yapılan bir çalışmada akut bronşiyolitli bebeklerde nazofarengeal sekresyonlarda RSV saptanma oranları %35 ve %39 olarak bildirilmiştir (Yılmaz ve ark 1999).

Primer RSV enfeksiyonu olan bebeklerin ve küçük çocukların %15-50'sinde ASYE'nu oluşur. En yüksek risk grubunu 6 ay ile 2 yaş arasındaki bebekler oluşturmaktadır. (Barr ve Graham 2015, Öz S ve ark 2018).

Çocuklarda RSV genellikle üst solunum yolu enfeksiyonuna neden olsa da %20-30 oranında alt solunum yolu enfeksiyonlarına da neden olur (Hall ve ark 2009).

Dünya Sağlık Örgütü çocuklardaki akut alt solunum yolu enfeksiyonlarının %60'ından RSV'nin sorumlu olduğunu bildirmiştir. Özellikle bir yaş altı infantlarda bu oranın %80 üzerinde olduğunu bildirmiştir (Wright ve Piedimonte 2011).

Respiratory Syncytial Virus yatan hastalarda hastane enfeksiyonları kapsamında da önemli bir hastalık etkeni olabilir. Hollanda'da 12 yıllık retrospektif bir çalışmada yeni doğan yoğun bakım servisinde yatan bebeklerde viral enfeksiyon hızı %1 olarak saptanmış olup bunlar arasında RSV enfeksiyonları (%29) olarak bildirilmiştir (Verboon-Maciolek ve ark 2005). İngiltere'de 2001-2002 kış sezonunda

hastaneye başvuran <71 ay 613 çocukta %12,2 RSV bildirilmiş, hastaneye yatış hızı ise yüz binde 517 olarak bildirilmiştir (Nicholson ve ark 2006).

Almanya yapılan bir çalışmada Solunum yolu enfeksiyonu ile hastaneye yatırılan 254 hastadan alınan örneklerde RSV pozitiflik oranı %44.1 olarak bildirilmiştir (Bonzel ve ark 2008).

Respiratory Syncytial Virus enfeksiyonu ve/veya salgınları hastanelerde ek maliyetler getirir. ABD'de yapılan bir çalışmada yeni doğan yoğun bakım servislerinde gelişen bir RSV salgının ekonomik analizi yapılmış, ortalama gestasyonel yaşları 31 hafta ve doğum tartıları 1757 g olan ortalama 34 günlük ve RSV kültür pozitif prematürelerde RSV salgınına atfedilen ek maliyetin 1,15 milyon dolar olduğu bildirilmiştir (Halasa ve ark 2005).

Risk faktörleri irdelendiğinde; akut bronşiyolit nedeniyle ölen çocukların %9,9'unda konjenital kalp hastalığı (KKH), %5,5'inde akciğer hastalığı, %4,2'sinde prematürite öyküsü saptanmıştır. Avrupa, ABD ve Avustralya'da yapılan uluslararası iş birliği çalışmasında sağlıklı çocuklarda RSV'ye bağlı enfeksiyonlarda mortalite oranı %0,5 bulunurken, risk faktörü olan olgularda bu oranının %3 ve üzerine çıktığı saptanmıştır (Behrendt ve ark 1998).

Güney Amerika, Afrika ve Asyada gelişmekte olan birçok ülkede yapılan çalışmalarda, akut bronşiyolit tanısı konan çocukların %33-64'ünden RSV saptanmıştır (Vathanophas ve ark 1990, Forgie ve ark 1992).

Çalışmamızda alt solunum yolu tanısı almış 0-2 yaş arası çocuklarda HAT ve RT-qPCR tekniğinde pozitiflik oranları sırasıyla %37 ve %49 olarak saptanmış olup gerçek pozitiflik oranı %35 olarak belirlenmiştir. Saptamış olduğumuz bu oran ülkemizde farklı bölgelerde daha önce yapılan çalışmalarda (Hacımustafaoğlu ve ark. 2013) saptanan oranların altında veya üstünde (%16,9 - %54,8) olduğu görülmüştür. DSÖ'nün verilerinin ise altında olduğu görülmüştür. Bu durum RSV görülme oranlarının bölgeler ve ülkeler arasında da farklılıklar arz ettiğini göstermiştir.

Kanada'da RT-qPCR yönteminin referans olarak alındığı meta-analiz bir çalışmada RSV hızlı antijen testinin ortalama olarak duyarlılık ve özgüllük değerleri sırasıyla %80, %97 olduğu bildirilmiştir (Chartrand ve ark 2015). Çalışmamızda ise duyarlılık %71,4, özgüllük ise %96,07 olarak saptanmıştır.

Milan Üniversitesinde 6-60 aylık çocuklarda nazofaringeal swab örneklerinde RSV duyarlılık %90,7, özgüllük %100, Pozitif prediktif değer %100 ve Negatif prediktif değer ise %91,5 olarak bildirilmiştir (Esposito ve ark 2015).

Çalışmamızda ise pozitif ve negatif prediktif değerler sırasıyla %94,5 ve %77,7 olarak saptanmıştır. Bu verilerdeki farklılıkların sebebi, çalışılan testinlerin duyarlılık, özgüllük değerlerinin farklılıklar gösterebilmesi, örneklerdeki RSV partikül miktarlarının da rol alabileceği tahmin edilmiştir.

Respiratory Syncytial Virus, çocukluk çağında viral alt solunum yolu enfeksiyonunun ana nedenidir (Avila ve ark 1989). RSV tanısında duyarlılığı düşük testlerin kullanımında tanıya gitmenin zor olabileceği ve her zaman güvenilir olmadığı birçok çalışmada gösterilmiş olup bu durum RSV tespitinde farklı yöntemlerin kullanımına yol açmıştır (Falsey ve ark 1996, Johnston ve ark 1990).

Respiratory Syncytial Virus'a özgü qPCR testinin ana avantajları, yüksek duyarlılık ve özgüllük yanı sıra kesin nicelendirmesi ve tekrarlanabilirliğidir. PCR ile RSV'in saptanması hem çocukların hem de yaşlı bireylerin solunum örneklerinde güvenilirdir. QPCR sonuçlarının nested PCR verileri ile karşılaştırıldığı bir çalışmada duyarlılığının neredeyse 30 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (Schmittgen ve ark 2000).

Greenberg ve ark (Greenberg ve ark 2000)'ın çalışmasında viral serolojik testler kullanıldığında solunum yolu örneklerinde RSV saptama oranlarının düşük (% 11.4) olduğu bildirilmiş ve aynı çalışmada qPCR testlerinin yüksek duyarlılığı nedeniyle, çok daha düşük düzeylerdeki viral yükün saptanabileceğini de bildirmişlerdir. Çeşitli çalışmalardan elde edilen verilerin karşılaştırılmasında, farklı çalışma yöntemleri, hasta popülasyonu ve hastalık tanımı durumunda farklı özgüllük ve duyarlılık sonuçlarına rastlanılmıştır (Josefsson ve ark 1999, Schutten ve ark 2000, Loeb ve ark 2000, Lallemand ve ark 2000, Locatelli ve ark 2000, Guiver ve ark 2001).

Kanada da bir araştırmada RT-PCR testi ile solunum yolu enfeksiyonu etkeni olarak RSV saptanma oranı %51 olarak bildirilmiştir. Aynı çalışmada RT-PCR testinin duyarlılığı %94.5, Özgüllüğü %98.9, positive prediktif değer %99 ve negative prediktif değerinin de %94 olduğu bildirilmiştir (Boivin ve ark 2004).

Boivin ve ark'nın çalışmasında RSV saptanmasında kullanılan RT-PCR testinin, hızlı antijenik testten daha duyarlı olduğu (yaklaşık % 15 oranında) bildirilmiştir. Yanlış negatif antijenik test sonuçlarının çoğu, nazofarinks swab örneklerindeki az miktarlarda viral RNA varlığı ile açıklanabilir. RT-PCR testinin özgüllüğü mükemmeldi (%98,9). Yalnızca bir pozitif sonuç ikinci PCR testi tarafından onaylanmış olsaydı daha iyi olacaktı (Boivin ve ark 2004).

