

Detection of respiratory pathogens in lower respiratory tract infections by multiplex real time PCR in Kocaeli/Istanbul region in 2015-2017

2015-2017 yıllarında Kocaeli/İstanbul illerinde alt solunum yolu enfeksiyonları etkenlerinin multipleks real time PCR ile belirlenmesi

Melda ÖZDAMAR , Salih TÜRKOĞLU 

ABSTRACT

Aim: As very important causes of morbidity and mortality, lower respiratory tract infections lead the way among important problematic issues of medicine. Data gathered using modern diagnostic tools have promoted us to rapidly understand and control these infections. Revealing the variety and frequency of the disease-causing microorganisms will make us head towards a different direction from previous years in diagnosis, treatment and control measures.

Methods: Twenty-one viral respiratory pathogens were identified from the 283 nasopharyngeal aspirates of the patients who had lower respiratory tract infection using Fast Track FTD Respiratory 21 kit (Fast Track Diagnosis, Luxembourg) between the years 2015-2017.

Results: One or more than one pathogen were discovered in 236 of 283 specimens (83.45%). The most frequent pathogens were Rhinovirus, Adenovirus, Influenza A and B, Respiratory Syncytial Virus A/B, Human metapneumovirus A/B and Parainfluenza 1.

Conclusion: Accurate, and effective treatment of the patients was provided using the tests yielding results within 16-24 hours. Thanks to "improvement" in hospital stay, initiation of an appropriate antimicrobial therapy in time, and taking infection control measures in association with identification of the causative agent, significant contribution to economy, and more importantly a big advancement was made in correct clinical and epidemiological practice. Providing more comprehensive, easily affordable, user-friendly tests yielding rapid and correct results, is the next step ahead us. Incorporation of these tests by health insurances and social security institutions should be on the agenda as a complementary step and should facilitate health professionals' work in improving patients' health levels.

Keywords: Multiplex real time-PCR, virus, respiratory tract infections, respiratory pathogens

Received: 04.04.2018

Accepted: 12.07.2018

Anadolu Medical Center, Clinical Microbiology Laboratory, Kocaeli, Turkey

Yazışma adresi: Melda Özdamar, Anadolu Medical Center, Clinical Microbiology Laboratory, Kocaeli, Turkey

e-mail: melda.ozdamar@gmail.com

Yazarların ORCID bilgileri:

M.Ö. 0000-0003-3532-9255, S.T. 0000-0001-9761-0451

ÖZ

Amaç: Alt solunum yolu enfeksiyonları çok önemli bir hastalık ve ölüm nedeni olarak tıbbın önemli sorunları arasında başta gelmektedirler. Güncel tanı yöntemlerini kullanarak elde edilen veriler bu enfeksiyonları kontrol ve tedavide çok hızlı yol almamıza yol açmaktadırlar. Hastalık etkeni mikroorganizmaların çeşitliliği ve sıklığının doğru bir şekilde ortaya çıkarılması, tanı, tedavi ve kontrolde önceki yıllar ve uygulamalardan farklı bir yöne doğru gidebilmemizi sağlayacaklardır.

Yöntem: Hastaların nazofaringeal aspirasyon sıvılarında 2015-2017 yıllarında 283 örnekte 21 viral solunum patojeni, Fast Track FTD Respiratory pathogens 21 (Fast Track Diagnosis, Luxembourg) ile araştırılmıştır. Hastaların tamamı alt solunum yolu enfeksiyonu tanısı ile takip edilenlerdir.

Bulgular: Toplam 283 örneğin 236'sında bir ya da daha fazla etken ortaya çıkmıştır (%83,45). En sık etkenler, Rhinovirus, Adenovirus, İnfluenza A ve B, Respiratuvar sinsiyal virüs A/B, Human metapneumovirus A/B ve Parainfluenza 1 olmuştur.

Sonuç: Hastaların doğru ve etkili tedavisi 16-24 saat arasında sonuçlanan testler ile sağlanmıştır. Gerek hastanede yatış sürelerinde "düzelmeye", gerekse uygun antimikrobiyal tedavinin zamanında başlaması ve etkenin bilinmesi ile bağlantılı kontrol önlemlerinin alınması sayesinde ciddi ekonomik katkının yanında, daha önemlisi, doğru klinik ve epidemiyolojik uygulama ile ilgili önemli yol alınmıştır. Hızlı ve doğru sonuç veren daha kapsamlı testlerin ortaya çıkması, uygun maliyetle sağlanması ve basitçe kullanılabilir olması bir sonraki aşama olarak karşımızda durmaktadır. Sağlık sigortaları ve sosyal güvenlik kurumlarının bu testleri kapsamalarına almaları tamamlayıcı bir aşama olarak gündemde olmalı ve hastaların sağlığını üst düzeye taşımada sağlık profesyonellerinin işini kolaylaştırmalıdır.

