

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**ÇOCUKLUK ÇAĞI  
AKUT SOLUNUM YOLLARI İNFEKSİYONLARINDA  
BOCAVİRUS SAPTANMASI**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Sevinç Yenice**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Devran Gerçeker**

**ANKARA  
2010**

**Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi**  
**Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı**  
Tıpta Uzmanlık eğitimi çerçevesinde yürütülmüş olan

“Çocukluk Çağı Akut Solunum Yolları Enfeksiyonlarında Bocavirüs Saptanması”  
çalışması Dr. Sevinç YENİCE’e ait bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Tıpta  
Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 12/11/2010



Prof. Dr. Aydın KARAARSLAN  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
Jüri Başkanı



Prof. Dr. Devran GERÇEKER  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
Tez Danışmanı



Doç. Dr. Fikret ŞAHİN  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
Üye

## ÖNSÖZ

Solunum yolu enfeksiyonları; çocukluk çağında mortalite ve morbiditenin en önemli nedenlerindedir. Sebep daha çok viral kaynaklıyken, bazı vakalarda sebep belirlenememektedir. Sebepler araştırılırken bulunan yeni etkenler üzerine yapılan çalışmalarla enfeksiyonların tanısı kolaylaştığı için tedavi şansı artmaktadır

Bizim çalışmamızın, 2005 yılında tanımlanan İnsan Bocavirus (HBoV) 'un çocukluk çağında solunum yolu hastalığı geçiren çocuklarda ne sıklıkta bulunduğu ve etken olarak kabul edilip edilemeyeceği tartışmalarına ışık tuttuğu kanaatindeyiz. Bu konuda daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır ve yapılacak yeni araştırmalar için de bir kaynak olarak yararlanılmasını ümit ediyoruz.

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam süresince yardımını ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Devran Gerçeker'e, tez çalışmamdaki uygulama destekleri için Sayın Doç. Dr. Fikret Şahin' e, dört yıl boyunca birlikte çalıştığım Tıbbi Mikrobiyoloji AD' nın değerli öğretim üyeleri, araştırma görevlisi ve personeline, hasta örneklerinin toplanması ve klinik değerlendirilmesi konusundaki yardımları için Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalından Sayın Prof. Dr. Emine Suskan ve Sayın Uzm. Dr. Deniz Tekin' e, destekleri için değerli arkadaşım Tuncer Kadılar'a, hayatım boyunca bana sınırsız sevgi ve destek sunan aileme sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Sevinç YENİCE

# İÇİNDEKİLER

Önsöz.....	i
İçindekiler .....	ii
Simgeler ve Kısaltmalar .....	v
Tablolar ve Şekiller Dizini.....	vii
1.GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Viral solunum yolu enfeksiyonlarının epidemiyolojisi.....	3
2.1.1. Viral solunum yolu enfeksiyonlarında risk faktörleri.....	4
2.1.2. Viral solunum yolu enfeksiyonlarında mevsimsellik.....	5
2.1.3. Viral solunum yolu enfeksiyonlarının tanısı .....	5
2.1.4. Viral solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisi .....	7
2.2. Bokavirusun Tarihçesi .....	8
2.2.1. Parvovirusların sınıflandırılması .....	8
2.2.2. Parvoviruslerde epidemiyoloji ve bulaş .....	10
2.2.3.Parvovirus enfeksiyonlarında klinik .....	11
2.2.4.Parvovirus enfeksiyonlarında tanı .....	13
2.2.5.Parvovirus enfeksiyonlarında tedavi ve korunma .....	13
2.3. HBoV 1 .....	14
2.4. HBoV 2.....	14
2.5. HBoV 3.....	14
2.6. Bokavirusun epidemiyolojisi ve prevalansı .....	15
2.7. Bokavirus enfeksiyonlarının kliniği.....	15

2.7.1. Bokavirus ve solunum yolu hastalıkları .....	15
2.7.2. Bokavirus ve gastrointestinal sistem hastalıkları .....	17
2.8 . Bokavirus enfeksiyonlarının mevsimsel dağılımı .....	17
2.9. Bokavirus enfeksiyonlarında bulaş .....	18
2.10. Bokavirus enfeksiyonlarında ko-enfeksiyonun muhtemel rolü .....	18
2.11. Bokavirus enfeksiyonlarında laboratuvar tanı .....	19
2.12. HBoV' ye karşı immun cevap .....	20
2.13. Bokavirus enfeksiyonlarında tedavi ve korunma .....	20
3.GEREÇ VE YÖNTEM .....	22
3.1. Hasta örneklerinin toplanması .....	22
3.2. Gereçler .....	22
3.3. Sarf malzemeleri .....	23
3.4. Araçlar .....	23
3.5. Jel elektroforez işleminde kullanılan solüsyonlar .....	23
3.5.1. Agaroz jel .....	24
3.5.2. TBE X 5 tamponu .....	24
3.5.3. TBE X 1 tamponu .....	24
3.6. Viral genomun ekstraksiyonu .....	24
3.6.1. Kit protokolü .....	25
3.7. Viral DNA ' nın amplifikasyonu .....	25
3.8. PZR programı .....	26
3.9. PZR ürünlerinin saptanması .....	26
3.10. Jel ekstraksiyon protokolü .....	28

3.11. Sekans analizi .....	29
4. BULGULAR.....	30
5.TARTIŞMA.....	45
ÖZET.....	51
SUMMARY.....	52
KAYNAKLAR.....	53

## SİMGELER VE KISALTMALAR

**HBoV** : Human Bocavirus (İnsan Bokavirusu)

**EE** : Eritroblastosis Fetalis

**DNA** : Deoksiribonükleik Asit

**RSV** : Respiratuvar Sinsityal Virus (Solunum Sinsityal Virusu )

**HMPV** : Human MetaPneumoVirus (İnsan Metapnömovirus)

**PZR** : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

**PIV** : Parainfluenza Virus

**VZV** : Varisella Zoster Virusü

**HEP2:** Human Epidermoid Cancer Cells (İnsan epidermoid kanser hücresi)

**HeLa** : HeLa hücreleri (Ölümsüz kanserhücreleri )

**RMK** : Rhesus Monkey Kidney (Rhesus maymunu böbrek hücreleri )

**EIA** : Ezim İmmun Assay

**DFA** : Direkt floresan antikor testi

**IFA** : İndirekt floresan antikor testi

**VP1** : Viral protein 1 (Minör Kapsid Proteini)

**VP2** : Viral Protein 2 (Major Kapsid Proteini)

**NS1** : Non-Structural Protein 1 (Yapısal Olmayan Protein )

**NP1** : Nucleo Protein 1

**ORF** : Open Reading Frame (Açık Okunma Parçası)

**IG** : Immuno Globulin

**ELISA** : Enzim Linked İmmuno Sorbent Assay

**NPA's** : NasoPharyngeal Aspirate Sample (Nazofarangeal Aspirat Örneği)

**NASBA** : Nucleic Acid Sequence Based Amplification (Amplifikasyona Bağlı Nükleik Asit Sekansı )

**µl** : Mikrolitre

**ml** : Mililitre

**TBE** : Tris-Borik Asit EDTA

**EDTA** :Etilen Diamin Tetra Asetik Asit

**ddH<sub>2</sub>O** : Distile Su

**bç** : Baz Çifti

**TABLolar VE ŞEKİLLER DİZİNİ**

	<b>Sayfa</b>
<b>Şekil 1</b> : HBoV genom yapısı.....	10
<b>Şekil 2</b> : Pozitif örnek jel görüntüsü .....	27
<b>Tablo 1</b> : İncelenen hastaların cinsiyet, yaş ve semptom dağılımı.....	40
<b>Tablo 2</b> : Wheezing, retraksiyon ve ateş skoruması .....	41
<b>Şekil 3</b> : İncelenen hastaların kız / erkek oranı .....	41
<b>Şekil 4</b> : İncelenen hastaların öksürük analizi.....	42
<b>Şekil 5</b> : İncelenen hastaların rinore analizi .....	42
<b>Şekil 6</b> : İncelenen hastaların ateş analizi.....	43
<b>Şekil 7</b> : İncelenen hastaların wheezing oranları .....	43
<b>Şekil 8</b> : İncelenen hastaların retraksiyon oranları.....	44

## GİRİŞ VE AMAÇ

Solunum yolu enfeksiyonları mortalite ve morbiditenin en önemli sebeplerindedir. Alt solunum yolu hastalıkları sebebiyle her yıl dünyada yaklaşık 4 milyon insan ölmektedir. 2005 yılında, Amerika Birleşik Devletleri'nde hastaneden taburcu edilenlerin % 10' na yakın kısmı solunum yolu hastalıkları sebebiyle ölmekte ve bu sayı muhtemelen 232.000 kişi civarındadır. Bu enfeksiyonların Amerika Birleşik Devletleri için ekonomik yükü 100 milyar dolardan fazladır (Birnbaum ve ark.,2002; Merrill ve ark., 2005)

İnfluenza Virus, Respiratuvar Sinsitiyal Virus (RSV), ve parainfluenza virusler, solunum yolu enfeksiyonuna en sık sebep olan viruslar olarak bilinse de, bu enfeksiyonların bir kısmında da etken bulunmamaktadır. Son 10 yıl içindeki moleküler testler ve genomik amplifikasyon tekniklerindeki ilerlemeler önderliğinde insan metapnömovirusu (HMPV), insan koronavirüsü NL63, HKU1 ve SARS-CoV, Ki ve Wv polyomavirusleri ve insan bokavirüsü (HBoV) gibi çok sayıda yeni, potansiyel solunum yolu patojeni tanımlanmıştır. Geçmişte bilinen virusler azımsanmayacak kadar solunum yolu hastalığına neden olurken, yeni saptanan bu viruslerin de toplum kaynaklı ve hastane kaynaklı pnömonilerde rol aldığı görülmektedir. (Van Den Hoogen ve ark., 2001; Drosten ve ark 2003; Fouchier ve ark., 2004; Allender ve ark., 2005; Allender ve ark 2007)

HBoV, ilk defa 2005 yılında, pnömonili hastaların solunum yolu salgılarından izole edilen yeni bir Parvovirustur. Keşfedildiğinden beri tüm dünyada, çocuklarda ve erişkinlerde üst ve alt solunum yolu enfeksiyonu ve gastrointestinal sistem hastalıklarıyla ilişkili olduğu görülmüştür. Semptomatik olup hastaneye yatırılan çocuklardan alınan solunum yolu örneklerinden de HBoV sekansı elde edilenlerin oranı %1.5- %19 arasında değişmektedir. HBoV ile infekte olan çocukların çoğu 24 aydan küçüktür fakat 24 aydan büyük çocukları da etkilemektedir. Hastaneye yatan ve hırıltılı solunumu

(wheezing) olan çocuklarda ayaktan tedavi edilenlere göre daha ağır kliniğe sahip olanlar görülmüştür. Erişkinlerde de klinik bulgusu olan grupta için az sayıda çalışma mevcuttur fakat yetişkinlerde solunum yolu örneklerinden yapılan PZR 'lerde çok düşük prevalans saptanmıştır. (Allender ve ark., 2005; Arnold ve ark., 2006; Fry ve ark., 2007; Linder ve ark. 2008)

Bizim çalışmamızın amacı, özellikle 2 yaş (0-24 ay) altındaki çocuklarda alt solunum yolu hastalığı etkeni olduğu düşünülen bu yeni virusun epidemiyolojik durumunu moleküler yöntemler kullanılarak araştırmaktır.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1.Viral Solunum Yolu İnfeksiyonlarının Epidemiyolojisi

Solunum yolu enfeksiyonları tüm dünyada çocuklar ve erişkinler arasında en sık rastlanan, en çok aktif iş ve okul günü kaybına neden olan hastalıklarının başında gelmektedir. Özellikle akut solunum yolu enfeksiyonları gerek dünyada gerekse ülkemizde morbidite ve mortalitenin en önemli nedenleri arasında yer alır. Çocukların yaklaşık 1/3'ünün yaşamlarının ilk yılında alt solunum yolu enfeksiyonu geçirdiği belirlenmiştir. Bu oran okul döneminde % 5-10 iken, erişkinlerde % 5'e inmekte ve yaşlılarda tekrar % 17'ye kadar yükselmektedir. Erkek çocukların alt solunum yolu enfeksiyon sıklığı ilk 10 yaşta daha yüksek iken, adolesan dönemde oran eşitlenir. Solunum yolu enfeksiyonları en sık viral etkenlerle gelişir. Bu enfeksiyonlar etkenin cinsine, konağın yaş ve immun durumuna göre farklı klinik tablolara yol açabilir . Solunum yolu enfeksiyonlarında en sık izole edilen viruslar, RSV, influenza virusları, parainfluenza virusları (PIV), adenoviruslar ve koronavirustardır. Bu viruslar küçük çocuklarda ve bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda ağır solunum yolu enfeksiyonlarına yol açabilmektedir. Sağlıklı kişilerde bu viruslarla oluşan enfeksiyonlar, hafif ateş ve öksürük belirtileriyle belli bir süre içerisinde kendiliğinden iyileşirken, bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde ve iki yaşın altındaki çocuklarda (bilhassa RSV enfeksiyonları) bronşiolit, pnömoni ve ağır solunum yetersizliğinden ölüme kadar değişen tablolarla seyredebilmektedir. En sık karşılaştığımız solunum yolu virusu olan RSV aynı zamanda önemli bir hastane enfeksiyonu etkenidir. Özellikle Çocuk Hastalıkları servislerinde her yıl epidemiler yapabilmektedir. Altta yatan kalp, akciğer veya bağışıklık yetersizliği olan çocuklarda mortalite ve morbidite yüksektir. Hastane personeli, hastalarla ilgilenirken sekresyon veya kontamine objelere dokunarak RSV enfeksiyonunun yayılmasına neden olurlar.