Hızlı antijen testi (CerTest RSV-Adeno Resp Card Test, Biotec, Spain)'in kullanma klavuzunda belirtildiği gibi alınan nazofaringeal örnek yetersiz veya antijen konsantrasyonu testin hassasiyetinin altında olması durumunda test sonucu negatif olabilir. Bu durumda Hızlı antijen testinin negatif ancak RT-qPCR testinin pozitif olması nedenlerinden biri de bu olabilir.

Hızlı antijenik test, küçük çocuklarda RSV'nin saptanması için nispeten iyi performans göstermesine rağmen (duyarlılık %82, özgüllük %95), daha düşük viral titreleri saptayabilme kapasitesine sahip olan RT-PCR testinin yerini tutamamaktadır (Englund ve ark 1996).

Washington Viroloji Laboratuvarında Solunum yolu örneklerinde RSV saptanma oranları antijen testi ile %35,6, RT-qPCR testi ile de %38,1 bildirilmiştir. Bu çalışmada gerçek zamanlı PCR (RT-PCR) testinin hızlı, spesifik ve oldukça duyarlı olduğu da bildirilmiştir (Kuypers ve ark 2004).

Brezilya'da yapılan bir çalışmada nazifarinks swab örneklerinde saptanan 313 RSV pozitif örneklerde hızlı antijen testi saptama oranı %90 olduğu bildirilmiştir. Hızlı antijen testinin RT-PCR testi kıyaslanması ile duyarlılık %90, özgüllük %98,8, pozitif prediktif değer %99,3 ve negatif prediktif değerin de %94,6 olduğu bildirilmiştir (Mesquita ve ark 2017).

Bu çalışmada RSV AG testinin bir referans yöntem olan RT-qPCR test sonuçları ile kıyaslanması sonucunda duyarlılık %71,4, özgüllük %96,07, pozitif prediktif değer %94,5 ve negatif prediktif değerinin %77,7 olduğu görülmüştür.

Çalışmada RSV AG testinde yalancı negative olarak saptanan 14 örnekteki viral partikül sayısının azlığı da sebep olmuş olabilir. Bu sonuçların RT-qPRC ile değerlendirmeleri sonucunda pozitif olarak saptanması da bunu desteklemektedir. Çünkü RT-qPCR yöntemi daha düşük oranlarda virus partiküllerini saptayabilmektedir. Bu nedenden dolayı RSV AG testlerinde başlangıçta bir amplifikasyon yapılmadığından yalancı negatiflik kaçınılmaz olduğundan RT-qPCR ile doğrulanmalıdır.

Bu tez projesinde örnekleme yapılan tüm çocuklar, hastanede kalmayı gerektirecek düzeyde alt solunum yolu enfeksiyonu klinik belirtileri (ateş, öksürük, hırıltılı solunum, ekspiryumda uzama, inleme, solunum seslerinde kabalaşma, interkostal çekilme, burun akıntısı, kusma, apne, akciğer grafisinde infiltrasyon gibi) gösteren hastalarda örnekleme yapılmıştır. Tedavinin başarısı için kısa sürede tanı konulması önem arz ediyordu. Bu çalışmadaki verilere dayanılarak toplumsal enfeksiyonların araştırılmasında örnekleme sayısının yüksek olması nedeniyle ilk etapta RT-qPCR'a göre daha ucuz olan HAT'lerinden faydalanılması önerilebilir. Tanı konulamayan durumlarda kullanılacak yöntemlerin duyarlılık ve özgüllüğünün yüksek olması da önemliydi. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar ve diğer çalışmalarda (Hacımustafaoğlu ve ark 2013) da saptanan sonuçlar, RT-qPCR'ın teşhisteki önemini bir kez daha ortaya koymuştur.

Bu çalışmadaki verilere dayanarak, toplumsal enfeksiyonların araştırılmasında örnekleme sayısı yüksek olacağından, RT-qPCR'a göre daha ekonomik olan ve kısa sürede sonuç veren hızlı Antijen testinin tercih edilebileceği anlaşılmıştır. Bu sonuç diğer çalışmalarla (Hacımustafaoğlu ve ark 2013) da paralellik göstermiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışma grubumuzda RSV hızlı antijen pozitiflik ve RT-qPCR pozitiflik oranları sırasıyla %37 ve %49 olarak saptanmıştır. RSV hızlı antijen pozitifliği 0-12 aylık çocuklarda %31, 13-24 aylık çocuklarda ise %6 olarak saptandı. RT-qPCR pozitifliği ise 0-12 aylık çocuklarda %41, 13-24 aylık çocuklarda ise %8 olarak saptandı. RT-qPCR test sonuçları referans yöntem olarak kabul edildiğinde RSV hızlı antijen testinin duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer ve negatif prediktif değer oranları sırasıyla %71,4, %96,07, %%94,5 ve %77,7 olarak saptandı.

Çocukların Nazofarinks swab örneklerinde RSV'nin saptanması için hızlı ve hassas bir RT-qPCR testi kullanılmalıdır. RT-qPCR testi, şu anda mevcut antijen saptama testleri kadar spesifik ve onlardan çok daha duyarlıdır. Olumsuz sonuçlara rağmen yüksek klinik şüphe olduğunda hastane ortamında ikincisini tamamlayabilir. Viral kültür ihtiyacını eninde sonunda ortadan kaldırmak için bu tür hızlı moleküler yöntemlerle tespit edilen viral patojenler panelini genişletmek için gelecekte farklı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda ele alınan 0-2 yaş arasındaki çocuklarda İstatiktiksel olarak yapılan değerlendirmede görüldüğü gibi RSV pozitifliğinin gerek cinsiyete ve gerekse de yaş gruplarına göre anlamlı bir değişiklik göstermediği görülmüştür.

Çalışmada saptanan gerçek pozitif örnekler sonbahar, kış ve ilkbahar aylarında saptanmakla beraber çoğunluğunun kış mevsiminde olduğu gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak çalışmamızda RSV düşünülen çocuklarda etken RSV'yi saptamada RT-qPCR testi 0-12 aylık çocuklarda %10, 13-24 aylık çocuklarda ise %2 daha avanjlı olduğu saptanmıştır. Tanıda her iki testin saptama oranları karşılaştırılarak, HAT'inin kısa sürede sonuç vermesi, daha ekonomik olması ve fazla sayıda örnek işlenebilmesi nedeniyle, rahatlıkla tarama amaçlı olarak kullanılabileceği vurgulanmış ancak enfeksiyonların kesin tanısında mutlaka moleküler tanı yöntemlerinden faydalanılması gerektiği de vurgulanmıştır. Türkiyede Respiratory Syncytial Virus tanısında HAT ve RT-PCR yöntemlerinin

karşılaştırılması ile ilgili fazla çalışma olmadığından bu tez araştırması bu alanda örnek olacak ve sonraki çalışmalara da katkı sağlayacaktır.

6. KAYNAKLAR

Acunaş B, Uslu S, Yağmur Baş A, 2018. Turkish Neonatal Society guideline on the follow-up of high-risk newborn infants. Turk Pediatri Ars, 53(Suppl 1): S180-S195.

Aherne W, Bird T, Court SD, et al. 1970. Pathological changes in virus infections of the lower respiratory tract in children. J Clin Pathol, 23, 7.

Akin L, Surlu B, Bozkaya E, Aslan SS, Onal A, Badur S, 2005. Influenza and respiratory syncytial virus morbidity among 0-19 aged group in Yunus Emre Health Center. Turk J Pediatr ;47(4):316-22.

Alchikh M, Conrad T, Hoppe C, Ma X, Broberg E, Penttinen P, Reiche J, Biere B, Schweiger B and Rath B, 2019. Are we missing respiratory viral infections in infants and children? Comparison of a hospital-based quality management system with standard of care. Clin Microbiol Infect 25: 380.e9-380.e16.

Alexander-Miller MA, 2014. Vaccines against respiratory viral pathogens for use in neonates: opportunities and challenges. J Immunol, 193: 5363–5369.