Anahtar kelimeler: Multipleks real time PCR, virus, solunum yolu enfeksiyonu, solunum patojeni

GİRİŞ

Alt solunum yolu enfeksiyonları, dünyada hastalık ve ölüme en çok yol açan, önlenabilir ve tedavi edilebilir hastalık grubudur. Çocuklarda alt solunum yolu enfeksiyonları ise çocuk hasta grubundaki en önemli hastalık olup, çocuklardaki başta gelen ölüm nedenidir. Dünyada her yıl 165 milyon hastalık ve buna bağlı olarak, 0-4 yaş grubundan 2,1 milyon çocuk kaybedildiği bildirilmiştir¹. Solunum yolu enfeksiyonu klinik olarak çok benzer hastalığa yol açmakta, etkenlere özel bir belirti ya da bulgu bulunmamaktadır. Başta grip ve soğuk algınlığı olmak üzere, belli “belirti grupları” bir etken düşündürmekle birlikte, laboratuvarla özel testler ile ismi konmadıkça tanıyı etken bazında koymak olası olmamaktadır. Grip hastalığının yoğun olduğu mevsimde, belli hasta gruplarında ve hastalığın ciddiyetiyle orantılı olarak klinik tanı yeterli olmakla birlikte, özellikle küçük çocuk yaş grubunda bu durum klinik olarak zordur ve duyarlılığı ile performansı yüksek, çeşitli grup mikroorganizmaları tek seferde ve hızla saptayan testlere başvurmak kaçınılmaz hale gelmiştir. Doğru mikroorganizmayı saptayıp doğru tedavi yapmak sayesinde gereksiz antibiyotik kullanımı gibi çok önemli bir hedef de, bakteriyel direncin en önemli sorunlardan birisi olduğu günümüzde çok önemlidir ve en son, Türkiye Cumhuriyeti’nin ilgili kurumları buna bununla baş etmek için ciddi bir çaba içerisine girmişlerdir^{2,3}. Viral hastalıklar içinde ise grip hastalığına yönelik spesifik tedavilerin olması bu konuda da doğru ve hızlı tanıyı gündemde tutmaktadır. Bakteriyel hastalıklar için hem antibiyotik duyarlık durumunu verebilmesi hem de yüksek duyarlılığı ile kültür yöntemleri önemini korurken, viral hastalıkların tanısında, hızlı testlerin yeterli olmayan duyarlılıkları, kültür ve direkt floresan antikor (DFA) gibi antijen testlerinin güçlükleri, her yerde uygulanamaz olmaları ve iş yoğun olmaları gibi nedenlerle kullanılmaları hep sınırlı kalmıştır. Ortaya çıkan nükleik asit çoğaltma yöntemleri, ilk olarak yüksek duyarlılık ve hız getirmiş, şimdi ise, birçok patojeni aynı anda test edebilme olanağı sağlamışlardır^{4,5}. Bu çalışmada, Adenovirus, Bocavirus, Coronavirus 229E, Coronavirus HKU1, Coronavirus NL63, Coronavirus OC43, Enterovirus, Human metapneumovirus A/B, İnfluenza