İnfluenza virus enfeksiyonları karakteristik olarak epidemiler şeklinde görülmektedir. Bu enfeksiyonlar küçük çocuklardan yaşlılara kadar hemen

her yaş grubunu etkiler. Epidemiler genellikle 1-3 yıl aralıklarla görülür. Daha seyrek olarak ortalama 10 yılda bir pandemiler yapılabilmektedir. Muhtemelen 20 milyona yakın kişinin ölümüne neden olmuş 1917-18 İspanyol gribi dünyadaki en büyük pandemi olarak kabul edilmektedir. PIV, en sık krup etkeni olarak bilinir. Bunlar üst solunum yolu hastalıkları dışında bronşit, bronşiolit ve pnömoni gibi ciddi alt solunum yolu enfeksiyonlarına da yol açabilmektedirler. Parainfluenza tip1 ve tip 2 daha çok toplum kökenli, tip 3 ise nozokomiyal enfeksiyonlara neden olmaktadır. Yeni doğan servislerinde ve bakım evlerinde tip 3 ile oluşan salgınlar bildirilmiştir. Solunum yolu enfeksiyonları viruslar dışında birçok bakteri, mantar ve parazit etkeniyle de oluşabilmektedir. (Nguyen Van Tam., 1998; Ustaçelebi ve ark., 1999; Murray 2007 )

### **2.1.1. Viral Solunum Yolu Enfeksiyonlarında Risk Faktörleri**

Solunum yolu hastalıkları için fiziksel, immunolojik, demografik ve çevresel olmak üzere birçok risk faktörü vardır. Bağışıklığı baskılanmış hastalar, yeni doğanlar, küçük çocuklar, ileri yaşta olanlar, yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalar, ayrıca doğuştan gelen kalp hastalığı veya bronkopulmoner displazisi olanlar yüksek risk grubunu oluştururlar. Diğer risk faktörleri arasında; düşük sosyoekonomik durum, kalabalık yaşam ortamı, anne sütüyle beslenememe, yetersiz beslenme, çevre kirliliği ve çevrede sigara kullanımı sayılabilir. Sağlıklı kişilerde viruslarla oluşan solunum yolu enfeksiyonları, hafif ateş ve öksürükle seyrederek belli bir süre içerisinde kendiliğinden iyileşirken, bağışıklık sistemi baskılanmış veya diğer risk faktörleri bulunan kişilerde bronşiolit, pnömoni ve ağır solunum yetersizliğinden ölüme kadar değişen tablolar ortaya çıkabilmektedir. Bu enfeksiyonlar kistik fibroz ve astım gibi kronik hastalıkların alevlenmesine yol açabilmektedir. RSV' nin neden olduğu alt solunum yolu enfeksiyonlarının erkek çocuklarda kız çocuklara göre daha sık görüldüğü ve daha ağır seyrettiği saptanmıştır. (Ustaçelebi ve ark., 1999; Murray 2007)

### **2.1.2. Viral Solunum Yolu Enfeksiyonlarında Mevsimsellik**

Akut solunum yolu hastalıkları mevsimsel özellikler gösterirler. Bu durum hastalığın tanısı ve kontrol stratejileri bakımından önemlidir. İnfluenza ve RSV salgınları genellikle, kış ve ilkbahar aylarında görülür. Tropikal bölgelerde ise salgınlar yağışların daha çok olduğu Haziran ve Aralık ayları arasında ortaya çıkmaktadır. Örneğin, Hawaii'de RSV enfeksiyonları daha çok yaz aylarında bildirilmektedir. İnfluenza salgınları ılıman ülkelerde kışın, tropik ülkelerde ise yılın her mevsiminde görülebilmektedir. Parainfluenza tip 1 ve 2 birbiriyle dönüşümlü şekilde sonbahar ve kış aylarında 2-5 yaşlarındaki çocuklarda krup salgınları oluşturur. Tip 3 daha seyrek olarak ve genellikle 1 yaşın altındaki çocuklarda bronşiolit ve pnömoniye neden olur. İnfluenza salgınları kış ve yaz aylarında görülebilmektedir. Rhinovirus enfeksiyonları daha çok bahar aylarında koronavirus enfeksiyonları ise kış aylarında sık görülür. Enteroviruslar ise ekseri yaz sonu döneminde enfeksiyon oluştururlar. VZV enfeksiyonları çoğunlukla geç kış ve erken bahar döneminde görülür. Adenovirus enfeksiyonları da belirgin bir mevsimsellik göstermezler. (Ustaçelebi ve ark., 1999; Murray 2007)

### **2.1.3. Viral Solunum Yolu Enfeksiyonlarının Tanısı**

Viral solunum yolu enfeksiyonları genellikle etkenin tanımlanmasından önce kendi seyrine bırakılan hastalıklardır. Laboratuvar incelemeleri çoğunlukla yapılmamaktadır. Bunun başlıca sebepleri arasında bu enfeksiyonların kısa ve görece hafif seyirli olması ve pek çok rutin mikrobiyoloji laboratuvarının gerekli donanım ve deneyime sahip olmaması sayılabilir. Bu da vakaların çoğunda etiyolojinin aydınlatılamaması sonucunu doğurmaktadır. Günümüzde viral enfeksiyonların laboratuvar tanısı için hücre kültürü, direkt antijen aranması, seroloji ve moleküler yöntemler kullanılmaktadır. "Hücre kültürü" viral enfeksiyonların tanısında altın standart olarak bilinen en duyarlı ve en özgül yöntemdir. Ancak yoğun emek ve donanımlı bir laboratuvar gerektirir. Hücre kültürü için alınan örneğin zamanında ve uygun yerden alınması gerekir; en uygun örnek de nazofarinks aspirasyon sıvısıdır. Bağışıklık yetersizliği olan kişilerde sekresyon azlığı nedeniyle

bronkoalveolar lavaj sıvısı tercih edilmektedir. Örnekler alındıktan sonra özel transport besiyerinde buz içerisinde ve en kısa sürede laboratuvara iletilmelidir. Gelen örnekler hemen işlem görmeyecek ise 24 saatten kısa süre için + 2 - 4 °C' de bekletilmeli, daha uzun süreli bekletmeler için -70 °C'de dondurularak saklanmalıdır. 1980'li yıllardan beri viroloji laboratuvarında hızlandırılmış hücre kültürü yöntemi olarak bilinen Shell-Vial kullanılmaktadır. Bu yöntemde sitopatik etki oluşumunu beklemeden enfekte hücrelerdeki viral antijenler işaretli monoklonal antikolarla 1-3 gün içinde belirlenebilmektedir. Floresan işaretli antikorla boyandığında floresan mikroskopunda, peroksidaz ile işaretli antikor kullanıldı ise ışık mikroskopunda incelenerek enfekte hücre saptanabilir.

Hücre kültüründe izolasyon için kullanılan en uygun hücreler: Hep-2, HeLa, RMK ve A549'dur. Hücre kültürünün kullanımı uzun süre alması yanında yoğun emek, tecrübeli ekip ve donanımlı laboratuvar gerektirmesi gibi dezavantajlar taşımaktadır. Viral enfeksiyonların tanısında en sık kullanılan yöntemlerden biri hasta materyalinden direkt olarak viral antijen tayinidir. Bu amaçla DFA, IFA ve EIA teknikleri kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemlerin duyarlılık sorunu bulunmaktadır. Solunum yolu enfeksiyonlarının tanısında spesifik antikor tayini yalnızca epidemiyolojik amaçlarla kullanılmaktadır. Günümüzde viral solunum yolu enfeksiyonlarının tanısında çok daha duyarlı ve özgül olan moleküler yöntemler tercih edilmektedir. 1985 yılında geliştirilen Polimeraz Zincir Reaksiyonu, kültür ve serolojik yöntemler ile saptanması zor birçok virus enfeksiyonunun tanısında başarıyla kullanılmaktadır. PZR metodu ile viral solunum yolu enfeksiyonu etkenlerini araştırmada dikkat edilmesi gereken noktalar vardır. Bunların başında örneklerin zamanında ve doğru alınması, uygun taşıma sıvılarında laboratuvara ulaştırılması veya uygun ısı derecesinde saklanması gelir. Solunum enfeksiyonlarında viral atılım özellikle ilk üç gün yoğun olmaktadır, dolayısıyla enfeksiyonun erken döneminde alınan örnekler tercih edilir. (Ustaçelebi ve ark., 1999; Murray 2007)

#### **2.1.4. Viral Solunum Yolu Enfeksiyonlarında Tedavi**

Viral solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisi çoğunlukla semptomların giderilmesine yönelik yapılır. Viral etkenlere yönelik spesifik antiviral tedaviye genellikle ihtiyaç duyulmaz. Rinoviruslara yönelik henüz bir antiviral ajan bulunamamıştır; 100'ün üzerinde serotipi olması aşı çalışmalarını da güçleştirmektedir. Son dönemlerde rinovirusların nazal mukozaya adezyonunu önlemeye yönelik yeni moleküller üzerinde çalışmalar sürdürülmektedir. İnfluenza hastalığından korunmada, profilaktik olarak inaktif aşı kullanılmaktadır. Aşılama en az altı ay süre ile koruyucudur .

İnfluenza virus enfeksiyonlarının tedavisi amantadin türevleri ve nöraminidaz inhibitörleri ile mümkün olmaktadır. Amantadinin mekanizması tam olarak bilinmemekte, fakat virus replikasyonunun erken aşamalarında etkili olduğu düşünülmektedir. Amantadin sadece influenza A'ya etkilidir, influenza B'ye etkisi yoktur. Nöraminidaz inhibitörü olan zanamavir ve oseltamivir hem influenza A hem de B'ye etkili antiviral ilaçlardır. RSV'nin tedavisinde gerekli durumlarda antiviral ajan olarak ribavirin kullanılmaktadır. Ribavirin sentetik nükleozid analogudur ve geniş bir antiviral etkiye sahiptir. Bu etkiyi muhtemelen viral protein sentezini inhibe ederek sağlar. Ribavirin in vitro ve in vivo şartlarda antiviral etkinlik gösteren geniş spektrumlu bir ajandır ve aerosol şeklinde uygulanır. RSV immunglobulinleri ciddi bronşiolit durumlarında ve altta yatan kalp hastalığı varlığında uygulanabilir. RSV için etkili bir aşı yoktur. Fakat bu konuda çalışmalar devam etmekte ve son yıllarda hız kazanmaktadır Günümüzde parainfluenza enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılacak etkili antiviral ilaç bulunmamaktadır. Araştırmalara göre ribavirinin etkili olduğu düşünülmektedir. Profilaktik olarak rutin aşısı yoktur. Aşı üzerinde çalışmalar devam etmektedir. (Ustaçelebi ve ark., 1999; Murray 2007)

## 2.2. Bocavirusun Tarihçesi

Yeni virus türlerinin tanımlanması, enfeksiyon hastalıkları çalışmalarında anahtar konudur fakat tekniği oldukça zordur. Bu konuda Allender ve arkadaşları, konak DNA'yı ortadan kaldıran, rastgele PZR amplifikasyonu yapan, geniş ölçekli sekanslama ve biyoinformatik temeline dayanarak klinik örneklerden geniş ölçekli virus taraması yapan bir sistem geliştirmişlerdir. Bu moleküler virus araştırması işlemleri, alınan örneklerden hücre kültürü gerektirmeden bilinmeyen virus türlerini tespit etmeyi sağlamaktadır. (Allender ve ark., 2005)

İnsan Bocavirus (HBoV) ilk defa 2005 yılı Eylül ayında Karolinska Üniversitesi'nde (Stockholm-İsveç) Tobias Allender ve ark. tarafından tanımlanmıştır. Respiratuvar enfeksiyonu olan çok sayıda çocuk hastadan alınan nazofaringeal aspiratların hassas çalışmaları sonucunda bu virus tespit edilmiştir. Bu yeni virusun *Parvoviridae* ailesinin bir üyesi olduğu saptanmış, *Parvovirinae* alt ailesi, Bocavirus türü olarak gruplandırılmıştır (Allender ve ark., 2005; Fryer ve ark., 2007)

Virusun keşfinden bu yana uzun zaman geçmemiş olmasına rağmen yapılan yoğun çalışmalarla bu virusle ilişkili 2 virus daha izole edilmiş, geçici olarak HBoV 2 ve HBoV 3 olarak isimlendirilmişlerdir.

### 2.2.1. Parvovirusların Sınıflandırma Ve Yapısı

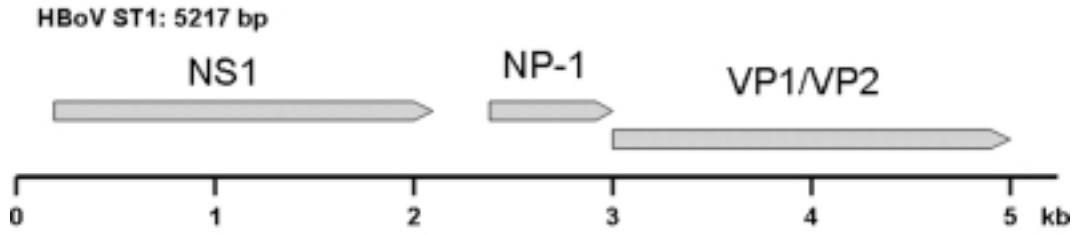
*Parvoviridae* ailesi, vertebralıları enfekte eden *Parvovirinae* ve böcekleri enfekte eden *Densovirinae* üyelerini kapsar. *Parvoviridae* ailesi küçük, zarfsız tek zincirli DNA viruslerinden oluşur. Parvoviruslerin şu anki sınıflaması; replikasyonları için diğer virüslere bağımlılığı ve konak değişkenliği baz alınarak yapılmıştır. Buna göre *Parvovirinae* alt ailesi, Erythrovirus, Dependovirus, Parvovirus, Andovirus ve Bocavirus olmak üzere beş gruba ayrılır. (Bocavirus yakın zamanda alt solunum yollarının bir etkeni olarak belirlenmiştir ) ( Murray 2007)

İnsanlarda baskın olan patojen Parvovirus B19' dur. İnsan virionu ile ilgili önemli bilgilerin çoğu elektron mikroskopisi ve x-ray kristallografi yöntemleri kullanılarak elde edilmiştir. Major virus kapsid proteini VP'nin yapısı diğer ikozahedral viruslerdekine benzer şekilde jel kıvamında bir ruloya benzemektedir. Viral partikülün ısıya, solventlere ve deterjanlara karşı direncini sağlayan, kan ve kan ürünlerinde virusun inaktivasyonunda önemli olan zarf yapısı bu viruste bulunmamaktadır. Virion karbonhidrat ve lipid içermemekle birlikte konak hücreye girişte gerekli olan fosfolipaz A2 benzeri bir aktivitesi vardır.

Parvovirus B19 kapsidi; kapsidin % 4' lük kısmını oluşturan VP1 (83 kDa) ve kapsidin % 96' lık kısmını oluşturan VP2 (58 kDa) olmak üzere iki yapısal proteinden oluşur. Virüsün major yapısal olmayan proteini ise viral replikasyonda yer alan bir DNA bağlayıcı protein olan NS1 (714 Da) proteindir. NS1 proteini genomda yer alan tek protomer olan P6' yı transkript eder, hücrel apoptozu indükler ve inflamatuvar sitokin olan interlökin-6' yı salgılayan genlerin aktivasyonunu sağlar.