AmericanAcademy of Pediatrics: Respiratory syncytial virus, "Pickering LK(ed), 2003 Red Book: Report of the Committe on Infectious Diseases, 26. baskı" kitabında s.523-8, American Academy of Pediatrics, Elk Greve Village, IL 2003.

Anderson L, Jorquera PA and Tripp RA, 2016. MicroRNA profiling from RSV-infected biofluids, whole blood, and tissue samples. Methods Mol Biol 1442: 195-208.

Aranda SS and Polack FP, 2019. Prevention of pediatric respiratory syncytial virus lower respiratory tract illness: Perspectives for the next decade. Front Immunol 10: 1006.

Avila MM, Carballal G, Rovaletti H, Ebekian B, Cusminsky M, Weissenbacher M, 1989. Viral etiology in acute lower respiratory infections in children from a closed community. Am Rev Respir Dis, 140: 634–637.

Bachi T, Howe C, 1973. Morphogenesis and ultrastructure of respiratory syncytial virus. J Virol, 12: 1173–1180.

Barr FE, Graham BS, 2015. Respiratory syncytial virus infection: Clinical features and diagnosis. http://www.uptodate.com/contents/respiratory-syncytial-virus-infection-clinicalfeatures-and-diagnosis adresinden 15 Eylul 2015 tarihinde erişilmiştir.

Barr R, Green CA, Sande CJ and Drysdale SB, 2019. Respiratory syncytial virus: Diagnosis, prevention and management. Ther Adv Infect Dis 6: 2049936119865798.

Behrendt CE, DeckerMD, Burch DJ, Watson PH, 1998. International variation in the management of infants hospitalized with respiratory syncytial virus, International RSV Study Group, Eur J Pediatr, 157(3):215-20.

Behzadi MA and Leyva-Grado VH, 2019. Overview of current therapeutics and novel candidates against influenza, respiratory syncytial virus, and Middle East respiratory syndrome coronavirus infections. Front Microbiol 10: 1327.

Beigelman A, Isaacson-Schmid M, Sajol G, et al. 2015. Randomized trial to evaluate azithromycin's effects on serum and upper airway IL-8 levels and recurrent wheezing in infants with respiratory syncytial virus bronchiolitis. J Allergy Clin Immunol, 135: 1171–1178.

Beigelman A, Mikols CL, Gunsten SP, et al. 2010. Azithromycin attenuates airway inflammation in a mouse model of viral bronchiolitis. Respir Res, 11: 90.

Blanken MO, Rovers MM, Molenaar JM, et al. 2013. Respiratory syncytial virus and recurrent wheeze in healthy preterm infants. N Engl J Med, 368: 1791–1799.

Blanken MO, Rovers MM, Molenaar JM, Winkler-Seinstra PL, Meijer A, Kimpen JL and Bont L, 2013. Dutch RSV Neonatal Network: Respiratory syncytial virus and recurrent wheeze in healthy preterm infants. N Engl J Med 368: 1791-1799.

Bloom-Feshbach K, Alonso WJ, Charu V, et al. 2013. Latitudinal variations in seasonal activity of influenza and respiratory syncytial virus (RSV): a global comparative review. PLoS One 8: e54445.

Blount RE Jr, Morris JA and Savage RE, 1956. Recovery of cytopathogenic agent from chimpanzees with coryza. Proc Soc Exp Biol Med 92: 544-549.

Boivin G, Cote S, Dery P, Serres GD, Bergeron MG, 2004. Multiplex Real-Time PCR Assay for Detection of Influenza and Human Respiratory Syncytial Viruses. Journal Of Clinical Microbiology, 42(1), p. 45–51.

Bont L, 2009. Nosocomial RSV infection control and outbreak management. Paediatr Respir Rev, 10: Suppl. 1, 16–17.

Bonzel L, Tenenbaum T, Schroten H, Schildgen O, Schweitzer-Krantz S, Adams O, 2008. The Pediatric Infectious Disease Journal, 27(7), p.589-94.

Borchers AT, Chang C, Gershwin ME, et al. 2013 Respiratory syncytial virus – a comprehensive review. Clin Rev Allergy Immunol, 45: 331–379.

Branche AR, Falsey AR, 2015. Respiratory syncytial virus infection in older adults: an under-recognized problem. Drugs Aging, 32: 261–269.

Branderburg AH, Groen J, Van Steensel-Moll HA et al. 1997. Respiratory syncytial virus spesific serum antibodies in infants under six months of age: Limited serological response upon infection, Med Virol,52 (1):97-104.

Brief report, 2005. Respiratory syncytial virus activity-United States, 2004 - 2005, MMWR 54;1259-60.

C.L.Collins, A.J.Pollard, 2002. Respiratory Syncytial Virus Infections in children and adults. Journal of infection, 10-17.

Carbonell-Estrany X, Pérez-Yarza EG, García LS, et al. 2015. Long-term burden and respiratory effects of respiratory syncytial virus hospitalization in preterm infants – the SPRING Study. PloS One, 10: e0125422.

Carbonell-Estrany X, Simões EAF, Dagan R, et al. 2010. Motavizumab for prophylaxis of respiratory syncytial virus in high-risk children: a noninferiority trial. Pediatrics, 125: e35–e51.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2000. Respiratory syncytial virus activity-United States, 1999-2000 season, MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 49, 1091.).

Chartrand C, Tremblay N, Renaud C, Papenburgd J, 2015. Diagnostic Accuracy of Rapid Antigen Detection Tests for Respiratory Syncytial Virus Infection: Systematic Review and Meta-analysis. Journal of Clinical Microbiology, 53(12), p.3738-3749.

Chertow, Daniel S, 2007. MD, MPH SARS, MERS, and Other Viral Lung Infections, Critical Care Medicine: June 2017 Volume 45- Issue 6- p e632 doi: 10.1097/CCM.0000000000002420
Cer Test Biotec September 2007. Revision: 01 kataloğu.

Clayton JA, McKee B, Slain KN, Rotta AT and Shein SL, 2019. Outcomes of children with bronchiolitis treated with high-flow nasal cannula or noninvasive positive pressure ventilation. Pediatr Crit Care Med 20: 128-135.

Collins CL, Pollard AJ, 2002. Respiratory Syncytial Virus Infections in children and adults. Journal of infection,10-17.

Collins PL and Graham BS, 2008. Viral and host factors in human respiratory syncytial virus pathogenesis. J Virol, 82: 2040-55.

Collins PL, Mcintosh K, Chanock RM, 1996. Respiratory Syncytial Virus. In: Fields Virology. Eds: Fields BN, Knipe DM, Howley PM. Third edition.Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia,1313-1351.

Constantopoulos A, Kafetzis D, Syrogiannopoulos G, et al. 2002. Burden of respiratory syncytial viral infections on paediatric hospitals: a two-year prospective epidemiological study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 21: 102–107.

Courtesy of Linda Stannard, University of Cape Town, SA http://virology-online.com/viruses/RSV.htm.

Cranage MP, Gardner PS, 1980. Systemic cell-mediated and antibody responses in infants with respiratory syncytial virus infections, J Med Virol, 5(2):161-70.

Cunningham S, 2018.Respiratory Support in Bronchiolitis: Trial Evidence. Am J Perinatol 35: 553-556.

David M Steinberg, Jason Fine, Rick Chappell, 2009. Sample size for positive and negative predictive value in diagnostic research using case-control designs. Biostatistics, Jan;10(1):94-105.

Denton A and Davis P, 2007. Extreme thrombocytosis in admissions to paediatric intensive care: No requirement for treatment. Arch Dis Child 92: 515-516.

DeVincenzo J, Lambkin-Williams R, Wilkinson T, et al. 2010. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of an RNAi-based therapy directed against respiratory syncytial virus. Proc Natl Acad Sci U S A 107: 8800–8805.

DeVincenzo JP, McClure MW, Symons JA, et al. 2015. Activity of oral ALS-008176 in a respiratory syncytial virus challenge study. N Engl J Med, 373: 2048–2058.

DeVincenzo JP, Whitley RJ, Mackman RL, et al. 2014. Oral GS-5806 activity in a respiratory syncytial virus challenge study. N Engl J Med, 371: 711–722.