za A, İnfluenza A (H1N1), İnfluenza B, Mycoplasma pneumoniae, Parainfluenza 1, Parainfluenza 2, Parainfluenza 3, Parainfluenza 4, Parechovirus, Respiratuvar sinsityal virusA/B, Rhinovirus tek bir test (tek bir nükleik asit eldesi aşamasını takiben çoklu PCR) ile 21 etken araştırılmıştır⁶. Daha sıklıkla alt solunum enfeksiyonu tanısı ile yatan hasta grubuna 2015-2017 yıllarında kış mevsiminde uygulanmış olan bu testlerle elde edilen sonuçlar bu çalışmada daha çok mikroorganizmaların sıklığı bazında ele alınmıştır. Hastaneye yatış, gereksiz tedavileri önleme ve kontrol gibi önemli-temel epidemiyolojik verilere olumlu katkıları bilinmektedir ama veriler bu çalışmada yer almamaktadır. Gerek maliyet, gerekse buna bağlı olarak sosyal güvenlik ile ilgili veriler, testin uygulanabildiği hastalar ve ilgili demografik veriler ele alınmış, teknik olarak altyapı ve bilgi birikimi gibi öğeler tartışılmak istenmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Toplam 283 örnekte, 2015-2017 yıllarında 21 virus Fast Track FTD Respiratory pathogens 21 (Fast Track Diagnosis, Luxembourg) kiti ile (Adenovirus, Bocavirus, Coronavirus 229E, Coronavirus HKU1, Coronavirus NL63, Coronavirus OC43, Enterovirus, Human metapneumovirus A/B, İnfluenza A, İnfluenza A (H1N1), İnfluenza B, Mycoplasma pneumoniae, Parainfluenza 1, Parainfluenza 2, Parainfluenza 3, Parainfluenza 4, Parechovirus, Respiratuvar sinsityal virüs A/B, Rhinovirus) araştırılmıştır. Hastaların tamamı özel sağlık sigortalı olarak alt solunum yolu enfeksiyonu tanısı alan ve yatırılarak takip edilen hastalardır. Çoğunluğu çocuk olan (16 yaş altında, s: 251) hastalardır. Solunum yolu enfeksiyonu tanısı alan hastaların nazofaringeal aspirasyon (NFA) sıvıları alınarak 30 dakika içerisinde mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırılmışlardır. Test yapılarına dek +4 derecede saklanan örneklerin en geç 16 saat içerisinde Qiagen EZ1 Virus Mini Kit v2.0 (Qiagen, Hilden, Germany) ile nükleik asit eldeleri yapılmış ve Rotor Gene Q Real-Time PCR Cihazı (Qiagen, Hilden, Germany) kullanılarak nükleik asit amplifikasyonu ve identifikasyonu yapılmıştır⁷. Sonuçların kliniklere bildirimini takiben hastaların tedavileri düzenlenmiştir. Hastaların 30’unun NFA ör-

neklerinde A grubu streptokok antijen testi de uygulanmıştır. Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi için SPSS Windows versiyon 21 (Armonk, NY: IBM Corp.) kullanılmıştır. Test sonuçlarına göre cinsiyet açısından farklılık değerlendirilmesi için bağımsız grup t testi (independent samples t test), yaş grupları arasındaki farklılık değerlendirilmesi için ki-kare testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık için p değeri <0,05 olarak kabul edilmiştir. Çalışma, Anadolu Sağlık Merkezi Etik Kurulu'ndan "ilaç dışı araştırma" olarak, 10. 01. 2018 tarihinde, "ASM-EK-17/68" sayı numarası ile onay alınarak hazırlanmıştır.

BULGULAR

Hastalardan alınan 283 örneğe moleküler multipleks real-time PCR testi uygulanmıştır. Bunların 236 tanesinde (%83,4) etken saptanabilmiş, 47'sinde (%16,6) saptanamamıştır. Örneklerin 186 tanesinde (%78,9) tek bir etken, 50'sinde (%21,1) çoklu etken saptanmıştır (48 tanesinde 2, 2 tanesinde 3 etken bir arada). Rhinovirus, Adenovirus, Respiratuvar sinsityal virus A/B, Bocavirus, İnfluenza A, Human metapneumovirus A/B, İnfluenza B, Parainfluenza 1 en sık rastlanan etkenler olmuşlardır (Tablo 1). Rhinovirus, Adenovirus, Bocavirus, Respiratuvar sinsityal virüs A/B en sık çoklu enfeksiyonda rol alan etkenler olarak ortaya

Tablo 1. Saptanan etkenlerin rastlanma sıklığı.

	Tek etken	İkili koenfeksiyon	Üçlü koenfeksiyon	Toplam
Rhinovirus	44	19		63
Adenovirus	38	21		59
İnfluenza A (H1N1 10)	18	4		22
İnfluenza B	14	3	1	18
Respiratory syncytial virus A/B	17	11	1	29
Human metapneumovirus A/B	16	3		19
Parainfluenza 1	10	1		11
Bocavirus	9	13	2	24
Parainfluenza 3	5	4		9
Enterovirus	4	1		5
Coronavirus HKU1	3	1	1	5
Coronavirus NL63	3	4		7
Coronavirus 229E	2	2		4
Parainfluenza 2	2	0		2
Coronavirus OC43	2	3		5
Parainfluenza 4	0	5	1	6

çıkarken, iki hastada sırası ile Bocavirus/İnfluenza B/ Parainfluenza 4 ile Bocavirus/Coronavirus HKU1/Respiratuvar sinsityal virüs A/B etkenlerinin üç tanesi bir arada saptanmışlardır. Yine, Adenovirus/Rhinovirus ve Respiratuvar sinsityal virüs A/B-Rhinovirus ikili etken enfeksiyonlarda karşımıza en sık çıkan ikililer olmuşlardır (Tablo 2, 3, 4).