Parvovirus B19 genomu, tek zincirli 5,6 kb DNA genomundan oluşur. Tek zincirli DNA genomunun, 5' ve 3' uçları birbirinin aynı 365 nükleotidlik tekrarlarını içerir ve iki büyük iki küçük açık okuma bölgeleri (ORF) bulunur. Major sol uç ORF translasyonla erken viral proteinlerden NS1' i oluşturur. (Murray 2007)

İnsan bocavirus'de de genom 3 adet ORF içerir; bunlardan 2 tanesi yapısal olmayan proteinleri kodlarken (NS1-NP1 ), 1 tanesi, iki adet viral kapsid proteinini (VP1-VP2) kodlar (VP2 sekansı VP1 ile iç içedir). HBoV NS1 proteinin fonksiyonu bilinmiyor fakat DNA replikasyonunda rol oynadığı düşünülüyor, çünkü diğer parvovirüslerde bu kısmın nükleosid trifosfatların hidrolizinde ve bağlanmasında, ayrıca helikaz aktivitesinde rolü olduğu biliniyor. NP1 diğer parvovirüslerde olmadığı için fonksiyonu bilinmiyor. (Allender ve ark., 2005; Zhi ve ark., 2006)



**Şekil 1 :** HBoV Genom Yapısı

HBoV replikasyonuna konaklık eden hücreler tanımlanmıştır. Parvoviruslar genellikle replikasyonları için proliferatif hücrelere (baskın olarak eritroid hücreler) ihtiyaç duyarlar. Hayvan Bocaviruslerinde yapılan çalışmalarda ; respiratuvar epitel hücreleri ve bağırsak epitelleri ile lenfatik organlara afinite yüksek bulunmuştur ( Allender ve ark., 2007)

### 2.2.2. Parvoviruslerde Epidemiyoloji Ve Bulaş

Parvovirus B19 dünya genelinde görülen yaygın bir viral enfeksiyondur. Ilıman iklimlerde sıklıkla kış sonu, bahar ve yaz başında epidemiler görülebilir. Her 3 ile 5 yılda bir Parvovirus B19 enfeksiyonu epidemik pik yapar. Parvovirus B19 enfeksiyonu en sık küçük çocuklarda görülür ve eritema enfeksiyozum (EE) şeklinde ortaya çıkar. (EE veya 5. Hastalık). Eritrosit yarılanma ömrünün azalması ile karakterize hastalığı olan bireylerde, parvovirus B19 enfeksiyonu geçici aplastik krize neden olabilir. Her ikisi de kendi kendini sınırlayan geçici enfeksiyonlardır. İnkübasyon periyodu yaklaşık 6-10 gündür.

Parvovirus B19' un geçişi enfekte bireylerin öksürüğü ya da hapşırması ile havaya yayılan solunum sekresyonlarının ve tükürüğün respiratuvar yol ile alınması sonucunda oluşur. Geçiş aynı evde yaşayan ve kalabalık ortamlarda bulunan insanlar arasında daha yaygındır. Bu durumda küçük çocuğu olan kadınlar enfeksiyona yakalanma açısından yüksek risk altındadır. Gebelik sırasında Parvovirus B19 enfeksiyonunun anneye geçişi problem yaratabilir. Vertikal geçiş yaklaşık % 30 oranında görülür ve virus gelişmekte olan fetüse geçebilir. Genel popülasyonda Parvovirus B19

spesifik Ig G seroprevalansı 1-5 yaş arası çocuklarda % 37 iken 50 yaş üzerinde % 87' ye yükselmektedir. Üreme çağında olan kadınların % 50-60' nda dolaşımında Parvovirus B19 Ig G mevcuttur, ancak yinede önemli bir oranında bulunmamaktadır. Parvovirus B19 aynı zamanda viremik donörlerden elde edilen kan ve kan ürünlerinden paranteral yolla da geçebilir. (Murray 2007)

### **2.2.3. Parvovirus Enfeksiyonlarında Klinik**

Parvovirus B19 enfeksiyonu ile ilişkili semptomlar asemptomatik formdan hayatı tehdit eden forma kadar çeşitli şekillerde olabilir. İmmun sistemi sağlıklı olan kişilerde görülen Parvovirus B19 enfeksiyonu sıklıkla akut ve kendi kendini sınırlayan bir hastalıktır. Ancak immün sistemi baskınlanmış kişilerde ya da kırmızı kan hücrelerinin yarılanma ömrü azalmış olanlarda Parvovirus B19 enfeksiyonu kronik hale gelebilir.

İmmun sistemi sağlıklı bireylerde Parvovirus B19 enfeksiyonu ile ilgili edinilen ilk bilgilerin çoğu İngiltere' de sağlıklı gönüllü yetişkinler üzerinde yapılan iki çalışma ile elde edilmiştir. Bu gönüllüler Parvovirus B19 partikülleri içerdiği bilinen serum ile intranazal olarak enfekte edilmiştir. Bu gönüllülerde enfeksiyon iki farklı fazda görülmüştür. Spesifik olmayan faz inokulasyondan sonraki ilk haftanın sonunda görülür. Ateş, baş ağrısı, kas ağrısı, terleme ve kaşıntı ile karakterizedir. Spesifik faz ise inokulasyondan sonra 17. İla 18. günlerde görülür. Retikülositlerin yokluğu, hemoglobin düzeylerinde belirgin düşüş, nötrofil, lenfosit ve trombosit sayılarında geçici düşüş ile karakterizedir.

Parvovirus B19 enfeksiyonu ile ilişkili spesifik döküntü, önce yüzde ve özellikle yanaklarda makülopapüller eritem olarak başlar, relatif olarak perioral bölgede beyazlık görülebilir. Bu bulgu hastada klasik tokatlanmış yanak görüntüsü oluşturur. Döküntü daha sonra bilateral ve simetrik olarak kollarda, bacaklarda ve gövdede görülür. Nadiren avuç içi ve ayak tabanında da olabilir. Bu döküntü kaybolabilir ancak üç haftadan sonraki dönemde

tekrar belirebilir. Döküntünün tekrar ortaya çıkmasına ateş, egzersiz, güneş ışığına maruziyet gibi durumlar yol açabilir.

Parvovirus B19 enfeksiyonunun en önemli komplikasyonlarından biri gebelikte geçirildiğinde, gebeliğin sonlanmasına neden olan şeklidir. Bu ilişki ilk defa 1985 yılında bildirilmiştir. Seronegatif bir gebede, Parvovirus B19 enfeksiyonu gebelik sırasında ilk kez geçirilecek olursa; spontan düşük, ölü doğum, ağır fetal anemi, non-immun hidrops fetalis, transfüzyona bağlı konjenital anemi, hepatomegali ya da fetal ölümlerle sonuçlanabilir.

Parvovirus B19 enfeksiyonu, konjenital ya da edinilmiş immun yetmezlik sendromu, organ ya da kemik iliği transplantasyonu, lenfoproliferatif bozukluk ya da diğer maligniteler ve özellikle kemoterapi alımı gibi immun sistemin baskılandığı durumlarda problem olarak karşımıza çıkabilir. AIDS hastalarında görülen “pure-red cell aplazi” nin en önemli nedeni Parvovirus B19 dur. İmmun sistemi baskılanmış hastalarda akut Parvovirus B19 enfeksiyonu görülebilir; bu kişilerde enfeksiyon iyileşmez ve kronikleşir. Düşük ya da orta düzeyde viremi aylarca hatta yıllarca devam eder. Bu durum kemik iliğinde kırmızı kan hücresi öncüllerinin elektif aplazisine ve nadiren de pansitopeniye neden olabilir.

EE, geçici aplastik kriz, immun olmayan hidrops fetalis, “kronik pure red cell aplazi” ve artropati sendromlarında Parvovirus B19’ un rolü tam olarak kanıtlanmıştır. Daha az olmakla birlikte glomerulonefrit, vaskülit, nörolojik hastalık, myokardit, hepatobiliyer hastalık, romatolojik hastalık, hematolojik bozukluklar ve EE dışında görülen kutanöz erupsiyonlar gibi klinik durumlar da Parvovirus B19 ile ilişkilendirilmiştir. Bu çok sayıdaki atipik klinik durumları henüz tam olarak bilinmemektedir. Bu konuda daha ileri düzeyde araştırmalara gereksinim vardır. (Murray 2007)

#### **2.2.4. Parvovirus Enfeksiyonlarında Tanı**

Virus immun elektron mikroskopisi ile görüntülenebilir fakat klinik laboratuvarlarda rutin tanı için uygulanmaz. Kemik iliği aspiratları, kord kanı ve amniyotik sıvı numunelerinden hazırlanan sitokin preparatları, Parvovirus B19 spesifik kapsid antijeni varlığı açısından piyasada mevcut antikorlar kullanılarak immunohistokimyasal olarak analiz edilebilir. DNA'nın Situ Hibridizasyon yöntemi ile Parvovirus B19 DNA'sı analiz edilebilir

Eritema infeksiyozum tanısında genellikle klinik özellikler yeterli olmaktadır. Parvovirus B19 için kesin tanı ise özgül Ig M veya viral antijenin saptanması şeklindedir (örn: hamile kadınlarda Parvovirus B19'a bağlı döküntünün rubelladan ayırt edilmesi için) Parvovirus B19 IgM ve Ig G için ELISA testleri bulunmaktadır. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) testi de klinik örneklerde Parvovirus B19 genomunun saptanmasında kullanılan yüksek duyarlılığa sahip bir yöntemdir. Virus izolasyonu genellikle uygulanmaz (Murray 2007)

#### **2.2.5. Parvovirus Enfeksiyonlarında Tedavi Ve Korunma**

Parvovirus B19 enfeksiyonu sıklıkla hafif, kendi kendini sınırlayan ateşli bir hastalıktır. Bu nedenle spesifik bir tedavi gerektirmez. Artrit ya da artropatisi olan hastalarda steroid dışı antiinflamatuar ilaçlar semptomatik rahatlama sağlayabilir. Parvovirus B19 enfeksiyonunun hayatı tehdit ettiği durumlarda tedavi mevcut klinik bulgulara ve hastanın immunolojik durumuna göre değişir. Örneğin akut anemisi olan hastalarda kan transfüzyonu tedavisi ile geçici olarak rahatlama sağlanabilir.

Damar içi immunglobulin kullanımı, genellikle Parvovirus B19'a bağlı kronik anemisi olan hastalara sınırlıdır ve bu hastalarda aneminin ortadan kaldırılmasında daha başarılıdır.

Parvovirus B19 enfeksiyonunun önlenmesi; etkin enfeksiyon kontrol programı ile mümkündür. Henüz bir aşısı bulunmamasına karşın, VP1 ve VP2 proteinlerinin boş bir kapsid içerisinde kendi kendine bir araya getirilmesiyle

elde edilen ve orijinal virus partikülüne benzeyen bir rekombinant insan Parvovirus B19 aşısı deneme aşamasındadır. (Murray 2007)

### **2.3. HBoV-1**

HBoV-1, Allender ve arkadaşları tarafından 2005' de tanımlanmıştır. Solunum yolu örneklerinden toplanan hücresiz süpernatantlar, PZR tekniği ile çalışılmış, amplifiye edilen ürünler ayrıştırılmış, vektöre eklenmiş ve E.coli içinde çoğaltılmıştır. Klonlar sekanslanmış ve otomatize kontrol ile değerlendirilmiş ardından bilinen sekanslarla karşılaştırılmıştır. Klonların çoğu insan kaynaklı veya tanımlanmış bakteriyal/viral patojenler olarak tanımlanmıştır. Kalan sekanslar parvo-benzeri virus sekansı olarak belirlenmiş fakat bilinen insan Parvovirusu olmadığı görülmüştür. Filogenetik analiz, bunların yeni Parvovirusler olduğunu bovine Parvovirus ve canine minute ile çok yakın ilişkili olduğunu göstermiştir. (Allender ve ark., 2005)

### **2.4. HBoV-2**

Ocak 2009' da, PZR analizi ile Parvovirus ilişkili bir virus tanımladılar ve HBoV 2 olarak isimlendirdiler. Amplikonları plazmid vektör ile klonlayarak sekanslamışlar ve GenBank' tan genom karşılaştırması yaptılar. Filogenetik analize göre HBoV 2 olarak isimlendirdikleri birim HBoV 1 ile çok yakın ilişkili bulunmuştur. HBoV 1 ve 2 ' nin NS1, NP1 ve VP1 / VP2 proteinlerine göre sırasıyla %78 , %67 ve %80 oranında benzer olduğu görülmüştür. (Kapoor ve ark., 2009)

### **2.5. HBoV-3**

Üçüncü bocavirus türü Nisan 2009' da Avustralya' da bildirilmiş ve gecici olarak HBoV-3 olarak isimlendirilmiştir. Arthur ve arkadaşları HBoV-1 ve HBoV-2' nin bulunmasında izlenen yöntemlere benzer yöntemler kullanarak, dışkı örneklerinde PZR yapmışlar; bu araştırma sırasında HBoV-2 nin yanında tesadüfi olarak HBoV-3 bulunmuştur. Genom analizleri HBoV-1 ile HBoV-3' ün yapısal olmayan proteinlerinin (NS1 ve NP1) çok yakın ilişkili olduğunu gösterirken, HBoV-2 ile HBoV3' ün yapısal proteinlerinin çok yakın

ilişkili olduğunu saptamışlardır. Bu bulgular, HBoV-3' ün, HBoV-1 ile HBoV-2' nin rekombinasyon ürünü olabileceğini desteklemiştir. HBoV 2 ve 3' ün genomlarının HBoV-1' den yeteri kadar farklı olduğu güncel primerler kullanılarak açıklanmıştır. (Arthur ve ark., 2009)

## **2.6. Bokavirusun Epidemiyolojisi Ve Prevalansı**

HBoV hakkında yapılan bildirimlere göre, HBoV tüm dünyada endemiktir. Birkaç yıl içinde birçok ülkede saptanmıştır. Aminoasit dizisiyle belirlenen filogenetik sınıflamasına göre HBoV'nin tüm dünyaya yayılmış tek soya ait olan iki farklı genotipi vardır. En fazla çeşitlilik VP1/VP2 'nin 285 bç 'lik kısmında görülmüştür. Bunun yanında NS1 ve NP1 genlerinde dikkat çekici şekilde viral sekans benzerliği vardır. (Allender ve ark. 2005; Lindner ve ark., 2008)

Semptomatik olup hastaneye yatırılan çocuklardan alınan solunum yolu örneklerinde HBoV sekansı elde edilenlerin oranı % 1.5-% 19 arasında değişmektedir. HBoV ile infekte olan çocukların çoğu 24 aydan küçüktür fakat 24 aydan büyük çocukları da etkilemektedir. Hastaneye yatan ve hırıltılı solunum (wheezing) olan çocuklarda ayaktan tedavi edilenlere göre ağır hastalık belirtileri görülmüştür. Erişkinler için yapılan birkaç çalışma mevcuttur fakat yetişkinlerde solunum yolu örneklerinden yapılan PZR' lerde çok düşük prevalansa rastlanmıştır. (Bastien ve ark., 2006; Arnold ve ark., 2006; Allender ve ark., 2007; Fry ve ark., 2007; Lindner ve ark., 2008; Chow ve ark., 2008; Garcia ve ark., 2009)