Drysdale SB, Prendergast M, Alcazar M, Wilson T, Smith M, Zuckerman M, Broughton S, Rafferty GF, Johnston SL, Hodemaekers HM, et al. 2014. Genetic predisposition of RSV infection-related respiratory morbidity in preterm infants. Eur J Pediatr 173: 905-912.

Drysdale SB, 2019 Management of RSV infection in children: New advances and challenges. Int J Mol Med 44: S26.

E.A.F.Simoes, J.R.Groothuis, 2002. Respiratory syncytial virus prophylaxis-the story so far. Respiratory Medicine, Vol.96.suplement B.S15-S24.

Eisenhut M, 2006. Extrapulmonary manifestations of severe respiratory syncytial virus infection – a systematic review. Crit Care, 10: R107.

Englund JA, Piedra PA, Jewell A, Patel K, Baxter BB, Whimbey E, 1996. Rapid diagnosis of respiratory syncytial virus infections in immunocompromised adults. J. Clin. Microbiol, 34:1649-53.

Esposito S, Scala A, Tagliabue C, Zampiero A, Bianchini S, Principi N, 2015. Evaluation of a multiplex real-time polymerase chain reaction assay for the detection of influenza and respiratory syncytial viruses. Diagn Microbiol Infect Dis, http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio, .09.014.

Falsey AR, Formica MA, Hennessey PA, et al. 2006. Detection of respiratory syncytial virus in adults with chronic obstructive pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med, 173: 639–643.

Falsey AR, Hennessey PA, Formica MA, et al. 2005. Respiratory syncytial virus infection in elderly and high-risk adults. N Engl J Med, 352: 1749–1759.

Falsey AR, McCann RM, Hall WJ, Criddle MM, 1996. Evaluation of four methods for the diagnosis of respiratory syncytial virus infection in older adults. J Am Geriatr Soc, 44: 71– 73.

Falsey AR, McElhaney JE, Beran J, et al. 2014. Respiratory syncytial virus and other respiratory viral infections in older adults with moderate to severe influenza-like illness. J Infect Dis, 209: 1873–1881.

Falsey AR, Walsh EE, 2000. Respiratory syncytial virus infection in adults. Clin Microbiol Rev, 13: 371–384.

Feng S, Zeng D, Zheng J and Zhao D, 2018. MicroRNAs: Mediators and therapeutic targets to airway hyper reactivity after respiratory syncytial virus infection. Front Microbiol 9: 2177.

Fishaut M, Tubergen D, McIntosh K, 1980. Cellular response to respiratory viruses with particular reference to children with disorders of cell-mediated immunity, J Pediatr, 96(2):179-86.

Fleming DM, Taylor RJ, Lustig RL, et al. 2015. Modelling estimates of the burden of respiratory syncytial virus infection in adults and the elderly in the United Kingdom. BMC Infect Dis, 15: 443.

Forgie IM, Campbell H, Lloyd-Evans N et al. 2006. Etiology of acute lower respiratory tract infections in children in a rural community in the Gambia, Pediatr Infect Dis J 1992;11(6):466-73.

Fuller H, Del Mar C. Immunoglobulin treatment for respiratory syncytial virus infection. Cochrane Database Syst Rev, 4: CD004883.

Gan SW, Tan E, Lin X, et al. 2012. The small hydrophobic protein of the human respiratory syncytial virus forms pentameric ion channels. J Biol Chem, 287: 24671–24689.

Gilca R., De Serres G., Tremblay M., et al. 2006. Distribution and clinical impact of human respiratory syncytial virus genotypes in hospitalized children over 2 winter seasons. J Infect Dis, 193, 54.

Gleeson M, Clancy RL, Cox AJ, Gulliver SA, Hall ST, Cooper DM, 2004 Mucosal immune responses to infections in infants with acute life threatening events classified as 'near-miss' sudden infant death syndrome. FEMS Immunol Med Microbiol, 42: 105-18.

Glezen W.P., Paredes A., Allison J.E., et al. 1981. Risk of respiratory syncytial virus infection for infants from low-income families in relationship to age, sex, ethnic group, and maternal antibody level. J Pediatr, 98, 708.

Glezen WP, Taber LH, Frank AL, Kasel JA, 1986. Risk of primary infection and reinfection with respiratory syncytial virus. Am J Dis Child, 140: 543-6.

GlezenWP, ParedesA,Allison JE,Taber LH, FrankAL, 1981. Risk of respiratory syncytial virus infection for infants fromlow-income families in relationship to age, sex, ethnic group, and maternal antibody level, J Pediatr, 98 (5):708-15.

Goh CT, Kirby LJ, Schell DN and Egan JR, 2017. Humidified high-flow nasal cannula oxygen in bronchiolitis reduces need for invasive ventilation but not intensive care admission. J Paediatr Child Health 53: 897-902.

Gonzalez IM, Karron RA, Eichelberger M, et al. 2000. Evaluation of the live attenuated cpts 248/404 RSV vaccine in combination with a subunit RSV vaccine (PFP-2) in healthy young and older adults. Vaccine, 18: 1763–72.

Goritzka M, Durant LR, Pereira C, Salek-Ardakani S, Openshaw PJ and Johansson C, 2014. Alpha/beta interferon receptor signaling amplifies early proinflammatory cytokine production in the lung during respiratory syncytial virus infection. J Virol 88: 6128-6136.

Gottlieb J, Zamora MR, Hodges T, Musk AW, Sommerwerk U, Dilling D, Arcasoy S, DeVincenzo J, Karsten V, Shah S, Bettencourt BR, Cehelsky J, Nochur S, Gollob J, Vaishnaw A, Simon AR, Glanville AR, 2016. ALN-RSV01 for prevention of bronchiolitis obliterans syndrome after respiratory syncytial virus infection in lung transplant recipients. J Heart Lung Transplant, 35(2), 213-21.

Gould PS, Easton AJ, 2007. Coupled translation of the second open reading frame of M2 mRNA is sequence dependent and differs significantly within the subfamily Pneumovirinae. J Virol, 81: 8488–96.

Groothius JR, Simoes EAF, Levin MJ et al. 1993. Prophylactic administrion of respiratory syncytial virus immune globulin to high-risk infants and young children, N Engl J Med, 329(21):1524-9.

Guiver M, Fox AJ, Mutton K, Mogulkoc N, Egan J, 2001. Evaluation of CMV viral load using TaqMan CMV quantitative PCR and comparison with CMV antigenemia in heart and lung transplant recipients. Transplantation, 71: 1609–1615.

Guvenel AK, Chiu C, Openshaw PJ, 2014. Current concepts and progress in RSV vaccine development. Expert Rev Vaccines, 13: 333–344.

Hacimustafaoglu M, Celebi S,Aynaci E et al. 2004. The progression of maternal RSV antibodies in the offspring, Arch Dis Child, 89(1):52-3.

Hacımustafaoğlu M, Celebi S, Bozdemir SE, et al. 2013. RSVfrequency in children below 2 years hospitalized for lower respiratory tract infections. *Turk J Pediatr*, 55:130–9.

Halasa NB, Williams JV, Wilson GJ, Walsh WF, Schaffner W, Wright PF, 2005. Medical and economic impact of a respiratory syncytial virus outbreak in a neonatal intensive care unit, Pediatr Infect Dis J, 24(12):1040- 4.).

Hall BC, 2004. Respiratory syncytial virus, "Feigin RD, Cherry JD, Demmler GJ, Kaplan SL (eds): Textbook of Pediatric Infectious Diseases, 5 baskı" kitabında s. 2315-41, Saunders Company, Philadelphia.

Hall CB, Long CE, Schnabel KC, 2001. Respiratory syncytial virus infections in previously healthy working adults. Clin Infect Dis, 33, 792.

Hall C., Walsh EE, Long CE, Schnabel KC, 1991. Immunity to and frequency of reinfection with respiratory syncytial virus. J Infect Dis, 163, 693.

Hall CB, Geiman JM, Biggar R, Kotok DI, Hogan MP, Doglas GR JR, 1976. Respiratory syncytial virus infections within families, N Engl J Med, 294(8):414-9.