Tablo 2. Koenfeksiyon sıklığı.

Koenfeksiyon	Hasta sayısı
2 virus	48
3 virus	2

Tablo 3. İkili koenfeksiyon etkenleri.

İkili koenfeksiyonlar	Hasta sayısı
Adenovirus-Rhinovirus	9
Adenovirus -Bocavirus	3
Adenovirus/İnfluenza B	2
Respiratory syncytial virus A/B-Rhinovirus	4
Respiratory syncytial virus A/B-Bocavirus	3
Coronavirus HKU1/Human metapneumovirus A/B	1
Adenovirus/Human metapneumovirus A/B	2
Adenovirus/Parainfluenza 3	1
Coronavirus OC43/İnfluenza A	1
Parainfluenza 1/Rhinovirus	1
Adenovirus/Coronavirus NL63	1
Bocavirus/Parainfluenza 4	1
İnfluenza B/Respiratory syncytial virus A/B	1
Coronavirus OC43/Bocavirus	1
Bocavirus/ İnfluenza A	2
Coronavirus NL63/Parainfluenza 3	1
Coronavirus 229E/Bocavirus	1
Adenovirus/Parainfluenza 4	1
Coronavirus 229E/İnfluenza A	1
Enterovirus/Parainfluenza 4	1
Rhinovirus/Bocavirus	1
Parainfluenza 3/Parainfluenza 4	1
Coronavirus NL63/Respiratory syncytial virus A/B	1
Rhinovirus/Coronavirus OC43	1
Respiratory syncytial virus A/B-Adenovirus	2
Coronavirus NL63/Rhinovirus	1
Bocavirus/Mycoplasma pneumoniae	1
Rhinovirus/Parainfluenza 4	1
Rhinovirus/Parainfluenza 3	1

Tablo 4. Üçlü koenfeksiyon etkenleri.

Üçlü koenfeksiyonlar	Hasta sayısı
Bocavirus - İnfluenza B-Parainfluenza 4	1
Bocavirus - Coronavirus HKU1-Respiratuvar sinsityal virus A/B	1

Paralel olarak 30 hastada A grubu streptokok antijen testi de uygulanmıştır. Bunlardan bir tanesi “pozitif” sonuç vermiştir, aynı hastada Rhinovirus testi de pozitif elde edilmiştir.

Yaşlara göre bakıldığında, başlıca çocuk yaş grubu ile ilgili veriler olduğu, çok az sayıda erişkin hasta olduğu görülmektedir. Yapılan testlerin %67,8’inin 1-5 yaş grubuna (s: 192), bir üst yaş katıldığında %83,7’sinin 1-11 yaş grubuna ait olduğu (s: 234) görülmektedir. İstatistik olarak yüksek kabul edebileceğimiz bir sayı ifade ettikleri için de pozitiflik oranlarına bakıldığında, bu grupta, %88’e varan bir oranda etkenlerin ortaya konabildikleri görülmektedir (Tablo 5). Az sayıda orta yaş üzeri erişkinde (s. 10) etkenlerin ortaya konulabilme oranları %30’dur. Yaş grupları bakımından alt solunum yolu viral hastalıklarına yakalanan hasta sayısı yüzdeleri değerlendirilmiş, $p < 0,001$ sonucu elde edilmiştir. Tablo 5’teki yaş gruplamaları yüzdelelerinden açısından anlamlı fark olduğu saptanmıştır. Fark yaratan gruplar çıkartılıp yine analiz edildiğinde 12 yaş altı grubundaki hastalar arasında viral solunum yolu hastalıklarına yakalanma bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,929$). On iki yaş altı gruplarda toplam pozitiflik oranı %97’dir, bu yaş grubunda viral solunum yolu hastalığına yakalanma oranı erişkin yaş grubuna göre daha fazladır.

Tablo 5. Farklı yaş gruplarında enfeksiyon saptanma oranları.

	Negatif (%)	Pozitif (%)	Toplam
1 yaş altı	5 (17)	26 (83)	31
1-5 yaş arası	26 (14)	166 (86)	192
6 yaş 11 yaş	5 (12)	37 (88)	42
12 yaş 23 yaş	4 (50)	4 (50)	8
36 yaş 95 yaş	7 (70)	3 (30)	10
Toplam	47	236	283

Ancak test sonuçlarına göre cinsiyet grupları arasında etkenlerin pozitifliği açısından anlamlı bir fark yoktur ($p=0,170$).