## **2.7. Bokavirus Enfeksiyonlarının Kliniği**

### **2.7.1. Bocavirus Ve Solunum Yolu Hastalıkları**

Allender'in HBoV-1 i insan solunum yolu örneklerinden izole etmesinden sonra bu virusun solunum yollarında patojen olup olmadığı ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır. Birçok hasta öksürük, ateş ve burun akıntısı gibi spesifik olmayan üst solunum yolu enfeksiyon semptomları göstermiştir. Farenjit ve

döküntü daha az yaygın olarak bulunmuş, ek olarak bazı hastalar kulak ağrısından bahsetmiştir ( Allender ve ark., 2005; Bastien ve ark., 2006; Monteny ve ark., 2007)

Çeşitli çalışmalar HBoV-1' in şiddetli solunum yolu hastalığıyla ilişkili olma olasılığını arttırmaktadır. Raporlarda, bu virusun hastaneye yatmış bronşiyolitli, astım ataklı ve hırıltılı solunumu (wheezing) olan kişilerde görüldüğünü bildirmektedir. Bir prospektif çalışmada, solunum yolu enfeksiyonu yaptığı bilinen 16 virus karşılaştırılmış, HBoV' nin tek ajan olarak saptandığı hastaların % 50' sinden fazlasında wheezing görülmüştür. (Sürpriz olarak ikinci bir enfeksiyonu olan çocuklarda wheezing daha az görülmüştür). Diğer yaygın bulgular; takipne, ateş ve hipoksi olarak saptanmıştır. Hastaneye yatırılan ve HBoV pozitif olduğu tespit edilen çocukların hastaneye yatış sebeplerinin çoğunlukla pnömoni olduğu gözlenmiştir. (Kaplan ve ark., 2006; Gendrel ve ark., 2007; Allender ve ark., 2007; Jacques ve ark., 2008; Bosis ve ark., 2008; Garcia ve ark., 2009; Karalar ve ark., 2010)

Retrospektif olarak bildirilen birçok HBoV-1 raporunda % 6.6 oranında hastanın yoğun bakıma gereksindiği ve % 40 kadarının oksijen tedavisine gereksinim duyduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalar durumu olduğundan abartılı gösteriyor olabilir; zira şimdiye kadar HBoV-1 nedeniyle oluşmuş hiçbir ölüm bildirilmemiştir. (Arnold ve ark., 2006; Chow ve ark., 2008)

Birkaç çalışmada HBoV-1 ile enfekte hastaların altta yatan ikinci bir rahatsızlığı olduğu söylenmiştir. Raporlanan hastaların yarıdan fazlası medikal bakım altındaydı ve en yaygın medikal durum primer kalp ya da akciğer hastalığı idi. (Allender ve ark., 2005; Arnold ve ark., 2006; Chow ve ark., 2008)

HBoV, solunum yolu ya da GIS hastalığı olan immunitesi düşük hastalarda da bildirilmiştir. Schenk ve arkadaşları kök hücre transplantasyonu yapılan bir

çocukta HBoV-1 ve rinovirusu birlikte raporlamıştır. Hastada aritmi, ateş, dispne, wheezing ve göğüs filminde infiltrasyonlar görülmüştür. HBoV-1 nazofarenksten, dışkıdan ve kandan izole edilmiştir. Yine yapılan çalışmalarda akut lenfoblastik lösemi (ALL) olan bir grup çocukta HBoV-1 saptanmış, görülen semptomlar orta kulak iltihabı, ateşli üst solunum yolu enfeksiyonları, bulantı, ishal veya sadece ateş şeklinde bildirilmiştir. (Schenk ve ark., 2007; Koskenvuo ve ark., 2008)

### **2.7.2. Bocavirus Ve Gastrointestinal Sistem Hastalıkları**

HBoV saptanmış solunum yolu enfeksiyonlu hastalarda, % 25 oranlarına varan GİS semptomları bildirilmiştir. Bu durum HBoV' nun sadece solunum yolunda sınırlı olmadığını göstermektedir. HBoV' nin çok yakın ilişkili olduğu canine ve bovine Parvovirusleri de, solunum yolu ve enterik patojen olarak tanımlanmıştır. Daha sonraki incelemelerde HBoV' nun dışkı örneklerinde de olduğu saptanmıştır. En yaygın GİS semptomları olarak bulantı, kusma ve ishal görülür. Sulu ve kanlı ishalin her ikisi de HBoV-1 ile ilişkilendirilmiştir. HBoV-1 GİS hastalarının dışkı örneklerinde % 0.8-% 9.1 oranında bulunmuştur. Semptomatik hastaların dışkı örneklerindeki viral yükü, solunum yolu örneklerine göre düşük bulunmuştur. (Burns ve ark., 2007; Chieochansin ve ark., 2008; Lau ve ark., 2007; Lee ve ark., 2007; Albuquerque ve ark., 2007; Cheng ve ark., 2008; Yu ve ark., 2008; Campe ve ark., 2008; Schildgen ve ark. 2007)

### **2.8. Bokavirus Enfeksiyonlarının Mevsimsel Dağılımı**

Literatürlere göre, çocuklardaki HBoV bulunan akut solunum yolu hastalıkları aylar arasında farklılıklar gösterir. Solunum yolu hastalıklarının pikleri yıllar arasında da farklıdır. Bu yüzden yeni saptanan bu virüsün epidemiyolojisine ilişkin sonuçlar, tek mevsimlik ya da çoklu solunum yolu enfeksiyonu mevsimleri için anlık sonuçlarla ortaya konulamaz. Birçok araştırmacı kış ve bahar aylarında, ılımlı bölgelerde HBoV saptanmasının yüksek oranda olduğunu bildirmiştir. Kore' de yapılan bir çalışmada, 5 yıldan fazla süre, alt solunum yolu enfeksiyonu olan hastalardan örnek toplanmış, HBoV-1 için en

yüksek sıklığın mayıs-temmuz aylarında olduğu bildirilmiştir. İtalya ve Kanada'dan bildirilen çalışmalarda ise mevsimsel yayımda fark olmadığı bildirilmiştir. Sadece birkaç prospektif çalışma yapılmış, 5 yaş altındaki akut solunum yolu enfeksiyonu ile hastaneye yatırılan çocuklarda yapılan 1 yıllık çalışmada ağustos ayı dışında tüm aylarda HBoV-1 saptanmıştır. Yapılan retrospektif çalışmaların birçoğunun zayıf kaldığı yön, birçok örneğin kış ayları boyunca toplanmasıdır, çünkü bu dönem birçok viral solunum yolu enfeksiyonu için epidemik dönemdir. Bu yüzden HBoV için bu dönemde yapılan incelemeler yanıltıcı sonuçlar yaratıyor olabilir. Bu dönem toplanan örneklerde elde edilen sonuçlar için taşıyıcılık prevalansı ve çoklu etken insidansı olasılığı da gözden kaçırılmaması gereken bir durumdur. (Allender ve ark., 2005; Smuts ve ark., 2006; Choi ve ark., 2000; Bstien ve ark., 2006; Maggie ve ark., 2007; Brieu ve ark., 2008)

### **2.9. Bokavirus Enfeksiyonlarında Bulaş**

HBoV bulaşının yolları hakkında hiçbir şey bilinmemektedir. Bu virus diğer solunum yolu virusleri gibi aerosol ya da temas ile bulaşabilir. HBoV 'nin dışkıda görülmesinden beri fekal-oral geçişin de bir yol olabileceği göz önünde bulundurulmaktadır. Şimdiye kadar virüsün dayanıklılığı ya da hastanede kullanılan dezenfektanlara direnci ile ilgili bir çalışma yapılmamıştır. Diğer parvovirüslerin dezenfektanlara yüksek oranda dirençli olduğu bilinmektedir; bu yüzden HBoV'nin durumunun saptanması önemli olacaktır. Nazokomiyal enfeksiyon ve vertikal bulaş ile ilgili yayınlar mevcuttur (Brauniger ve ark., 2000; Kesebir ve ark., 2006; Bonvicini ve ark. 2006 )

### **2.10. Bokavirus Enfeksiyonlarında Ko-enfeksiyonun Muhtemel Rolü**

Birçok çalışmada HBoV-1 bulunan örneklerin azımsanmayacak bir kısmında viral ve bakteriyel ko-enfeksiyon olduğu bulunmuştur. Bütün çalışmalarda etken olabilecek ikinci herhangi bir patojen çalışılmamış olsa da, sıklıkla birlikte bildirilenler rinovirus, RSV, enteroviruslar, influenza virus, parainfluenza virus, adeno virus ve insan metapnömo virusu (HMPV)' dur. Ko-enfeksiyon çeşitli çalışmalarda sorgulanmış, % 18-% 90 arası sıklıklar

bildirilmiştir. Verilen aralığın bu kadar büyük olması ise diagnostik panelin bir standartının olmaması ile açıklanmış, test duyarlılıklarındaki farklılıkların göz önünde bulundurulup özellikle düşük viral yükün yüksek oranının ışığında değerlendirme yapılması gerektiği bildirilmiştir. (Allender ve ark., 2005; Choi ve ark., 2006; Allender ve ark., 2007; Fry ve ark., 2007; Lindner ve ark., 2008; Karalar ve ark., 2010)

### **2.11. Bokavirus Enfeksiyonlarında Laboratuvar Tanı**

Bugüne kadar, HBoV daha baskın olarak nazofarengeal aspirat örneklerinden (NPAs) ve sürüntü örneklerinden saptanmış, PZR bazlı metotlarla gösterilmiştir. Çünkü HBoV' ye uygun bir kültür metodu, enfeksiyonun hayvan modeli ya da antijen saptamaya yönelik bir antikor örneği oluşturulamamıştır. Örneklerin eldesi ve saklanması ile ilgili detaylar, yapılan yayınlarda nadiren detaylandırılmıştır. Bununla birlikte en sık yapılan uygulama, daha önce farklı sebeplerle uygun popülasyonlardan alınan örneklerden, mikrobiyal test yapıldıktan sonra saklanmış olanlarından nükleik asit eldesi ve PZR testi yapılmasıdır. Oligonükleotid sekansları ile yapılan çeşitli PZR testleri vardır fakat en uygun gen bölgesi veya oligonükleotid setleri için henüz karşılaştırmalı bir çalışma yapılmamıştır. Tanı amaçlı olarak daha fazla genetik bölgeye ihtiyaç vardır; bununla birlikte yapılan ilk çalışmalarda kullanılan primerler NS1 gen bölgesine uygundur. Dahası , HBoV 'nin genetik çeşitliliği bir çok PZR hedefine uygundur ve NP1 bölgesi de çoğunlukla kullanılır. Ziegler ve arkadaşları, dışkı örneklerinde amplifikasyona bağlı nükleik asit sekansı (NASBA) kullanmışlar fakat hiçbir HBoV pozitifliği bulamamışlardır. NASBA, izotermik bir nükleik asit amplifikasyon tekniğidir ve viruslerin saptanmasında PZR' ye alternatif olarak kullanılır. Bu çalışma sonucunun metodtan mı yoksa HBoV' nin örneklerde gerçekten bulunmamasından mı kaynaklandığı açık değildir. ( Allender ve ark., 2005; Baiste ve ark., 2006; Kesebir ve ark., 2006; Arnold ve ark., 2006; Maggi ve ark., 2006; Chung ve ark., 2006; Choi ve ark., 2006; Allender ve ark., 2007; Kleines ve ark., 2007; Ziegler ve ark., 2008; Chow ve ark., 2008; Jacques ve ark., 2008; Wang ve ark., 2009; Zeng ve ark., 2010)

### 2.12. HBoV 'ye Karşı İmmun Cevap

Kullanılan immunfloresan testler 1 yaş civarı ve altındaki çocuklarda HBoV seronegatifliği saptarken, 2 yaştan büyük çocuklarda ve yetişkinlerde % 94.7 oranlarına kadar VP1 viral kapsid proteinine karşı antikor cevabı göstermişlerdir. HBoV VP2-VLP 'ye karşı oluşan alt sınıf Ig G<sub>1</sub> antikorları yetişkin sağlıklı kan vericilerinden alınan örneklerde %98.3 e kadar saptanmıştır. Virus spesifik Ig G' ler respiratuvar hastalığı olan ve aktif viremi dönemindeki bebeklerde ve kanlarında saptanabilen HBoV genomu olmayan çocuklarda da bulunmuştur.HBoV DNA pozitif çocuklarda % 41.7 oranına kadar Ig M ab görülmesine rağmen,kanlarında saptanabilir miktarda HBoV genomu bulunmayan çocuklarda HBoV spesifik Ig M görülmemiştir.(Endo ve ark., 2007; Lindner ve ark., 2008 )

Yakın zamanlı bir çalışmanın seroepidemiolojik verilerine göre ; 0-41 yaş arası 204 hastanın Anti HBoV antikorları bakılmış, 145 ( + ) saptanmış. 6-8 aylıklar arasında % 5.6 ile en düşük prevalans gözlenirken 6 yaş üzeri grupta en yüksek ( %94.1- %100 ) prevalans saptanmış. Bu sonuçlar 6 yaş üstünde geçirilmiş enfeksiyon sonrası koruyucu immunité oluşabildiği sonucunu göstermiştir. 6 aydan küçük gruptaki ab pozitifliği; üçüncü trimesterde plasentadan geçen antikorlar olarak açıklanmıştır. (Endo ve ark., 2007 )

### 2.13. Bokavirus Enfeksiyonlarında Tedavi Ve Korunma

Viral solunum yolu hastalıkları, sağlıklı çocuklar ve erişkinlerde genellikle komplikasyonsuz ve kendi kendini sınırlayan hastalıklardır. Bunun için birçok viral solunum yolu hastalığına karşı tedavi etkili olmaz. HBoV enfeksiyonunun klinik etkisi belirsizdir ve günümüzde bu virüs ile infekte kişilere yönelik bir tedavi yaklaşımı ya da yeni bir ilaç bulunmamaktadır. Bu virusle enfekte olduğu düşünülen hastalara semptomatik tedavi uygulanmaktadır.Yapılacak ileri çalışmalarla, HBoV ile infekte olmuş hastalar için spesifik yaklaşımlar oluşturulacak sensitif, spesifik ve klinik tanımlayıcı prosedürler geliştirilecektir. Birçok merkezde HBoV pozitif hastaların radyolojik olarak

konulan pnömoni tanıları için antibiyotik kullanımı mevcuttur. HBoV test metodları, bu hastalarda gereksiz antibiyotik kullanımını önleyecektir. Şayet HBoV döngüsü çocuklar üzerinde bu kadar büyük bir etkiye neden oluyorsa aşı geliştirme çabaları gerekecektir, fakat şu anda böyle bir çalışma bildirilmemiştir. (Schenk ve ark., 2007; Calvo ve ark., 2008; Williams ve ark., 2009)

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Mart 2009 - Kasım 2009 tarihleri arasında yürütülen bu çalışmaya, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hastalıkları ve Sağlığı Polikliniği'ne ve Çocuk Acil servisine başvuran ve akut solunum yolu enfeksiyonu tanısı konulan 2 yaş altı 200 çocuk hastaya ait nazofarengial aspirat örnekleri alınmıştır. Gestasyonel yaşı 36 haftanın ve doğum ağırlığı 2500 gramın altında olan bebekler, kronik akciğer hastalığı ya da konjenital kalp hastalığı olanlar ve daha önce bronkoldilatatör ya da steroid kullanan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir. Prospektif çalışmamızda Ankara Üniversitesi Tıbbi Etik Kurul Yönergesi'ne göre hastaların yasal temsilcilerinin bilgilendirilmiş onayları alınmıştır.