Hall CB, Kopelman AE, Douglas RG JR, Geiman JM, Meagher MP, 1979. Neonatal respiratory syncytial virus infection. N Engl J Med, 300: 393-6.

Hall CB, Walsh EE, Long CE, et al. 1991. Immunity to and frequency of reinfection with respiratory syncytial virus. J Infect Dis, 163: 693–698.

Hall CB, Weinberg GA, Iwane MK, et al. 2009. The burden of respiratory syncytial virus infection in young children. N Engl J Med, 360: 588-98.

Hall CB,Walsh EE, Schnabel KC et al. 1990. Occurence of groups A and B of respiratory syncytial virus over 15 years: accociated epidemiolologic and clinical characteristics in hospitalized and ambulatory children, J Infect Dis, 162(6):1283-90.

Hall CB, 2001. Respiratory syncytial virus and parainfluenza virus. N Engl J Med, 344: 1917-28.

Harrington RD, Hooton TM, Hackman RC, et al. 1992. An outbreak of respiratory syncytial virus in a bone marrow transplant center. J Infect Dis, 165: 987–993.

Henderson FW, Collier AM, Clyde WA Jr, Denny FW, 1979. Respiratory-syncytial-virus Infections, reinfections and immunity. A prospective, longitudinal study in young children. N Engl J Med, 300, 530.

Hertz MI, Englund JA, Snover D, et al. 1989. Respiratory syncytial virus-induced acute lung injury in adult patients with bone marrow transplants: a clinical approach and review of the literature. Medicine, 68: 269–81.

Hoffman SJ, Laham FR, Polack FP, 2004. Mechanisms of illness during respiratory syncytial virus infection: the lungs, the virus and the immune response. Microbes Infect, 6, 767.

Hornsleth A, Friis B, Grabualle PC, Krasilnikof PA, 1984. Detection by ELISA of IgA and IgM antibodies in secretion and IgM antibodies in serum in primary lower respiratory syncytial virus infection, J Med Virol, 13(2):149-61.

https://www.researchgate.net/figure/Respiratory-syncytial-virus-RSV-proteins-antagonise-the-host-immune-response-The-high_fig2_267746601.

Hurst JR, Vestbo J, Anzueto A, et al. 2010. Susceptibility to exacerbation in chronic obstructive pulmonary disease. N Engl J Med, 363: 1128–1138.

ICTV Taxonomy history, 2019. Human orthopneumovirus. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV), https://talk.ictvonline.org/taxonomy/.

Jensen C, Johnson FB, 1994. Comparison of various transport media for viability maintenance of herpes simplex virus, respiratory syncytial virus, and adenovirus. Diagn Microbiol Infect Dis, 19: 137–142.

Johnson JE, Gonzales RA, Olson SJ, et al. 2007. The histopathology of fatal untreated human respiratory syncytial virus infection. Mod Pathol 20, 108.

Johnson S, Oliver C, Prince GA et al. 1997. Development of a humanized monoclonal antibody (MEDI-493) with potent in vitro and in vivo activity against espiratory syncytial virus, J Infect Dis 176(5):1215-24.

Johnson SM, McNally BA, Ioannidis I, et al. 2015. Respiratory syncytial virus uses CX3CR1 as a receptor on primary human airway epithelial cultures. Plos Pathogen, 11: e1005318.

Johnston SL, Pattemore PK, Sanderson G, et al. 1995. Community study of role of viral infections in exacerbations of asthma in 9-11 year old children. BMJ, 310: 1225–1229.

Johnston SL, Siegel CS, 1990. Evaluation of direct immunofluorescence, enzyme immunoassay, centrifugation culture, and conventional culture for the detection of respiratory syncytial virus. J Clin Microbiol, 28: 2394–7.

Jorquera PA, Anderson L, Tripp RA, 2016. Understanding respiratory syncytial virus (RSV) vaccine development and aspects of disease pathogenesis. Expert Rev Vaccines, 15: 173–187.

Josefsson A, Livak K, Gyllensten U, 1999. Detection and quantification of human papillomavirus by using the fluorescent 59exonuclease assay. J Clin Microbiol, 37: 490–496.

Kanra G, Tezcan S, Yılmaz G, 2005. Turkish National Respiratory Syncytial Virus (RSV) Team. Respiratory syncytial virus Epidemiology in Turkey. Turk J Pediatr, 47: 303-8.

Kapikian AZ, Morens DM and Fauci AS, 2010. In Memoriam: Robert M. Chanock, MD, 1924-2010. J Infect Dis 203: 3-5, 2011.

Karampatsas K, Kong J and Cohen J, 2019. Bronchiolitis: An update on management and prophylaxis. Br J Hosp Med (Lond) 80: 278-284.

Kaul TN, Wlliver RC,Wong DT, Udusadia RA, Riddlesberger K, Ogra PL, 1981. Secretory antibody response to respiratory syncytial virus infection, Am J Dis Child, 135(11):113-6.

Kepreotes E, Whitehead B, Attia J, Oldmeadow C, Collison A, Searles A, Goddard B, Hilton J, Lee M and Mattes J, 2017. High-flow warm humidified oxygen versus standard low-flow nasal cannula oxygen for moderate bronchiolitis (HFWHO RCT): An open, phase 4, randomised controlled trial. Lancet 389: 930-939.

Kim HW, Canchola JG, Brandt CD, et al. 1969. Respiratory syncytial virus disease in infants despite prior administration of antigenic inactivated vaccine. Am J Epidemiol, 422–434.

Kimberlin DW, Brady MT, Jackson MA, Long SS (eds). 2015. Red Book: 2015 Report of the Committee on Infectious Diseases. 30th edition. Elk Grove Village (IL): American Academy of Pediatrics.

Koutsaftiki C, 2019. MicroRNAs as potential bio-markers in children with RSV infection. Int J Mol Med 44: S32.

Koutsounaki E. 2019. The neonatal immune response to RSV infection: Advances in our understanding of viral and host cellular interactions. Int J Mol Med 44: S43.

Kubota M, Maeda H, Yoshimoto J, Kobayashi K, Usami I, Yamaoka K, 2005. Thrombocytosis at an early stage of respiratory tract viral infection. Acta Paediatr 94: 364-366.

Kuypers J, Wright N, Morrow R, 2004. Evaluation of quantitative and type-specific real-time RT-PCR assays for detection of respiratory syncytial virus in respiratory specimens from children. J Clin Virol, 31(2):123-9.

Lallemand F, Desire N, Rozenbaum W, Nicolas JC, Marechal V, 2000. Quantitative analysis of human herpesvirus 8 viral load using a real-time PCR assay. J Clin Microbiol, 38: 1404–1408.

Lee FE-H, Walsh EE, Falsey AR, 2011. The effect of steroid use in hospitalized adults with respiratory syncytial virus-related illness. Chest, 140: 1155–61.

Levine DA, Platt SL, Dayan PS, et al. 2004. Risk of serious bacterial infection in young febrile infants with respiratory syncytial virus infections. Pediatrics, 113, 1728.

Levine S, Kaliaber-Franco R, Paradiso PR, 1987. Demonstration that glycoprotein G is the attachment protein of respiratory syncytial virus. J Gen Virol, 68: 2521–4.

Li Y, Reeves RM, Wang X, Bassat Q, Brooks WA, Cohen C, Moore DP, Nunes M, Rath B, Campbell H, et al. 2019. RSV Global Epidemiology Network; RESCEU investigators: Global patterns in monthly activity of influenza virus, respiratory syncytial virus, parainfluenza virus, and metapneumovirus: A systematic analysis. Lancet Glob Health 7: e1031-e1045.

Locatelli G, Santoro F, Veglia F, Gobbi A, Lusso P, Malnati MS, 2000. Real-time quantitative PCR for human herpesvirus 6 DNA. J Clin Microbiol, 38: 4042–8.

Loeb K, Jerome K, Goddard J, Huang M, Cent A, Corey L, 2000. High-throughput quantitative analysis of hepatitis B virus DNA in serum using the TaqMan fluorogenic detection system. Hepatology, 32: 626–629.

Maltby S, Plank M, Tay HL, Collison A and Foster PS, 2016. Targeting microRNA function in respiratory diseases: Mini-review. Front Physiol 7: 21.