TARTIŞMA

Mikroorganizmaların moleküler testler dediğimiz testlerle, yani genomları hedef alınarak ve nükleik asit çoğaltma yöntemleri kullanılarak çoğaltılması

ile enfeksiyon hastalıkları tanısına birkaç, çok önemli katkı gelmiştir. Bunlar, tanısı güç olan ve konvansiyonel yöntemler ile elde edilemeyenlerin (örneğin, kültürü hiç yapılamayan ya da çok zor olan viruslar) saptanabiliyor olması; çok düşük miktarlarda mikroorganizmanın bile saptanabilmesi (duyarlılık artışı) ve son yıllarda da, birçok etkenin aynı anda ve hızlı saptanabilmesi olarak sıralanabilirler.

Alt solunum yolu enfeksiyonları, çok yaygın olmaları, önemli hastalık ve ölüm nedeni olmaları ile tanı ve tedavileri çok önemli bir grup enfeksiyondur. Belirti olarak belli bir etkenin farkı olmadığı düşünüldüğünde klinik olarak spesifik tanı konması, belli bir mevsimsel/salgınsal ve epidemiyolojik yönelim olmadığı olası değildir. Etkenlerin doğru ve zamanında saptanması ile, bakteriyel ve viral enfeksiyonu ayırımı yapılabilmekte, ampirik olarak kullanılan ve çoğu kez gereksiz ve uzun süren antibiyotik tedavilerinin yüksek maliyetlerinin ve direnç sorununun önüne geçilebilmektedir. Etkenlerin ortaya konması, klinik yararlığın yanında, genel ve lokal anlamda epidemiyolojik olarak çok önemli olup, etkenin köken aldığı yer ve yayılmasından kişilerin izole edilmesine kadar birçok değerli veri üretilmesini sağlamakta ve hastalığı daha iyi anlamamızı sağlarken yaşamsal sorunlara çözüm getirmemizi de sağlamakta, en azından daha başında olduğumuz bu süreçte önemli yol gösterici olmaktadır. Tıbbi anlamda birkaç seviye yukarı çıkmamıza neden olacak bu gelişmelerde insan sağlığı ve hayatının yanında ekonomik olarak da önemli getiriler elde edilme potansiyeli çok yüksek olmaktadır. Antibiyotik kullanımının azaltılması ile ekonomik olarak direkt bir kazanım sağlanmakla birlikte, tüm dünyada sorun olan direnç gelişiminin ve yayılmasının önlenmesine katkı yaparak da önemli sorunlara ciddi katkılar sağlanabilecektir⁸.

Bu bağlamda, testlerin maliyetleri ve geri ödemeleri de önemli bir sorun olarak durmaktadır. Bu çalışmaya bakıldığında, elde edilen veriler dikkat çekicidir. Öncelikli olarak vurgulanması gereken şey en rasyonel davranış paterni ile yola çıkılmış olmasıdır ve bu birçok açıdan belirleyici olmuştur. Yirmibir viral etkenin saptandığı bir testin maliyeti yüksektir ve henüz