#### 3.1. Hasta Örneklerinin Toplanması Ve Taşınması

Çalışma için nazogastrik sonda ile çocukların burun deliklerinden girilerek, bu amaç için iğnesi çıkarılmış 10 ml.'lik enjektör, sondanın ucuna takılarak negatif basınç uygulanmış ve nazofarengial aspirat sıvısı alınmıştır. Alınan örnek 15 ml' lik eppendorf tüplere konulmuş, soğuk zincire dikkat edilerek çalışılincaya kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ ' da saklanmıştır.

#### 3.2. Gereçler

Etil Alkol (SIGMA, USA)

Agaroz (VIVANTIS, AG6330)

Etidyum bromür (APPLICHEM, 1239458)

Taq DNA Polimeraz (FERMENTAS, 37)

10X PZR Buffer (FERMENTAS, 37)

10 mM  $\text{MgCl}_2$  (FERMENTAS, 37)

dNTP Karışımı (FERMENTAS, 37)

Primerler (IDT)

1X Loading Dye Solution (FERMENTAS, 9903)

RNA Ekstraksiyon kiti (Trizol Reagent, Kloroform, İzopropil Alkol, Etanol) (INVITROGEN, 15596-026)

E.Z.N.A. Tissue DNA Kit (Omega Bio-Tek USA)

Mo Bio. Ultra Clean Gel Spin DNA Purification Kit (USA)

### 3.3. Malzemeler

Steril 1,5 ml' lik eppendorf (ORANGE SCIENTIFIC, Belçika)

Steril PZR Tüpü 0,2 ml (ORANGE SCIENTIFIC, Belçika)

Steril Filtreli Pipet Uçları 10 µl, 20 µl, 200 µl, 1000 µl (RATIOLAB, Almanya)

Lateks Muayene Eldiveni (DOLPHIN, Türkiye)

### 3.4. Araçlar

Santrifüj (EPPENDORF, Almanya)

Soğutmalı Santrifüj (HERMLE Z233 MK-2, Almanya)

Kuru Isıtıcı Blok (HVD, Avusturya)

Elektroforez Tankı (SUNRISE, ABD)

Elektroforez Güç Kaynağı (BIO-RAD, ABD)

Otomatik Pipetler (EPPENDORF, Almanya)

UV Translüminatör (VIBER-LOURMAT TFX-20.M, Fransa)

Isı Döngü Cihazı (Thermalcycler) (TECHNE, İngiltere)

Vorteks (HVD, Avusturya)

Fotoğraf Makinesi (CANON POWER SHOT G5, Kanada)

Çalkalayıcı (HVD, Avusturya)

Mikrodalga Fırın (VESTEL, Türkiye)

Hassas Terazı (METTLER- TOLEDO, İsviçre)

Otoklav (NÜVE, Türkiye)

### 3.5. Jel Elektroforez İşleminde Kullanılan Solüsyonlar

#### 3.5.1. Agaroz Jel (%1,5)

Hazırlanışı:

Agar .....	2,1 g
TBE X 5 .....	140 ml
Etidyum Bromür .....	7,5 µl

#### 3.5.2. TBE X 5 Tamponu

Hazırlanışı:

TRIS base .....	54g
Borik Asit .....	27,5 g
0,5 M EDTA (pH 8,0) .....	20 ml
dd H <sub>2</sub> O .....	980 ml

#### 3.5.3. TBE X 1 Tamponu

Hazırlanışı:

TBE X 5 .....	200 ml
dd H <sub>2</sub> O .....	800 ml

### 3.6. Viral Genomun Ekstraksiyonu

Viral genom ekstraksiyonu E.Z.N.A Tissue DNA Kits( Omega Bio-Tek USA) ile üretici firmanın önerdiği talimata göre yapıldı.

Her hasta örneğinden ekstraksiyon amacıyla 1.5 ml'lik eppendorf tüplere 0.5 ml'lik aspirat aktarıldı. Soğutmalı santrifüjde 10000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant döküldü ve pelet üzerine kit protokolü uygulandı.

### 3.6.1. Kit Protokolü:

1. Pelet üzerine 200 µl buffer TL eklenir.
2. Karışıma 25 µl "OB Proteaz" eklenir, iyice vortekslenir, 55 °C' de çalkalanarak 3 saat inkübe edilir. (eppendorf tüpler içinde partikül kalmayacak) (OB Proteaz, tüpün içine 1.5 ml. 10 mM Tris HCL Ph: 8 konularak kullanıma hazır hale getirilir. )
3. 200 µl "buffer BL" eklenir, vortekslenir 70 °C' de 10 dakika inkübe edilir. (oluşabilecek partiküller DNA tespitini engellemez.)
4. 220 µl saf etanol eklenir ve iyice vortekslenir.
5. HiBind spin kolum, 2 ml' lik toplama tüpüne konur ve 4. Basamakta elde edilen solüsyon buraya aktarılır. 10000 rpm' de 1 dakika santrifüj edilir,süzüntü toplama tüpüyle atılır.
6. Kolum, yeni bir 2 ml' lik toplama tüpün konur ve 650 µl "etanollü wash buffer" ile yıkanır. 10000 rpm' de 1 dakika santrifüj edilir,süzüntü toplama tüpüyle atılır. (wash buffer solüsyonu kullanılmadan önce 36 ml. saf (%99) etanol eklenerek kullanıma hazırlanır)
7. Yeni bir toplama tüpünde, 6 numaralı işlem tekrar edilir
8. Aynı tüp kullanılarak, kolum boş şekilde en yüksek hızda (18000 rpm) 2 dakika santrifüj edilir. (HiBind matriksi kurutmak için)
9. Kolum nükleazdan arındırılmış bir temiz eppendorf tüplere yerleştirilir ve 200 µl 70 °C' ye getirilmiş "elution buffer" eklenir. 3 dakika oda ısısında beklenir. 10000 rpm 'de 1 dakika santrifüj edilir.

### 3.7. Viral DNA'nın amplifikasyonu

Çalışmamızda araştırılacak olan HBoV DNA'sının amplifikasyonu için tek aşamalı PCR deneyi yapıldı.

Her bir örnek ( N ) için reaksiyon karışımı hazırlandı :

DNaz RNaz içermeyen deiyonize su	35 µl x N
10X PCR Buffer	5 µl x N
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	1 µl 1.5 mM x N
dNTP	1 µl 200 µM dNTP
Primer F	1 µl x N
Primer R	1 µl x N
Taq DNA Polimeraz	1 µl 2,5 U x N
Örnek DNA	5 µl x N

---

Toplam hacim .....50 µl x N

Primer dizilimi NP1 proteine göre yapılmıştır ve şu şekildedir:

BoV542 R : 5' CTC TGT GTT GAC TGA ATA CAG 3'

BoV188F 5' GAG CTC TGT AAG TAC TAT TAC 3'

(Zeng ve ark., 2010; Chen ve ark., 2010)

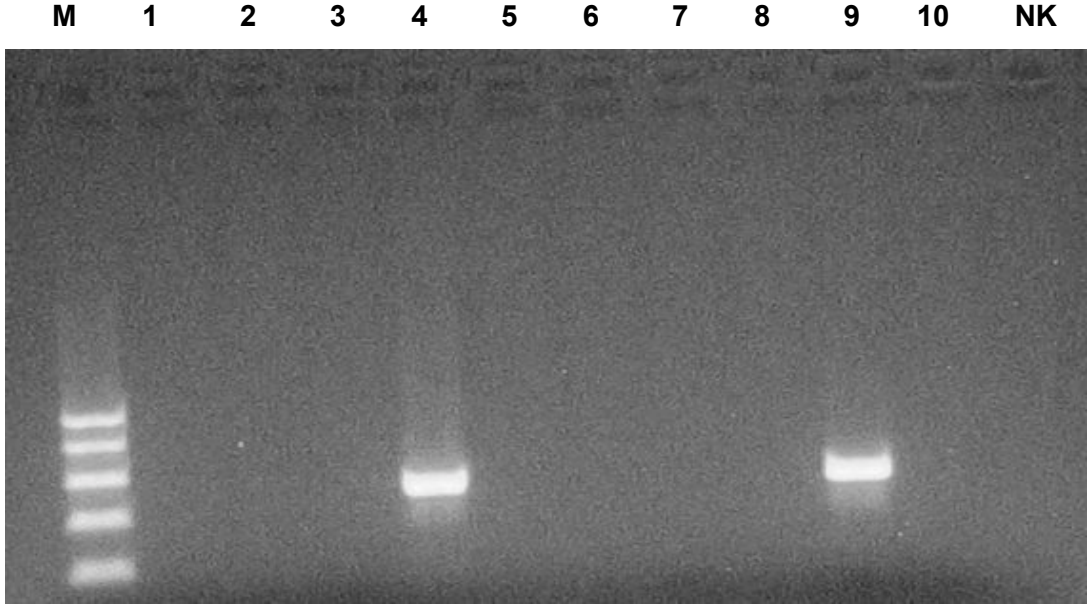
### 3.8. PZR Programı

Başlangıç denatürasyonu	94 °C' de 2 dakika	} X 40 döngü
Denatürasyon aşaması	94 °C'de 45 saniye	
Primer yapışması (annealing)	58°C'de 45 saniye	
Sentez (uzama) aşaması	72 °C'de 1 dakika	
Son uzama	72 °C'de 10 dakika	

### 3.9. PZR Ürünlerinin Saptanması

PZR ürünlerinin saptanması amacıyla 10 µl PZR ürününün, TBE tampon ile hazırlanan %1,5' lik agarozda jel elektroforezi yapıldı. Agaroz jelde yürütülen DNA' lar etidyum bromür ile işaretlenerek UV translüminatör ile incelendi.

PZR ürünlerinin büyüklükleri DNA moleküler belirtecinin bantları ile karşılaştırılarak doğrulandı ve jel görüntüleri dijital fotoğraf makinesi ile görüntülenerek bilgisayar ortamına aktarıldı



**Şekil 2** : Pozitif örnek jel görüntüsü (4. ve 9. Örnekler pozitif)  
M: Marker, sıra yukarıdan aşağıya : 500,400,300,200,100 bç  
NK: Negatif Kontrol,

Beklenen baz çift büyüklüğüne (354 bç) uygun olan ve HBoV DNA olduğu düşünülen örneklerle sekans analizi yapılmak üzere jel ekstraksiyonu yapıldı. Ekstraksiyon Mo Bio. Ultra Clean Gel Spin DNA Purification Kit ile yapıldı

**3.10. Jel Ekstraksiyon Protokolü:**

1. Kesilen jel tartılır ve 1.5 ml.' lik eppendorf tüpüne aktarılır
2. Kesilen jelin ağırlığının 3 katı kadar  $\mu$ l hacim "gel bind solusyonu" üzerine eklenir.
3. Isı bloğunda 55 ° C'de 5 dakika bekletilir, 1 kere alt-üst edilerek çalkalanır.
4. Jelin tamamen eridiği görülünce karışımın tamamı spin koluma aktarılır.
5. 10000g.' de 10 saniye santrifüj edilir.
6. Spin kolum çıkarılıp toplama tüpündeki sıvı 5 saniye vortekslenir (tuz dengesi için)
7. Vortekslenen karışım tekrar aynı spin koluma aktarılır.
8. 10000g.' de 10 saniye santrifüj edilir.
9. Toplama tüpündeki sıvı dökülür, spin kolum yerine yerleştirilip 300  $\mu$ l gel wash buffer eklenir.
10. 10 saniye 10000 g' de santrifüj edilir.
11. Süzülen sıvı dökülür
12. 30 saniye 10000 g' de tekrar santrifüj edilir, toplama tüpü içindeki sıvı ile birlikte atılır.
13. Spin kolum yeni toplama tüpüne konur, üzerine 30-50  $\mu$ l elution buffer ya da ddH<sub>2</sub>O konur, 2-3 dakika oda ısısında beklenir.
14. 30 saniye 10000 g.' de santrifüj edilir, spi kolum atılır, toplama tüpünde DNA hazırır.

### 3.11. Sekans Analizi:

Bocavirus genom

ACTCACCTGCGAGCTCTGTAAGTACTATTACTTTTCTTTAACACTTGGCACGCACAGCCAC

PCR ürün

.....GAGCTCTGTAAGTACTATTACTTTTCTTTAACACTTGGCACGCACAGCCAC

Bocavirus genom

GTGACGAAGATGAGCTCAGGGAATATGAAAGACAAGCATCGCTCCTACAAAAGAAAAGGG

PCR ürün

GTGACGAAGATGAGCTCAGGGAATATGAAAGACAAGCATCGCTCCTACAAAAGAAAAGGG

Bocavirüs genom

AGTCCAGAAAGAGGGGAGAGGAAGAGACACTGGCAGACAACATCATCACAGGAGCAGGAGC

PCR ürün

AGTCCAGAAAGAGGGGAGAGGAAGAGACACTGGCAGACAACATCATCACAGGAGCAGGAGC

Bocavirüs genom

CGCAGCCCATCCGACACAGTGGGGAGAGAGGCTCGGGTTCATATCATCAGGAACACCCA

PCR ürün

CGCAGCCCATCCGACACAGTGGGGAGAGAGGCTCGGGTTCATATCATCAGGAACACCCA

Bocavirüs genom

ATCAGCCACCTATCGTCTTGCACTGCTTCGAAGACCTCAGACCAAGTGATGAAGACGAGG

PCR ürün

ATCAGCCACCTATCGTCTTGCACTGCTTCGAAGACCTCAGACCAAGTGATGAAGACGAGG

Bocavirüs genom

GAGAGTACATCGGGGAAAAAAGACAATAGAACAAATCCATACACTGTATTTCAGTCAACAC

PCR ürün

GAGAGTACATCGGGGAAAAAAGACAATAGAACAAATCCATACACTGTATTTCAGTCAACAC

Bocavirüs genom

AGAGCTTCCAATCCTGAAGCTCCAGGGTGGTGTGGTTCTACTGGCACTCTACTCGCATT

PCR ürün

AGAG -----

Bocavirüs genom

GCTAGAGATGGTACTAATTCAATCTTTAATGAAATGAAACAACAGTTTCAACAACACTACAG

PCR ürün

-----

#### 4. BULGULAR

İncelenen 200 örnekten 6' sında (%3) insan bocavirus (HBoV) pozitif bulunmuştur.