Mammas I, Koutsaftiki C, Tapaki-Papadopoulou G and Myriokefalitakis N, 2019. Respiratory syncytial virus (RSV) bronchiolitis and excessive thrombocytosis. Acta Paediatr 99: 489-490.

Mammas IN and Spandidos DA, 2019. Thrombocytosis and RSV infection in hospitalized children with bronchiolitis. Int J Mol Med 44: S31.

Mammas IN, Greenough A, Theodoridou M, Kramvis A, Rusan M, Melidou A, Korovessi P, Papaioannou G, Papatheodoropoulou A, Koutsaftiki C, et al. 2018. Paediatric Virology and its interaction between basic science and clinical practice (Review). Int J Mol Med 41: 1165-1176.

Mammas IN, Drysdale SB, Rath B, Theodoridou M, Papaioannou G, Papatheodoropoulou A, ... & Spandidos D A, 2020. Update on current views and advances on RSV infection. International Journal of Molecular Medicine, 46(2), 509-20.

Mazur NI, Martinón-Torres F, Baraldi E, et al. 2015. Lower respiratory tract infection caused by respiratory syncytial virus: current management and new therapeutics. Lancet Respir Med, 3: 1–13.

McConnochie KM, Hall CB, Walsh EE, Roghmann KJ, 1990. Variation in severity of respiratory syncytial virus infections with subtype. J Pediatr, 117, 52.

McIntosh K, 1993. Respiratory syncytial virus-successful immunoprophylaxis at last, N Engl J Med, 329(21):1572-4.

Meissner HC, Hall CB, 2014. Respiratory syncytial virus. In: Cherry JD, Harrison GJ, Kaplan SL, Steinbach WJ, Hotez PJ (eds). Feigin & Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases. 7th edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, p. 2407- 34.

Meissner HC, Ingelfinger JR, Meissner HC, 2016. Viral bronchiolitis in children. N Engl J Med, 374: 62–72.

Meissner HC, 2012. Respiratory syncytial virus. In: Long SS, Pickering LK, Prober CG (eds). Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases. 4th edition. Edinburg: Elsevier Saunders, p.1130-4.

Mesquita FDS, Oliveira DBL, Crema D, Pinez CMN, Colmanetti TC, Thomazelli LM, Gilio AE, Vieira SE, Martinez MB, Botosso VF, Durigon EL, 2017. Rapid antigen detection test for respiratory syncytial virus diagnosis as a diagnostic tool. J Pediatr (Rio J), 93(3): 246-52.

Meurman O, Ruuskanen O, Sarkkinen H, Hanninen P, Holonen P et al. 1984. Immunoglobulin class-spesific antibody response in respiratory syncytial virus infection measured by enzyme immunoassay, J MedVirol, 14 (1):67-72.

Mitra R, Baviskar P, Duncan-Decocq RR, et al. 2012. The human respiratory syncytial virus matrix protein is required for maturation of viral filaments. J Virol, 86: 4432–3.

Moyes J, Cohen C, Pretorius M, et al. 2013. Epidemiology of respiratory syncytial virus-associated acute lower respiratory tract infection hospitalizations among HIV-infected and HIV-uninfected South African children, 2010–2011. J Infect Dis, 208: Suppl. 3, S217 S226.

Mufson MA, Orvell C, Rafnar B, et al. 1985. Two distinct subtypes of human respiratory syncytial virus. J Gen Virol, 66: 2111–4.

Nair H, Nokes DJ, Gessner BD, et al. 2010. Global burden of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children: a systematic review and meta-analysis. Lancet, 375: 1545–55.

Nicholson EG and Munoz FM, 2018. A review of therapeutics in clinical development for respiratory syncytial virus and influenza in children. Clin Ther 40: 1268-1281.

Nicholson KG, Mc Nally T, Silverman M, Simons P, Stockton JD, Zambon MC, 2006. Rates of hospitalisation for influenza, respiratory syncytial virus and human metapneumovirus among infants and young children,Vaccine, 24(1):102-8

Nicolai T, Pohl A, 1990. Acute viral bronchiolitis in infancy: epidemiology and management, Lung, 168 (Suppl):396-405.

O'Brien KL, Chandran A, Weatherholtz R, et al. 2015. Efficacy of motavizumab for the prevention of respiratory syncytial virus disease in healthy Native American infants: a phase 3 randomised double-blind placebo-controlled trial. Lancet Infect Dis, 15: 1398–1408.

Openshaw PJM, 2002. Potential therapeutic implications of new insights into respiratory syncytial virus disease, Respir Res, 3(Suppl 1): S15-20.

Öz S, Altındiş M, 2018. Respiratuvar Sinsityal Virus. In: Temel Klinik ve Tanısal Tıbbi Viroloji. Eds: AltındişM, Özdemir M, Feyzioğlu B, 1. Basım. Ankara: Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. LTD. ŞTİ, p. 155-59.

Pollack P, Groothius JR, 2002. Development and use of palivizmab(Synagis):a passive immunoprophylactic agent for RSV J. Infect. Chemother, 8:201-206.

Papadopoulos NG, Gourgiotis D, Javadyan A, et al. 2004. Does respiratory syncytial virus subtype influences the severity of acute bronchiolitis in hospitalized infants? Respir Med, 98, 879.

Papatheodoropoulou A, 2019. High-flow warm humidified oxygen via nasal cannula and RSV-positive bronchiolitis among children admitted to PICU. Int J Mol Med 44: S30.

Parrott RH, Kim HW, Arrobio JO, et al. 1973. Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in Washington, DC, part II: infection and disease with respect to age, immunologic status, race, and sex. Am J Epidemiol, 98: 289-300.

Pelaez A, Lyon GM, Force SD, et al. 2009. Efficacy of oral ribavirin in lung transplant patients with respiratory syncytial virus lower respiratory tract infection. J Heart Lung Transplant, 28: 67–71.

Peret TC, Hall CB, Schnabel KC, et al. 1998. Circulation patterns of genetically distinct group A and B strains of human respiratory syncytial virus in a community. J Gen Virol, 79 (Pt 9), 2221.

Persson BD, Jaffe AB, Fearns R, et al. 2014. Respiratory syncytial virus can infect basal cells and alter human airway epithelial differentiation. Plos One, 9: e102368.

Piedra PA, 2003. Clinical experience with respiratory syncytial virus vaccines, Pediatr Infect Dis J, 22(Suppl 2):S94-9.

Precision vaccinations, 2019. ResVax Demonstrated Significant Vaccine Efficacy Against Infant Pneumonia Early in Life. Fact checked by Robert Carlson, Erişim adresi, https://www.precisionvaccinations.com/novavax-resvax-aluminum-adjuvanted-respiratory-syncytial-virus-fusion-protein-recombinant.

Purcell K, Fergie J, 2004. Concurrent serious bacterial infections in 912 infants and children hospitalized for treatment of respiratory syncytial virus lower respiratory tract infection. Pediatr Infect Dis J, 23: 267–9.

Ralston S, Hill V, Waters A, 2011. Occult serious bacterial infection in infants younger than 60 to 90 days with bronchiolitis: a systematic review. Arch Pediatr Adolesc Med, 165: 951-6.

Ralston S, Lieberthal A, Meissner H, et al. 2014. Clinical practice guideline: the diagnosis, management, and prevention of bronchiolitis. Pediatrics, 134: e1474–e1502.4.

Rechsteiner J, Winkler KC, 1969. Inactivation of respiratory syncytial virus in aerosol, J Gen Virol, 5:405-10.

Regnier SA, Huels J, 2013. Association between respiratory syncytial virus hospitalizations in infants and respiratory sequelae: systematic review and meta-analysis. Pediatr Infect Dis J, 32: 820-6.

Restori KH, Srinivasa BT, Ward BJ and Fixman ED, 2018. Neonatal immunity, respiratory virus infections, and the development of asthma. Front Immunol 9: 1249.

Rima B, Collins P, Easton A, Fouchier R, Kurath G, Lamb R A, ... & Wang L, 2017. ICTV virus taxonomy profile: Pneumoviridae. *Journal of General Virology*, *98*(12), 2912-2913.