sosyal güvenlik sisteminde bunu karşılayacak bir düzenleme tam olarak yer almamaktadır. Özel bir hastanede (özellikle alt) solunum yolu enfeksiyonu tanısı ile yatırılan hastalara bu testi uygulayabilmek ancak özel sigorta şirketlerini bu konuda işin içine katabilmekle olmuştur. Bu yıllar almıştır, ancak başarılıdır (özel hastane çalışma şekli, hastaların çok farklı sosyal güvenlik sistemlerinde gelmesi, yabancı uyruklu hastalar ve çeşitli çok farklı kurum anlaşmaları ile yürümesi ile karmaşık ve farklıdır). Bu testlerin çok daha geniş kapsamda yapılamamış olması ile ilgili bu tarz sınırlamalar olduğunu akılda tutarak verilere bakıldığında, dikkatli bir klinik seçimle hasta gruplarının çoğunda belirli bir etken ortaya konulabilmiştir. Kullanılan kitin belli sınırları olduğu, ancak belli sayıda mikroorganizmayı saptayabildiği, piyasada buna benzer ve daha çeşitli kitler bulunabildiği ve yine, başlıca maddi sınırlar ve belli lojistik durumlardan dolayı bu yeğlemede kalındığı göz önünde tutulmalıdır. Özellikle 1-5 yaş grubunda %86 oranında hastada etken ortaya konulabilmiştir. Tanı süresi, örnek sabah gelirse aynı gün, daha geç gelirse ertesi günün öğlen saatleri gibi sonuç alındığı düşünülürken ortalama olarak yaklaşık 16 saattir. Bu, klinik olarak verilecek yanıtın doğru oluşturulması için uygun bir süre olarak görünmektedir. Etkenlere bakıldığında, İnfluenza virus ve RSV gibi antiviral ilaçlarla tedavi etme seçeneğinin olduğu virüslerde hızlı tedavi olanağının da sağlanmış olduğu görülmektedir ve hızlı testlere göre çok daha üstün olan bu yöntemlerde önemli bir avantajdır. Etkenlerde, bu çalışmada İnfluenza virusun %15 gibi bir oranda yer aldığı göze çarpmaktadır; burada bir grup hastada influenza hızlı tanı testleri ile de sonuca gidildiği ve bu hastaların bu çalışmada yer almadığı belirtilmelidir. Benzer şekilde RSV için de hızlı tanı testleri ile bir grup hastada sonuç alınabilmiştir ve bu hastalar bu çalışmanın kapsamı dışındadırlar. Bu açıdan bakıldığında saptanan etkenler sıklığında İnfluenza virus ve RSV başlarda yer almamaktadırlar ve belki de bu, bu kadar yaygın rastlanması beklenen (özellikle hastaneye yatış anlamında) virüslerin buradaki görece saptanma düşüklüğünü (%10) açıklamaktadır. En sık rastlanan etken Rhinovirus olması beklenen bir durum olmakla birlikte, "alt solunum yolu ve hastaneye yatış" anlamında belki de bu yüksek bir

oran olarak karşımıza çıkmaktadır (özel hastane dinamikleri, hastaya odaklı yaklaşım, klinisyen yaklaşımı gibi farklılıklar yalnızca akla gelen bazı sorulardır).

İkinci yüksek sıklık Adenovirus'tür. Burada Adenovirus'ün asemptomatik çocuklarda da saptanabilmesi ve burada gerçekten enfeksiyon etkenini mi saptadık, sorusunun yanıtının verilmesinin güç olduğu görülmektedir. Sonuç olarak, koenfeksiyonlarda Adenovirus sıklıkla bu çalışmada karşımıza çıkmıştır.

Ülkemizde solunum yolu enfeksiyonlarında panel testlerle tanı konusunda yapılmış çalışmalardan en kapsamlılarından birisinde, Biçer ve ark.⁹, elde edilen sonuçları özellikle klinik ile ilgilendirmişler değerli veriler ortaya koymuşlardır. Yöntem olarak farklı bir yöntem kullandıkları 2010-2011 yıllarındaki retrospektif verileri araştırdıkları çalışmalarında, özellikle alt solunum yolu enfeksiyonu bulguları ile hastaneye yatırılan 9 yaş altı 155 çocuğun nazofaringeal aspiratını incelemişler ve farklı bir kit ile 14 tane solunum yolu etkeni araştırmışlardır. Bu çalışma ile karşılaştırılabilecek verilerine bakıldığında, 155 hastanın %66'sında (s: 103) etken belirledikleri göze çarpmaktadır. Akçalı ve ark.¹⁰ İzmir'de 2009-2010 yıllarında araştırdıkları 12 viral etkeni benzer çocuk hasta grubunda (s: 160) %42 oranında (s: 67) etken ortaya koyabilmişlerdir (Onların kullandığı da farklı bir marka kittir.) Sancaklı ve ark.¹¹ 2012 yılında bildirdikleri çalışmalarında, etken saptama oranları %67,8 olmuştur. Bu çalışmada, bu oran %87'dir. Diğer iki çalışma daha önceki yıllara aittir ve farklı markalardır. Hasta seçimi, örnek alımı ve transferi gibi sonuca etki edebilecek faktörler de bu çalışmadaki yüksek saptama oranlarına katkı olarak düşünülmelidir. Kitlerin yıllar içerisinde daha yüksek teknoloji ve etkili oldukları da hesaplanabilir.