200 hastanın 128 tanesi erkek (% 64), 72 tanesi kızdı (%36). Hastaların en küçüğü 1 aylık, en büyüğü 24 aylık idi. Kızların yaş ortalaması 7.5 ay, erkeklerin yaş ortalaması 7.3 ay olarak bulundu. İncelenen 200 hastanın 61' inde ( %30.5 ) ateş saptanırken (37.8 ° C ve üstü ateş olarak kabul edildi), 139 kişide ( % 69.5 ) ateş görülmedi. 48 kişide ( %24 ) wheezing saptanırken, 113 kişide ( % 56. 5 ) retraksiyon tespit edildi.

Pozitif çıkan 6 örneğin 5 tanesi erkek, 1 tanesi kız cinsiyetine aitti ve yaşları 4-24 ay aralığındaydı. Pozitif bulunan hastaların 3 tanesinde ateş, 4 tanesinde retraksiyon, 2 tanesinde wheezing, 3 tanesinde öksürük ve 4 tanesinde rinore olduğu gözlemlendi. Bunların sadece 2 tanesinde retraksiyon ve wheezing aynı zamanlarda görüldü.

No	Adı Soyadı	Cinsiyet	Yaş (Ay)	Wheezing	Retraksiyon	Öksürük	Ateş	Rinore
1	A. A.	K	3	VAR 1	YOK	ORTA	YOK	YOK
2	F. K.	E	18	YOK	YOK	CİDDİ	VAR	ORTA-CİDDİ
3	B. M.	E	2,5	YOK	YOK	HAFİF	YOK	YOK
4	A. Y.	E	6	YOK	YOK	HAFİF	YOK	HAFİF
5	M. U.	E	16	YOK	VAR 1	ORTA	YOK	ORTA-CİDDİ
6	Y. K.	K	5,5	YOK	YOK	ORTA	VAR	ORTA-CİDDİ
7	A. Y. B.	E	8	YOK	YOK	ORTA	YOK	HAFİF
8	Y. K. Y.	E	24	YOK	VAR	ORTA	VAR	ORTA-CİDDİ
9	Ö. Ç.	K	3	VAR 2	YOK	ORTA	YOK	ORTA-CİDDİ
10	F. M. Ö.	E	3,5	YOK	YOK	ORTA	VAR	YOK
11	T. M. E.	E	5,5	YOK	YOK	CİDDİ	YOK	YOK
12	E. D.	E	4	VAR 1	VAR 1	HAFİF	YOK	HAFİF
13	A. T.	K	4	YOK	YOK	ORTA	YOK	ORTA-CİDDİ
14	R. N.	E	8	YOK	YOK	YOK	YOK	HAFİF
15	E. B.	E	11	VAR 2	VAR 1	CİDDİ	VAR	HAFİF
16	O. K. G.	E	12	YOK	VAR 1	ORTA	YOK	HAFİF
17	A. Y.	K	15	YOK	VAR 1	CİDDİ	YOK	ORTA-CİDDİ
18	T. Y. U.	E	6	YOK	VAR 1	ORTA	YOK	ORTA-CİDDİ
19	S. K.	E	7	YOK	YOK	ORTA	VAR	ORTA-CİDDİ
20	Y. Y.	E	1,5	YOK	VAR 1	HAFİF	YOK	YOK

No	Adı Soyadı	Cinsiyet	Yaş(Ay)	Wheezing	Retraksiyon	Öksürük	Ateş	Rinore
21	K. S. Ç.	E	3	YOK	VAR	ORTA	YOK	YOK
					1			
22	S. S.	E	1,5	YOK	VAR	ORTA	VAR	YOK
					1			
23	M. S.	E	5	YOK	YOK	ORTA	VAR	YOK
24	İ. Ö.	E	5	YOK	YOK	CİDDİ	YOK	ORTA-CİDDİ
25	İ. D.	K	12	VAR	YOK	CİDDİ	VAR	HAFİF
				2				
26	E. B.	E	5	YOK	VAR	ORTA	YOK	HAFİF
					1			
27	B. Y. G.	E	15	YOK	VAR	ORTA	YOK	ORTA-CİDDİ
					1			
28	Ö. E. T.	E	10,5	VAR	VAR	CİDDİ	YOK	ORTA-CİDDİ
				2	1			
29	G. D.	E	20	YOK	YOK	HAFİF	YOK	ORTA-CİDDİ
30	E. A. A.	E	6	VAR	VAR	ORTA	VAR	HAFİF
				1	1			
31	Ö. K.	K	5	YOK	YOK	CİDDİ	VAR	ORTA-CİDDİ
32	H. Ç.	E	19	YOK	YOK	CİDDİ	VAR	ORTA-CİDDİ
33	Z.Y. Ş.	K	5,5	YOK	YOK	ORTA	VAR	ORTA-CİDDİ
34	S. K.	K	6	VAR	VAR	ORTA	YOK	ORTA-CİDDİ
				1	1			
35	Y. E. Ç.	E	10,5	YOK	VAR	ORTA	YOK	ORTA-CİDDİ
					1			
36	E. E.	E	5,5	YOK	YOK	CİDDİ	YOK	HAFİF
37	İ. A.	K	12	YOK	YOK	CİDDİ	YOK	ORTA-CİDDİ
38	A. A.	E	3,5	VAR	VAR	CİDDİ	YOK	HAFİF
				1	1			
39	Y. Ç.	E	4	YOK	VAR	CİDDİ	YOK	YOK
					1			
40	D. K.	K	3	YOK	VAR	ORTA	YOK	HAFİF
					1			



No	Adı Soyadı	Cinsiyet	Yaş(Ay)	Wheezing	Retraksiyon	Öksürük	Ateş	Rinore
61	S. Ş. A.	K	3,5	VAR 2	YOK	CİDDİ	YOK	YOK
62	S. E.	K	8	YOK	VAR 1	ORTA	YOK	HAFİF
63	G. K.	K	5	YOK	VAR 1	CİDDİ	YOK	HAFİF
64	A. S. A.	E	5	YOK	YOK	HAFİF	YOK	HAFİF
65	Ç. Y.	E	13	YOK	VAR 1	ORTA	VAR	ORTA-CİDDİ
66	B. Y.	E	6,5	VAR 2	VAR 1	HAFİF	YOK	ORTA-CİDDİ
67	A. Y.	K	12	VAR 1	VAR 1	CİDDİ	YOK	ORTA-CİDDİ
68	B. K.	E	3	YOK	VAR 1	CİDDİ	YOK	YOK
69	A. B. H.	E	8	VAR 1	YOK	HAFİF	YOK	YOK
70	Ş. T.	K	2	VAR 2	VAR 1	CİDDİ	YOK	HAFİF
71	E. Y.	E	3,5	YOK	VAR 1	HAFİF	YOK	HAFİF
72	M. K. G.	E	2	VAR 1	VAR 1	CİDDİ	YOK	HAFİF
73	G. U.	K	10	VAR 1	VAR 1	HAFİF	YOK	ORTA-CİDDİ
74	R. Ü.	K	21	YOK	VAR 1	HAFİF	YOK	ORTA-CİDDİ
75	A. K.	E	4,5	YOK	VAR 1	HAFİF	YOK	HAFİF
76	M. D.	E	7	YOK	VAR 1	ORTA	YOK	YOK
77	H. N. Y.	K	1	YOK	YOK	CİDDİ	YOK	HAFİF
78	E. Y.	K	15	VAR 1	VAR 1	ORTA	YOK	HAFİF
79	Y. Y. Ç.	E	6,5	VAR 1	VAR 1	HAFİF	YOK	ORTA-CİDDİ
80	U. A.	E	9	VAR 1	YOK	HAFİF	YOK	HAFİF

No	Adı Soyadı	Cinsiyet	Yaş(Ay)	Wheezing	Retraksiyon	Öksürük	Ateş	Rinore
81	Y. A. D.	E	3	YOK	YOK	ORTA	YOK	YOK
82	B. K.	E	8	VAR	VAR	CİDDİ	YOK	YOK
				1	1			
83	D. E.	E	11	YOK	YOK	ORTA	YOK	ORTA-CİDDİ
84	M. E. K.	E	9	YOK	VAR	ORTA	YOK	ORTA-CİDDİ
					1			
85	Z. Y. Y.	E	12	YOK	YOK	ORTA	VAR	YOK
86	S. E.	K	10	YOK	YOK	CİDDİ	YOK	ORTA-CİDDİ
87	O. B.	E	2,5	VAR	VAR	ORTA	YOK	HAFİF
				1	1			
88	U. E. Ç.	E	11	YOK	VAR	ORTA	YOK	ORTA-CİDDİ
					1			
89	E. U.	E	10	YOK	YOK	ORTA	VAR	ORTA-CİDDİ
90	F. B. Ç.	E	6	VAR	YOK	HAFİF	YOK	YOK
				1				
91	H. K.	K	18	YOK	YOK	ORTA	VAR	HAFİF
92	E. O.	E	12	VAR	YOK	ORTA	VAR	ORTA-CİDDİ
				1				
93	İ. G.	K	10	VAR	VAR	HAFİF	YOK	ORTA-CİDDİ
				1	1			
94	S. Ü.	K	17	YOK	VAR	CİDDİ	VAR	HAFİF
					1			
95	H. H.	E	2,5	YOK	VAR	CİDDİ	YOK	YOK
					1			
96	E. Y.	K	3	YOK	YOK	CİDDİ	YOK	HAFİF
97	A. A.	K	7	VAR	VAR	CİDDİ	VAR	YOK
				1	1			
98	B. U. S.	E	4	YOK	VAR	ORTA	YOK	YOK
					1			
99	C. K.	E	7,5	YOK	VAR	HAFİF	YOK	ORTA-CİDDİ
					1			
100	E. A.	E	3,5	VAR	VAR	CİDDİ	YOK	HAFİF
				2	1			



No	Adı Soyadı	Cinsiyet	Yaş(Ay)	Wheezing	Retraksiyon	Öksürük	Ateş	Rinore
121	B. Ç.	K	4	VAR 2	VAR 1	ORTA	YOK	HAFİF
122	İ. N. D.	K	4	YOK	VAR 1	ORTA	YOK	HAFİF
123	B. G.	K	7	YOK	YOK	ORTA	VAR	ORTA-CİDDİ
124	S. Ö.	K	3	YOK	VAR 1	HAFİF	VAR	YOK
125	B. U.	K	11	YOK	VAR 1	CİDDİ	VAR	ORTA-CİDDİ
126	İ. K.	E	3	YOK	VAR 1	ORTA	VAR	YOK
127	E. G.	K	5	YOK	VAR 1	HAFİF	YOK	HAFİF
128	C. T.	E	11	YOK	VAR 1	CİDDİ	YOK	HAFİF
129	T. E. A.	E	11	YOK	VAR 1	CİDDİ	YOK	ORTA-CİDDİ
130	M. E. Y.	E	1,5	YOK	VAR 1	ORTA	YOK	ORTA-CİDDİ
131	C. M.	K	2	YOK	VAR 1	CİDDİ	YOK	YOK
132	K. E. I.	E	3,5	YOK	VAR 1	HAFİF	YOK	YOK
133	B. B.	E	16	YOK	VAR 1	CİDDİ	YOK	HAFİF
134	S. O.	E	5	YOK	YOK	CİDDİ	VAR	YOK
135	H. T.	E	9	YOK	VAR 1	CİDDİ	YOK	ORTA-CİDDİ
136	H. G.	K	3	YOK	VAR 1	CİDDİ	YOK	YOK
137	A. E. Ş.	K	11	YOK	VAR 1	HAFİF	YOK	HAFİF
138	K. E. Ş.	E	5	VAR 1	VAR 1	CİDDİ	VAR	ORTA-CİDDİ
139	A. S. A.	K	8	YOK	YOK	ORTA	YOK	HAFİF
140	A. G.	E	7	YOK	YOK	CİDDİ	YOK	ORTA-CİDDİ

No	Adı Soyadı	Cinsiyet	Yaş(Ay)	Wheezing	Retraksiyon	Öksürük	Ateş	Rinore
141	F. Ş.	K	11	VAR 1	YOK	HAFİF	VAR	ORTA-CİDDİ
142	A. Ç.	K	6	YOK	YOK	CİDDİ	VAR	HAFİF
143	F. A.	E	10	VAR 2	VAR 1	CİDDİ	VAR	ORTA-CİDDİ
144	C. K.	K	4	YOK	VAR 1	CİDDİ	VAR	HAFİF
145	E. Y.	K	15	YOK	VAR 1	HAFİF	VAR	YOK
146	A. F. E.	E	5	YOK	VAR 1	CİDDİ	YOK	YOK
147	İ. K.	K	6	YOK	YOK	ORTA	YOK	ORTA-CİDDİ
148	İ. K.	K	6	YOK	YOK	CİDDİ	VAR	ORTA-CİDDİ
149	E. D. Ö.	E	9	YOK	VAR 1	CİDDİ	YOK	ORTA-CİDDİ
150	Ö. B. Ö.	E	3,5	YOK	YOK	CİDDİ	YOK	YOK
151	M. K.	E	1,5	YOK	YOK	HAFİF	YOK	HAFİF
152	A. E.	E	7	YOK	VAR 1	HAFİF	YOK	YOK
153	U. E.	E	11	VAR 2	VAR 1	CİDDİ	VAR	ORTA-CİDDİ
154	Z. A.	K	9	YOK	YOK	CİDDİ	VAR	ORTA-CİDDİ
155	G. Ö.	E	7	YOK	YOK	HAFİF	VAR	HAFİF
156	A. B. S.	E	2	YOK	VAR 1	HAFİF	YOK	HAFİF
157	İ. A.	K	18	YOK	VAR 1	HAFİF	YOK	YOK
158	E. B.	K	9	YOK	YOK	ORTA	VAR	ORTA-CİDDİ
159	N. E.	K	4	YOK	YOK	ORTA	YOK	ORTA-CİDDİ
160	A. C.	K	5	VAR 2	VAR 1	ORTA	YOK	HAFİF