Rossi GA, Silvestri M and Colin AA, 2015. Respiratory syncytial virus infection of airway cells: Role of microRNAs. Pediatr Pulmonol 50: 727-732.

Rudan I, Boschi-Pinto C, Biloglav Z, et al. 2008. Epidemiology and etiology of childhood pneumonia. Bull World Health Organ, 86: 408–416.

Schafer AI, 2004. Thrombocytosis. N Engl J Med 350: 1211-9.

Scheltema NM, Kavelaars XM, Thorburn K, Hennus MP, van Woensel JB, van der Ent CK, Borghans JAM, Bont LJ, Drylewicz J, 2018. Potential impact of maternal vaccination on life-threatening respiratory syncytial virus infection during infancy. Vaccine 36: 4693-4700.

Schmittgen TD, Zakrajsek BA, Mills AG, Gorn V, Singer MJ, Reed MW, 2000. Quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction to study mRNA decay: comparison of endpoint and real-time methods. Anal Biochem, 194–204.

Schroeder AR, Mansbach JM, Stevenson M, et al. 2013. Apnea in children hospitalized with bronchiolitis. Pediatrics, 132: e1194–e1201.

Schutten M, van den Hoogen B, van der Ende ME, Gruters RA, Osterhaus AD, Niesters HG, 2000. Development of a real-time quantitative RT-PCR for the detection of HIV-2 RNA in plasma. J Virol Methods, 88: 81–87.

Schwarze J, O'Donnell DR, Rohwedder A, et al. 2004. Latency and persistence of respiratory syncytial virus despite T cell immunity. Am J Respir Crit Care Med, 169: 801–805.

Shah JN, Chemaly RF, 2011. Management of RSV infections in adult recipients of hematopoietic stem cell transplantation. Blood, 117: 2755–63.

Shah PD, McDyer JF, 2010. Viral infections in lung transplant recipients. Semin Respir Crit Care Med, 31: 243–54.

Shaw Stewart PD, 2015. Seasonality and selective trends in viral acute respiratory tract infections. Med Hypotheses, 86: 104–19.

ShayDK,HolmanRC,RoosveltGE,Clarke MJ,Anderson LJ, 2001. Bronchiolitisassociated mortality and estimates of respiratory syncytial virus-associated deaths among US children, 1979-1997, J Infect Dis, 183(1):16-22.

Shi T, McAllister DA, O'Brien KL, Simoes EAF, Madhi SA, Gessner BD, Polack FP, Balsells E, Acacio S, Aguayo C, et al. 2017. RSV Global Epidemiology Network: Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children in 2015: A systematic review and modelling study. Lancet 390: 946-958.

Sigurs N, Aljassim F, Kjellman B, et al. 2010. Asthma and allergy patterns over 18 years after severe RSV bronchiolitis in the first year of life. Thorax, 65: 1045–52.

Simoes EA, 1999. Respiratory syncytial virus infection. Lancet, 354: 847–52.

Simões EAF, DeVincenzo JP, Boeckh M, et al. 2015. Challenges and opportunities in developing respiratory syncytial virus therapeutics. J Infect Dis, Suppl. 1, S1–S20.

Simoes EAF, 2003. Environmental and demographic risk factors for respiratory syncytial virus lower respiratory tract disease. J Pediatr, 143: Suppl., S118–S126.

Smyth RL, Openshaw PJM, 2006. Bronchiolitis. Lancet, 368: 312–322.

Sommer C, Resch B, Simões EAF, 2011. Risk factors for severe respiratory syncytial virus lower respiratory tract infection. Open Microbiol J, 5: 144–54.

Stein RT, Sherrill D, Morgan WJ, et al. 1999. Respiratory syncytial virus in early life and risk of wheeze and allergy by age 13 years. Lancet, 354: 541-5.

Stensballe LG, Ravn H, Kristensen K, et al. 2009. Seasonal variation of maternally derived respiratory syncytial virus antibodies and association with infant hospitalizations for respiratory syncytial virus. J Pediatr 154, 296.

Sullender WM, 2000. Respiratory syncytial virus genetic and antigenic diversity. Clin Microbiol Rev, 13: 1–15.

Sundaram ME, Meece JK, Sifakis F, et al. 2014. Medically attended respiratory syncytial virus infections in adults aged ⩾50 years: clinical characteristics and outcomes. Clin Infect Dis, 58: 342–9.

Tahan F, Ozcan A, Koc N, 2007. Clarithromycin in the treatment of RSV bronchiolitis: a double-blind, randomised, placebo-controlled trial. Eur Respir J, 29: 91–7.

Tan L, Lemey P, Houspie L, et al. 2012. Genetic variability among complete human respiratory syncytial virus subgroup A genomes: bridging molecular evolutionary dynamics and epidemiology. PLoS One ,27: e51439.

Tang JW, Loh TP, 2014. Correlations between climate factors and incidence – a contributor to RSV seasonality. Rev Med Virol, 24: 15–34.

Theodoridou M, 2019. RSV and precision medicine: Time for a more precise approach to diagnosis, treatment and prevention. Int J Mol Med 44: S32.

Thompson WW, Shay DK, Weintraub E, et al. 2003. Mortality associated with influenza and respiratory syncytial virus in the United States. JAMA, 289: 179–86.

Thorburn K, Kerr S, Taylor N, et al. 2004. RSV outbreak in a paediatric intensive care unit. J Hosp Infect,57: 194–201.

Thornburg NJ, Hayward SL and Crowe JE JR, 2012. Respiratory syncytial virus regulates human microRNAs by using mechanisms involving beta interferon and NF-κB. MBio 3: e00220-e12.

Toms GL, Scott R, 1987. Respiratory syncytial virus and the infant immune response, Arch Dis Child, 62(6):544-6.

Toms GL, Scott R, 1987. Respiratory syncytial virus and the infant immune response, Arch Dis Child 1987;62(6):544-6.

Tran DN, Trinh QD, Pham NTK, et al. 2015. Clinical and epidemiological characteristics of acute respiratory virus infections in Vietnamese children. Epidemiol Infect, 144: 1–10.

Tregoning JS, Schwarze J, 2010. Respiratory viral infections in infants: causes, clinical symptoms, virology, and immunology. Clin Microbiol Rev, 23: 74–98.

Turkish Neonatal Society. 2012. The seasonal variations of respiratory syncytial virus infections in Turkey: a 2-year epidemiological study. Turk J Pediatr, 54:216–22.

Turner T, Wilkinson F, Harris C, et al. 2008. Evidence based guideline for the management of bronchiolitis. Aust Fam Phys, 37: 6–13.

Van Miert C, Fernandes RM, Eccleson H, Bedson E, Lane S, Peak M, Thorburn K, Compton V, Woolfall K, Lacy D, et al. 2018. Non-invasive ventilation for the management of children with bronchiolitis (NOVEMBR): A feasibility study and core outcome set development protocol. Trials 19: 627.

Varricchi G, Harker J, Borriello F, Marone G, Durham SR and Shamji MH, 2016. T follicular helper (Tfh) cells in normal immune responses and in allergic disorders. Allergy 71: 1086-1094.

Vathanophas K, Sangchai R, Raktham S et al. 1990. A community-based study of acute respiratory tract infection in Thai children, Rev Infect Dis, 12(Suppl 8):S957-65.

Verboon-Maciolek MA, Krediet TG, Gerards LJ, Fleer A, van Loon TM, 2005. Clinical and epidemiologic characteristics of viral infections in a neonatal intesive care unit during a 12 year period, Pediatr Infect Dis J, 24(10):901-4.

Wald TG, Miller BA, Shult P, et al. 1995. Can respiratory syncytial virus and influenza A be distinguished clinically in institutionalized older persons? J Am Geriatr Soc, 43: 170–4.

Walsh EE, McConnochie KM, Long CE, Hall CB, 1997. Severity of respiratory syncytial virus infection is related to virus strain. J Infect Dis, 175, 814.

Wang EE, Law BJ, Stephens D, 1995. Pediatric Investigators Collaborative Network on Infections in Canada (PICNIC) prospective study of risk factors and outcomes in patients hospitalized with respiratory syncytialviral lower respiratory tract infection, J Pediatr, 126(2):212-9.