Bu çalışmalarda en sık saptanan virüsler; Biçer ve ark.'nın⁹ çalışmasında da, Respiratuvar sinsityal virus (%32,0), Adenovirus (%26,2), Parainfluenza virüsler ilk iki sırada iken, Akçalı ve ark.'nın¹⁰ çalışmasında, en sık Respiratuvar sinsityal virus (%61), daha sonra Rhinovirusu saptamışlardır (%36). Sancaklı ve ark.¹¹ çalışmalarında, en sık Rhinovirusu (%26), ikinci sırada Respiratuvar sinsityal virusu (%10) etken bulmuşlar-

dır. Bayrakdar ve ark.'nın¹² 2009-2012 yıllarında Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'na gelen örnekleri araştırdıkları çalışmalarında, en yüksek olarak Respiratuvar sınırsız virüsü bildirmektedirler. Ancak, ülke genelinden ve klinik ilişkilendirmenin olmadığı ve hasta grubu olarak ilişkilendirmenin yıllar ve aylara dağıtılarak gösterildiği bu çalışma ile karşılaştırma yapmak zordur. Bu çalışmamızda, en sık rastlanan etken Rhinovirus, ikinci sırada Adenovirus olmuştur. RSV üçüncü sırada gelmiştir. Ancak, hasta seçiminde yukarıda sayılanlar göz önünde bulundurulmalıdır.

Koenfeksiyonlar bu tür çalışmalarda ortaya çıkan en ilginç ve anlaşılması gerekli durumlar olarak ortaya çıkmaktadırlar. Aynı anda birden fazla etkenin saptandığı enfeksiyonlar, birçok çalışmada olduğu gibi burada da çok önemli oranda oluşları ile dikkat çekicidirler. Klasik bilgilerimizin dışında olan bu olguyu açıklamak için bir nokta, sık ve üst üste geçirilen enfeksiyonlar ile karşılaşma ve bazı virüsleri, bu çok duyarlı yöntemlerle, enfeksiyon klinik olarak geçirilmiş bile olsa, laboratuvar olarak uzun süreler saptayabiliyor olmasıdır. Kişi, yeni ve başka bir virüsle enfekte olduğunda "ikili-üçlü" enfeksiyonlar görülebildiği düşünülmektedir. Biçer ve ark. hastalığın ciddiyeti ve koenfeksiyon arasında bir ilişki saptamadıkları çalışmalarında hastaların %20'sinde (s: 21) koenfeksiyon, bunların yalnızca 3 tanesinde 3 patojeni aynı anda belirlemişlerdir. Akçalı ve ark. çalışmalarında %10 örnekte (s: 7) çoklu etken saptamışlardır. Aynı kişide 3 etkene rastlamamışlardır. Çalışmamızda, koenfeksiyon oranı %20 (s: 50) olmuş, bunların 3 tanesinde 3 etken bir arada saptanmıştır. Farklı ticari kitler kullanılmış olmasına rağmen, bu bulguların Biçer ve ark.'nın çalışmaları ile yakın benzerlik gösterdiği görülmektedir. Sancaklı ve ark. çalışmalarında, %9 oranında çoklu etken ile karşılaşmışlardır.

Literatürde Seegen (Biçer ve ark.'nın yöntemi) ve Fast Track (bu çalışma) ile yapılan bir karşılaştırma çalışmasında, kitlerin patojen saptama performansları çok benzer bulunmuştur¹³. Yaş grupları açısından bakıldığında, yine benzer olmaları açısından, Biçer ve ark. ile Akçalı ve ark.'nın çalışmaları 9-10 yaş altı çocukları kapsamıştır. Bu çalışmada da, en yoğun hasta

grubu 11 yaş altındadır. Alt dilimlere bakıldığında, gerek 1 yaş altının, gerekse 1-5 yaş ya da 6-12 yaş gibi grupların örneklerinde, çalışmamızda, çok yakın oranlarda pozitiflik (%83-88) olduğu görülmektedir. Bu çalışmada elde edilen pozitiflik oranı yukarıda değinildiği gibi dikkat çekici oranda yüksektir. Bunda hasta seçimi ve zor da olsa nazofaringeal aspirasyon alınmasının oturmuş, standart rutin kullanılan bir örnek alma şekli ve buradaki virus yükünün yüksek olması ile kısmen açıklanabildiği düşünülmektedir.

Bu çalışmada, kitlerin performansları bazında bir karşılaştırma ve araştırma yapılmamıştır. Uzun süre boyunca piyasada bulunan ve genel bir kabul ve kullanım alanı yaratmış bulunan kit ve markalar olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak, yeni teknolojiler ve bunların yaygınlaşması önümüzde bambaşka bir alan açmış ve bilgilerimizi ve uygulamalarımızı "sendromik test yaklaşımı"na doğru hızla götürmeye başlamıştır. Mikrobiyoloji laboratuvarları, her zaman olduğundan daha fazla, değerli veri üretmeye ve maddi anlamda da hastanelere kazanım sağlamaya artarak devam etmektedirler. Bu kazanım, antimikrobiyal yönetim programlarında hedeflenen "dolaylı" bir kazanımdır. Hastaneler, doğru ve hızlı sonuç (yeni sonuçlar) elde etmeye ve antibiyotik kullanımının kısıtlanmasından ve ucuzlamasından, direncin yayılımının düşürülmesine, hastanede yatışın ve yatış süresinin azalmasına dek birçok getiri sağlamaktadırlar. Bunun iyi anlatılması, doğru verilerle ortaya konulması, karar vericiler ve uygulayıcıların daha bilinçli davranabilmeleri için bu verilerin üretilip paylaşılması önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