No	Adı Soyadı	Cinsiyet	Yaş(Ay)	Wheezing	Retraksiyon	Öksürük	Ates	Rinore
161	K. A.	E	8,5	YOK	VAR	ORTA	VAR	ORTA-CİDDİ
					1			
162	Y. Y.	K	3	YOK	VAR	HAFİF	YOK	YOK
					1			
163	Y. Ç. Y.	E	8,5	YOK	VAR	ORTA	YOK	ORTA-CİDDİ
					1			
164	A. A.	E	4	YOK	YOK	CİDDİ	VAR	HAFİF
165	İ. T.	K	1,5	YOK	VAR	ORTA	YOK	HAFİF
					1			
166	R. Ç.	K	5,5	YOK	VAR	ORTA	YOK	ORTA-CİDDİ
					1			
167	E. M.	E	6	VAR	VAR	CİDDİ	YOK	YOK
				2	1			
168	B. P.	E	6	VAR	VAR	CİDDİ	YOK	ORTA-CİDDİ
				1	1			
169	İ. K.	E	24	YOK	YOK	CİDDİ	YOK	HAFİF
170	H. B. K.	E	9	YOK	VAR	ORTA	VAR	YOK
					1			
171	A. D.	E	7	YOK	VAR	ORTA	YOK	ORTA-CİDDİ
					1			
172	E. K.	E	9	VAR	VAR	ORTA	YOK	ORTA-CİDDİ
				1	1			
173	E. D.	E	9	YOK	VAR	CİDDİ	VAR	ORTA-CİDDİ
					1			
174	M. K. O.	E	2,5	VAR	VAR	ORTA	YOK	HAFİF
				1	1			
175	İ. Y.	K	7	YOK	VAR	ORTA	YOK	YOK
					1			
176	A. A.	E	4	VAR	YOK	ORTA	YOK	YOK
				2				
177	Z. O.	K	8	YOK	VAR	ORTA	YOK	ORTA-CİDDİ
					1			
178	M. E. K.	E	10	VAR	VAR	HAFİF	YOK	ORTA-CİDDİ
				1	1			
179	R. K.	K	11	VAR	VAR	HAFİF	VAR	HAFİF
				2	1			
180	İ. A. A.	E	2	YOK	VAR	CİDDİ	YOK	YOK
					1			

No	Adı Soyadı	Cinsiyet	Yaş(Ay)	Wheezing	Retraksiyon	Öksürük	Ateş	Rinore
181	A. S.	E	7	YOK	YOK	HAFİF	YOK	YOK
182	N. Y.	K	6	YOK	YOK	CİDDİ	VAR	ORTA-CİDDİ
183	A. B. Y.	K	15	YOK	YOK	HAFİF	VAR	ORTA-CİDDİ
184	Ö. M. D.	E	11	VAR	VAR	ORTA	VAR	HAFİF
185	U. M. B.	E	23	YOK	YOK	CİDDİ	VAR	ORTA-CİDDİ
186	E. T. V.	E	19	YOK	YOK	ORTA	VAR	ORTA-CİDDİ
187	İ. S.	K	2	YOK	VAR	HAFİF	YOK	ORTA-CİDDİ
188	H. T. A.	E	3	VAR	VAR	CİDDİ	YOK	YOK
189	A. Ç.	E	6	YOK	VAR	CİDDİ	YOK	ORTA-CİDDİ
190	A. B.	E	4	YOK	VAR	HAFİF	VAR	YOK
191	S. A.	K	15	YOK	YOK	ORTA	VAR	HAFİF
192	O. D. C.	E	8	YOK	YOK	ORTA	YOK	YOK
193	E. Ö.	E	4	YOK	YOK	HAFİF	YOK	YOK
194	N. A.	K	2	YOK	YOK	ORTA	YOK	YOK
195	S. Y.	K	13	YOK	YOK	HAFİF	VAR	ORTA-CİDDİ
196	S. U.	K	5	YOK	YOK	CİDDİ	YOK	HAFİF
197	İ. Ş.	K	7	YOK	YOK	CİDDİ	YOK	YOK
198	F. S.	E	4	YOK	YOK	CİDDİ	YOK	YOK
199	E. B.	K	2,5	YOK	YOK	ORTA	YOK	HAFİF
200	K. M. K.	E	9	YOK	YOK	HAFİF	VAR	ORTA-CİDDİ

\* Kırmızı ile işaretli olan hastalar HBoV pozitif bulunmuştur.

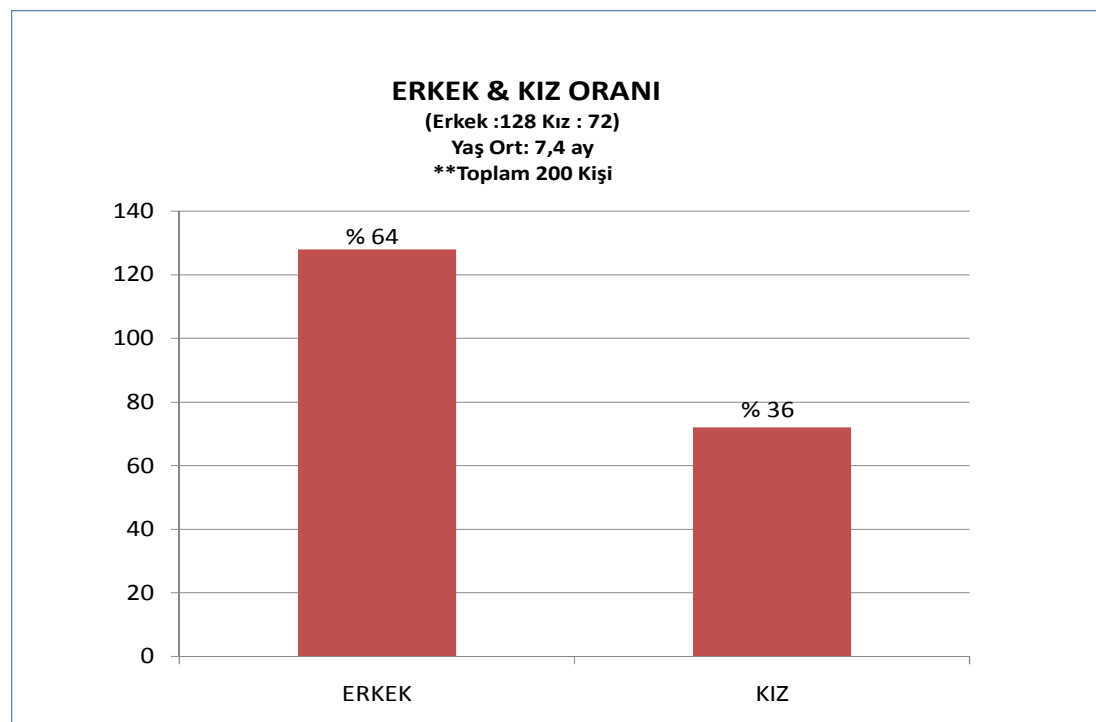
**Tablo 1** : İncelenen hastaların cinsiyet,yaş ve semptom dağılımı

KLİNİK SKORLAMA TABLOSU				
SONUÇLAR	0	1	2	3
<b>Wheezing</b>	Yok	Ekspiryumda Steteskopla (+)	Ekspiryumda Steteskopsuz (+)	Hem İnspiryum hem Ekspiryumda Steteskopsuz (+)
<b>Retraksiyon</b>	Yok	İnterkostal-Subkostal	Trakeosternal	Burun Kanadı

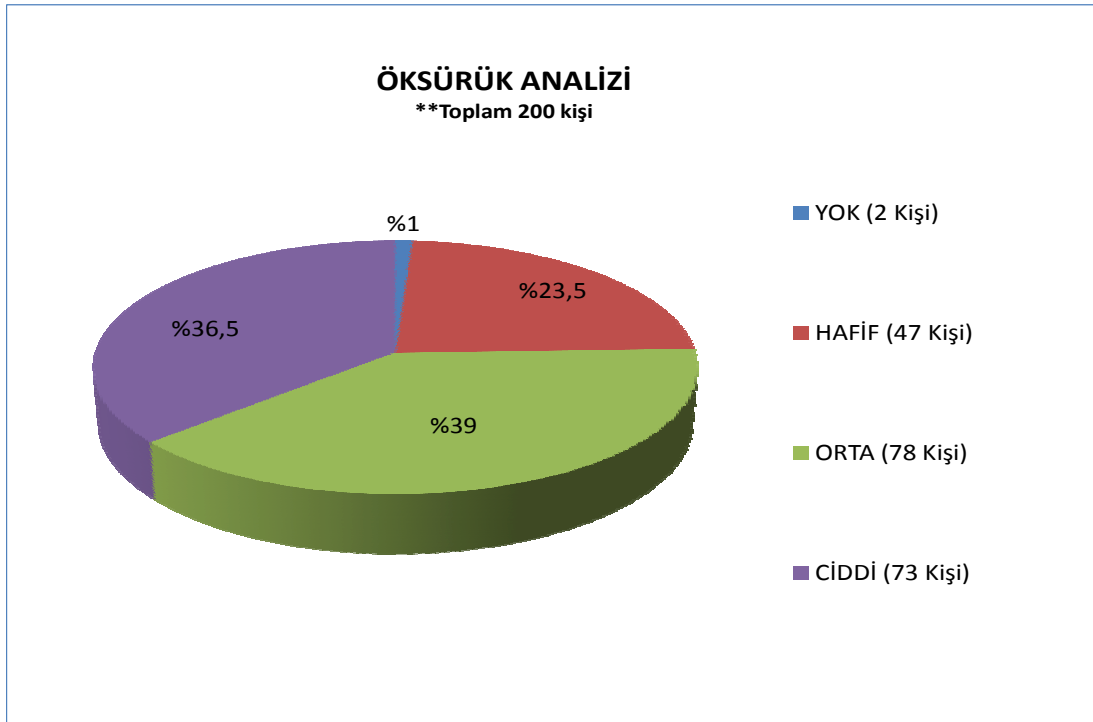
  

ATEŞ SKORLAMA TABLOSU		
SONUÇLAR	VAR	YOK
<b>ATEŞ</b>	Ateş>37,8°	Ateş<37,8°

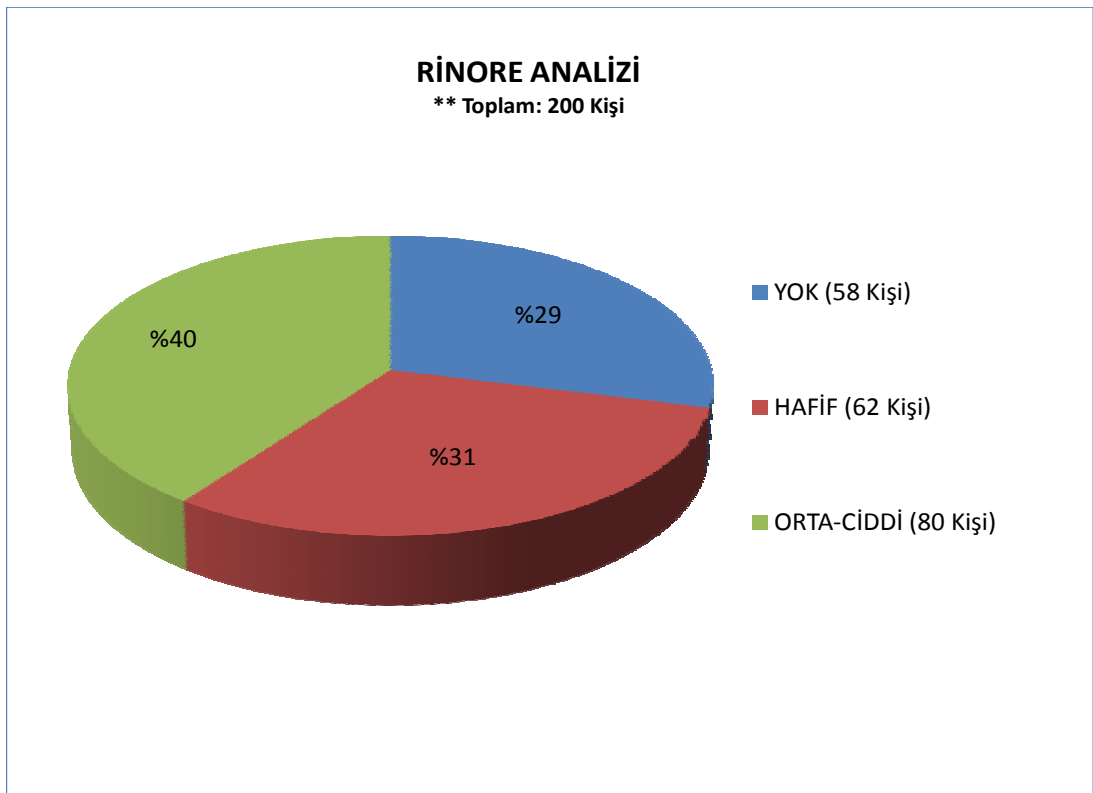
**Tablo 2:** Wheezing, retraksiyon ve ateş skorlaması



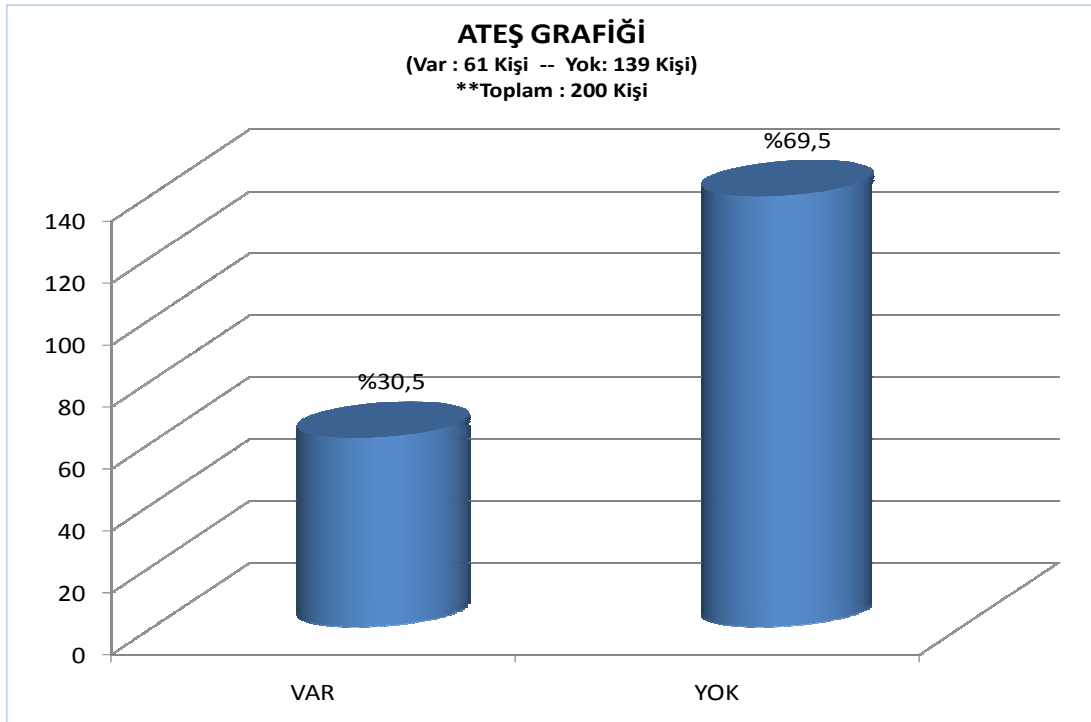
**Şekil 3 :** İncelenen hastaların kız / erkek oranı