Weigt SS, Gregson AL, Deng JC, et al. 2011. Respiratory viral infections in hematopoietic stem cell and solid organ transplant recipients. Semin Respir Crit Care Med, 32: 471–93.

Welliver RC, 2003. Respitatory syncytial virus and other respiratory viruses, Pediatr Infect Dis J, 22(Suppl 2):S6-12.Welliver RC, Kaul TN, Putnam TI, Sun M, Riddlesberger K, Ogra PL, 1980. The antibody response to primary and secondary infectionwith respiratory syncytial virus: Kinetics of class-spesific responses, J Pediatrics, 96(5):808-13.

Welliver RC, 2003. Respitatory syncytial virus and other respiratory viruses, Pediatr Infect Dis J, 22(Suppl 2): S6-12.

WohlMEB: Bronchiolitis, ChernickV, BoatTF (eds). 1998. Kendig'sDisorders of the Respiratory Tract in Children" kitabında s.473-85, Saunders Company, Philadephia.

Wright M, Piedimonte G, 2011. Respiratory syncytial virus prevention and therapy: past, present and future. Pediatr Pulmonol, 46: 324-47.

Wu W, Munday DC, Howell G, et al. 2011. Characterization of the interaction between human respiratory syncytial virus and the cell cycle in continuous cell culture and primary human airway epithelial cells. J Virol, 85: 10300–9.

Xing Y and Proesmans M, 2019. New therapies for acute RSV infections: Where are we? Eur J Pediatr 178: 131-138.

Yılmaz G, Uzel N, Işık N, Baysal SU, Aslan S, Badur S, 1999. Viral lower respiratory tract infections in children in Istanbul, Turkey, Ped Infect Dis J, 18(2):173.

Yurdakok M, 2012. Turkiye'de respiratuvar sinsityal virus enfeksiyonlarının mevsimsel ozellikleri: iki yıllık epidemiyolojik calışma. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi, 55: 1-8.

Yoshihiko Murata, 2009. Respiratory Syncytial Virus Vaccine Development. Clin Lab Med, 29(4): 725–739.

Zambon MC, Stockton JD, Clewley JP, et al. 2001. Contribution of influenza and respiratory syncytial virus to community cases of influenza-like illness: an observational study. Lancet, 358: 1410–6.

Zheng SY, Xiao QY, Xie XH, Deng Y, Ren L, Tian DY, Luo ZX, Luo J, Fu Z, Huang AL, et al. 2016. Association between secondary thrombocytosis and viral respiratory tract infections in children. Sci Rep 6: 22964.

EK B: Onam Formu Örneği

KATILIMCILAR İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

(0-2 yaş çocuklar için Ebeveyn onayı)*

Sizi "**Çocuklarda RSV tanısında kullanılan hızlı antijen ve Real Time PCR testilerinin performanslarının karşılaştırılması.**" başlıklı araştırmaya davet ediyoruz. Bu çalışmanın amacı solunum yollarında hastalık yapan Solunum Yolu Sinsityal virusu'nun tanısında iki farklı yöntemi karşılaştırmak amaçlanmıştır. Bu çalışmaya katılmak tamamen gönüllülük esasına dayanmaktadır. Çalışmaya katılmama veya katıldıktan sonra herhangi bir anda çalışmadan çıkma hakkına sahipsiniz. Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır. Çalışmadan elde edilecek bilgiler tamamen araştırma amacı ile kullanılacak olup, kişisel bilgileriniz gizli tutulacaktır.

Çalışmanın amacı nedir, benden başka kaç kişi bu araştırmaya katılacak?

Bu çalışmada 0-2 yaş grubunda alt solunum yolu enfeksiyonu tanısı ile başvuran çocuklardan solunum yolu örneklerinden hastalık yapan Solunum Yolu Sinsityal virusu'nun tanısında bir ucuz birde pahalı iki testi karşılaştırıp tanıdaki isabet oranlarını saptamayı amaçlamaktayız. Bu amaçla hastanızdan sadece burun sürüntü örneği alınacaktır.

Çalışma süresi ne kadardır?

Çalışmaya katıldığınız takdirde çocuğunuzdan bir defalık örnek alınacaktır. Çalışmaya katılın katılımcılar arasında RSV testi pozitif çıkan sayı 100'e ulaştığında çalışma sonlandırılacaktır. Çalışma 2018 yılı içinde tamamlanması planlanmıştır. Alınan örnekler yurt dışına gönderilmeyip kendi laboratuvarlarımızda çalışma ekibimiz tarafından çalışılıp değerlendirilecektir.

Çalışmanın işlemleri nedir?

Çalışmaya katılmayı kabul ettiğiniz takdirde çocuğunuzdan hastalığa neden olabilecek viral etkeni saptayabilmek için sadece burun sürüntüsü örneği alınacaktır.

Bu çalışmaya katılmalı mıyım?

Bu çalışmada yer alıp almamak tamamen size bağlıdır. Şu anda bu formu imzalasanız bile istediğiniz herhangi bir zamanda bir neden göstermeksizin çalışmayı bırakmakta özgürsünüz.

Bu çalışmaya katılırsam beni ne bekliyor?

Çalışma için çocuğunuzdan solunum yolu sürüntü (burundan) örneği alınacaktır. Bunun dışında sizden ya da bebeğinizden bu anda ya da çalışmanın ilerleyen dönemlerinde herhangi bir talepte bulunulmayacaktır.

Çalışmanın riskleri ve rahatsızlıkları var mıdır?

Bebeğinizin can güvenliğini ve sağlığını tehlikeye sokacak hiç bir müdahale yapılmayacaktır.

Çalışmada yer almamın yararları nelerdir?

Çalışmaya dahil olmanız durumunda yapılacak analizler sonucunda bu enfeksiyonu yapan RSV'nin tanısında ucuz ve pahalı iki testin karşılaştırılması ile çıkan sonuçlar doğrultusunda tanıda öncelikte tercih edilmesi gereken testin hangisi olması gerektiği hakkında hekimlerimize bilimsel veri aktarılmış olacaktır.

Kişisel bilgilerim nasıl kullanılacak?

Bu formu imzalayarak araştırmaya katılım için onay vermiş olacaksınız. Bununla birlikte kimlik bilgileriniz çalışmanın herhangi bir aşamasında açıkça kullanılmayacaktır. Araştırma süresince edinilen her türlü bilgi yalnızca bilimsel amaçlar için kullanılacaktır.

Daha fazla bilgi/soru/problem için kime başvurabilirim?

Çalışma ile ilgili ek bilgiye gereksiniminiz duyduğunuzda Doç. Dr. Muhammet Güzel KURTOĞLU (0332 221 00 00 – 2027 iç hat).

KATILIMCI BEYANI

"**Çocuklarda RSV tanısında kullanılan hızlı antijen ve Real Time PCR testilerinin performanslarının karşılaştırılması**" başlıklı araştırmanın yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler aşağıda ismi belirtilen araştırmacı tarafından sözlü ve yazılı olarak tarafıma aktarılmıştır. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya katılımcı olarak davet edildim. Bu çalışmaya katılmayı kabul ettiğim takdirde gerek araştırma yürütülürken gerekse yayımlandığında kimliğimin gizli tutulacağı konusunda güvence aldım. Çocuğuma ait verilerin kullanımına izin veriyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin dikkatle korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi. Araştırmanın yürütülmesi esnasında istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi biliyorum. Araştırma için yapılacak

harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana herhangi bir ödeme de yapılmayacaktır. Araştırma ile ilgili bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Bu çalışmaya hiçbir baskı altında kalmadan kendi bireysel onayım ile gönüllü olarak katılıyorum.

***Katılımcının Ebeveyni**

Adı-Soyadı:	**Araştırmacı Adı Soyadı:**
Adres:	**Adres:**
Telefon:	**Telefon:**
İmza:	**İmza**
Tarih:	**Tarih:**

**Yasa gereğince 0-12 yaş arası çocuklarda sadece ebeveyn onayı alınması gerekir.*