1. Henrickson KJ. Cost-effective use of rapid diagnostic techniques in the treatment and prevention of viral respiratory infections. *Pediatr Ann.* 2005;34:24-31. <https://doi.org/10.3928/0090-4481-20050101-08>
2. T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Geliştirilmesi Genel Müdürlüğü. Akılcı Antibiyotik Kullanımı Medya Kampanyası. (Güncellenme tarihi 16.01.2018) Available from <http://www.sggm.saglik.gov.tr/TR,31078/akilci-antibiyotik-kullanimi-medya-kampanyasi-2018.html>
3. Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu. Available from <http://www.akilcilac.gov.tr/?lang=en>

4. Nijhuis RHT, Guerendiain D, Claas ECJ, Templeton KE. Comparison of ePlex respiratory pathogen panel with laboratory-developed real-time PCR assays for detection of respiratory pathogens. *J Clin Microbiol.* 2017;55:1938-45. <https://doi.org/10.1128/JCM.00221-17>
5. Brotons P, Henares D, Latorre I, Cepillo A, Launes C, Mu-oz-Almagro C. Comparison of NxTAG respiratory pathogen panel and Anyplex II RV16 tests for multiplex detection of respiratory pathogens in hospitalized children. *J Clin Microbiol.* 2016;54:2900-4. <https://doi.org/10.1128/JCM.01243-16>
6. Malhotra B, Swamy MA, Reddy PV, Kumar N, Tiwari JK. Evaluation of custom multiplex real - time RT - PCR in comparison to fast - track diagnostics respiratory 21 pathogens kit for detection of multiple respiratory viruses. *Viol J.* 2016 June 6;13:91. <https://doi.org/10.1186/s12985-016-0549-8>
7. Jalal H, Stephen H, Curran MD, Burton J, Bradley M, Carne C. Development and validation of a rotor-gene real-time PCR assay for detection, identification, and quantification of *Chlamydia trachomatis* in a single reaction. *J Clin Microbiol.* 2006 Jan;44(1):206-13. <https://doi.org/10.1128/JCM.44.1.206-213.2006>
8. Semret M, Schiller I, Jardin BA. Multiplex Respiratory Virus Testing for Antimicrobial Stewardship: A Prospective Assessment of Antimicrobial Use and Clinical Outcomes Among Hospitalized Adults. *J Infect Dis.* 2017;216:936-44. <https://doi.org/10.1093/infdis/jix288>
9. Biçer S, Giray T, Çöl D. Virological and clinical characterizations of respiratory infections in hospitalized children. *Ital J Pediatr.* 2013;39:22. <https://doi.org/10.1186/1824-7288-39-22>
10. Akçali S, Yılmaz N, Güler Ö, Şanlıdağ T, Anıl M. Alt solunum yolu enfeksiyonu olan çocuklarda solunum yolu viral etkenlerinin sıklığı. *Türk Ped Arş.* 2013;215-20. <https://doi.org/10.4274/tpa.493>
11. Sancaklı Ö, Yenigün A, Kırdar S. Alt solunum yolu enfeksiyonunda nazofaringeal örneklerde polimeraz zincir reaksiyonu sonuçları. *J Pediatr Inf.* 2012;6:84-9. <https://doi.org/10.5152/ced.2012.26>
12. Bayrakdar F, Altaş AB, Korukluoğlu G. Solunum Yolu Viruslerinin 2009-2012 Yılları Arasında Ülkemizdeki Mevsimsel Dağılımı. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* 2013;43(2):56-66. <https://doi.org/10.5222/TMCD.2013.056>
13. Barratt K, Anderson TP, Fahey JA, Jennings LC, Werno AM, Murdoch DR. Comparison of the fast track diagnostics respiratory 21 and Seegene Allplex multiplex polymerase chain reaction assays for the detection of respiratory viruses. *Br J Biomed Sci.* 2017 Apr;74(2):85-9. <https://doi.org/10.1080/09674845.2017.1278885>