**Şekil 4 :** İncelenen hastaların öksürük analizi

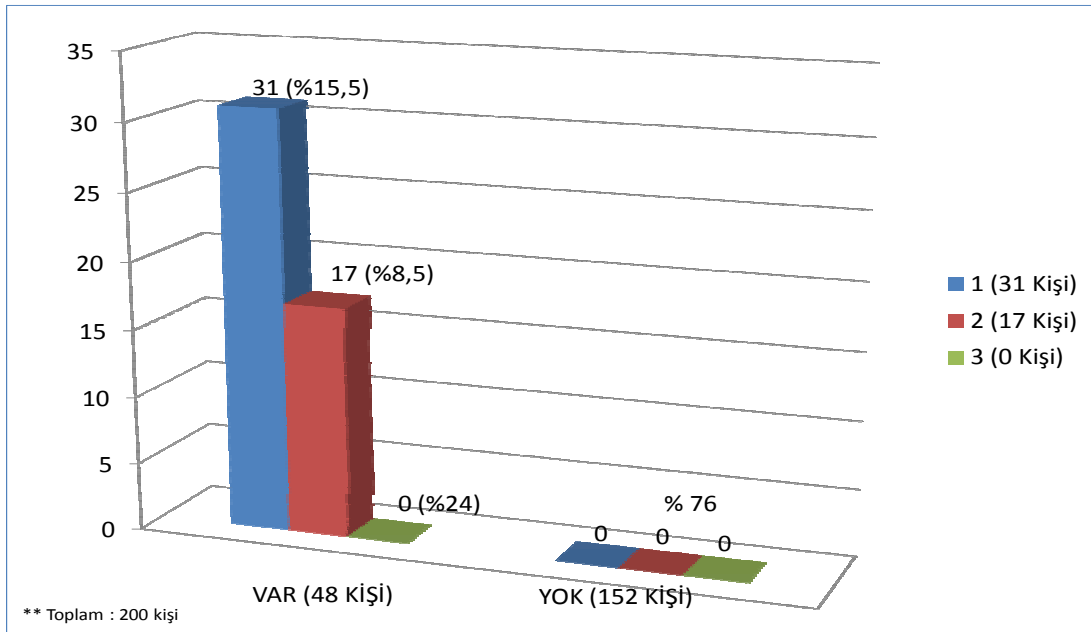


**Şekil 5 :** İncelenen hastaların rinore analizi



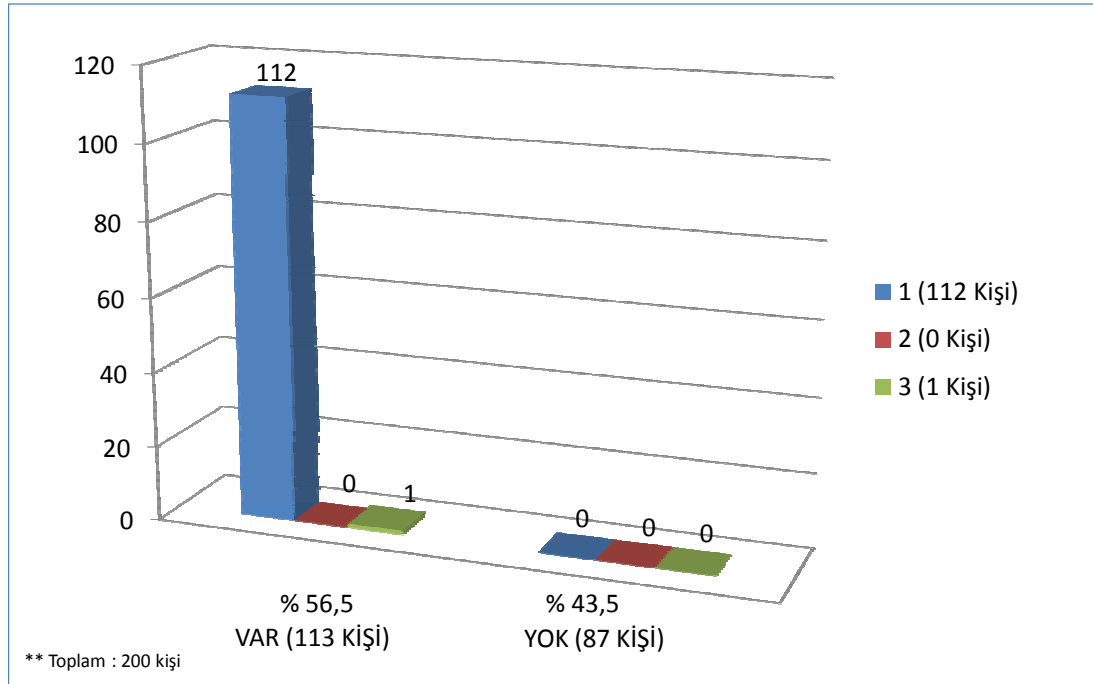
**Şekil 6** : İncelenen hastaların ateş analizi

## Wheezing Oranları



**Şekil 7** : İncelenen hastaların wheezing oranları

## Retraksiyon Oranları



**Şekil 8 :** İncelenen hastaların retraksiyon oranları

## 5. TARTIŞMA

Yaklaşık 30 yıldır, *Parvovirus B19*' un, *Parvoviridae* ailesinin insanlarda hastalık yapan tek üyesi olduğu kabul edilmişti. Allender ve arkadaşları, 2005 yılında insan nazofarengeal aspirat örneklerinden daha önce bilinmeyen bir virus keşfettiler. Kapsamlı sekans ve filogenetik analizler sonucu bu virusun *Parvoviridae* ailesinin bir üyesi olduğu bulundu. Çok küçük olan **bovine** ve **canine** parvoviruslerle çok yakın ilişkisi olduğu göz önüne alınarak bu virüse İnsan Bocavirusu (HBoV) adı verildi. Sonraki çalışmalarla bu virüsle ilişkili 2 virus daha izole edildi ve geçici olarak HBoV-2 ve HBoV-3 olarak isimlendirildi. Bu virus tanımlandıktan sonra, HBoV genomu tüm dünyada nazofarengeal yıkantılarda, serum ve dışkı örneklerinde sıklıkla görülmeye başlandı. (Allender ve ark., 2005; Kapoor ve ark., 2009; Arthur ve ark., 2009)

Allender ve arkadaşları ilk araştırmalarını yaparken, çeşitli kliniklerde yatan 266 çocuk ve 112 erişkin hasta olmak üzere, yaklaşık bir yıl boyunca 378 nazofarengeal aspirat örneği toplamışlardır. Kültürleri negatif çıkan bu örneklerin 7 tanesinde (%1.8) HBoV DNA pozitif bulunmuş ve bu örneklerin hepsinin çocuk hasta grubuna ait olduğu görülmüştür. Bu bulgular ışığında daha kapsamlı bir retrospektif çalışma planlayan ekip, hastanede yatan 540 çocuk hastadan 1 yıl boyunca topladıkları nazofarengeal aspirat örneklerini incelemişlerdir. Bunlardan 17 tanesinde (% 3.1 ) HBoV DNA pozitif olarak tespit edilmiştir. Pozitif bulunan bu örneklerin 3 tanesinde ikinci bir etken saptanmış ve 1 örnekte adenovirus, 2 örnekte RSV olarak bildirilmiştir. Bu durumdan şu gerçek ortaya çıkar ki; HBoV , diğer saptanabilen viruslerin yokluğunda dikkat çekecek şekilde sık görülmektedir. Böylece HBoV' nin açıklanamayan solunum yolu enfeksiyonlarının etkeni olabileceği düşünülebilir. (Allender ve ark.2005)

Bildirilen ilk vakalardan beri bütün dünyadaki akut solunum yolu enfeksiyonlu çocuklarda HBoV varlığı 60' dan fazla çalışmayla araştırılmış; virusun varlığını tanımlayan birçok makalede bunların hastalıkla ilişkisi konusunda

net bir sonucu ulaşılamamıştır. Koch postülatına uyum, başarılı kültür uygulaması ve hayvan modelleri konusunda da net sonuçlar olmadığından HBoV - hastalık ilişkisi kesinleştirilememektedir.

Çeşitli çalışmalarda gösterildiği üzere, HBoV-1' in şiddetli solunum yolu hastalıklarıyla ilişkili olma olasılığı artmaktadır. Raporlarda, bu virusun hastaneye yatmış bronşiolitli, astım ataklı ve wheezingli çocuklardan saptandığı belirtilmiş, wheezingin çocukların büyük bir kısmında saptanması dikkat çekici bulunmuştur. Garcia ve arkadaşlarının yaptığı bir prospektif çalışmada; solunum yolu enfeksiyonu yaptığı bilinen 16 virus karşılaştırılmış, HBoV' nin tek ajan olarak saptandığı hastaların % 50' sinden fazlasında wheezing görülmüştür. Yine bu çalışmada sürpriz şekilde, ek enfeksiyonu olan çocuklarda wheezing daha az görülmüştür. Diğer yaygın bulgular takipne, ateş ve hipoksi olarak tespit edilmiştir. Kaplan ve arkadaşlarının Ürdün'de yaptıkları bir çalışmada, akut solunum yolu hastalığı sebebiyle hastaneye yatırılan 312 çocuk hastanın 57'sinde (%18,3) HBoV pozitif bulunmuştur. Fry ve arkadaşlarının Tayland' da yaptıkları bir çalışmada; HBoV' nin hastanede yatan pnömonili hastalarda belirgin şekilde etken olabileceği bildirilmiştir. (Kaplan ve ark., 2006; Allender ve ark., 2007; Gendrel ve ark., 2007; Fry ve ark., 2007; Jacques ve ark., 2008; Bosis ve ark., 2008; Garcia ve ark., 2009 )

HBoV' nin immunitesi düşük popülasyonda etken olabileceği tartışılmış ve bu konuda çalışmalar yapılmıştır; Schenk ve arkadaşları kök hücre transplantasyonu yapılmış bir çocukta HBoV ve rinovirus birlikteliğini raporlamış; ateş, dispne wheezing ve göğüs filminde infiltrasyonları olan bu çocuğun nazofarenksiden, dışkılarından ve kanından HBoV izole edilmiştir. Koskenvuo ve arkadaşları, akut lenfoblastik lösemili ve ateşli solunum yolu enfeksiyonu geçiren bir grup çocukta HBoV saptamışlar, bir diğer karşılaştırmalı çalışmalarında HBoV' yi, 3. en sık etken olarak tanımlamışlardır. Buna karşılık; Garbino ve arkadaşları, hastanede yatan HIV pozitifliği erişkin bir hastadan HBoV pozitifliği bildirmişlerdir. Muller ve

arkadaşlarının bir çalışmasında Pneumocystis jiroveci pnömonisi olduğu düşünülen HIV pozitifliği 128 hastada, viral patojen etkisi araştırılırken sadece 1 hastada HBoV pozitifliği de görülmüştür. Miyakis ve arkadaşları, 53 tane erişkin akciğer transplant hastası ve 67 tane semptomatik fakat transplant hastası olmayan kişide yaptıkları prospektif çalışmada hiç HBoV saptamamışlardır. ( Schenk ve ark., 2007; Koskenvuo ve ark., 2008; Garbino ve ark.,2008; Muller ve ark., 2009; Miyakis ve ark., 2009 )

Çalışmaların büyük kısmında HBoV'nin ikinci veya daha fazla patojenle birlikteliği göze çarpmaktadır. Bütün çalışmalarda etken olabilecek her bir patojen çalışılmamış olmasına rağmen sıklıkla birliktelik raporlananlar ; rinovirus, solunum sinsityal virusu (RSV), influenza virus, parainfluenza virusler (1-2-3), enterovirus, adeno virus ve insan metapnömovirusu (HMPV)' dür.Ko-enfeksiyon oranı tüm çalışmalar için ortalama % 43' dür .En yüksek birliktelik oranları influenza, rinovirus ve enterovirusler için verilmektedir. Bu durum adı geçen viruslerin toplumda yüksek sıklıkta bulunuyor olmasının bir yansıması olmasına rağmen, bu birlikteliğin HBoV için yarar sağlıyor olabileceği görüşü tartışılmaktadır.

Bu raporların birçoğunda yüksek ko-enfeksiyon oranı bildirildiği için HBoV' nin infekte hastalarda patojen ve etken olduğunu söylemek zordur. Buna rağmen şu söylenebilir ki semptomatik hastalarda sağlıklı kontrollere göre HBoV saptanma sıklığı daha yüksektir. (Kesebir ve ark., 2006; Maggi ve ark., 2007; Fry ve ark., 2007; Von Linstow ve ark., 2008; Chieochansin ve ark., 2008)

Birçok virus respiratuvar yolla bulaşır fakat semptom vermez. Hastalık için belirli bir ajanın etken olarak kabul edilmesi çok çalışma gerektiren bir süreçtir. Bu durum bir kültür sistemi ya da hayvan modeli yokluğunda daha da zorlaşır. Buna rağmen, yeni tanımlanan insan koronavirus (HCoV) veya insan rinovirus (HRV) suşlarının patojenitesi tartışma konusu olmamış; konu tanımlanmış solunum yolu patojenleri ile genetik benzerliğe bağlanmıştır.

HBoV' deki durum farklı ve çeşitli nedenler yüzünden karışıktır. Birincisi; HBoV bilinen insan solunum yolu patojenleri ile ilişkisizdir. İkincisi; HBoV belki de diğer insan parvovirüsleri gibi asemptomatik persistans gösteriyor olabilir. Üçüncüsü; HBoV sıklıkla, solunum yolu patojeni olduğu kanıtlanmış diğer virüslerle birlikte saptanmıştır. Tüm bu gerçekler sonucunda solunum yolu örneklerinde HBoV saptanması asemptomatik devamlılığı ya da viral dökülmeyi düşündürür. Diğer bir hipotez; diğer solunum yolu ajanlarının replikasyonu sırasında HBoV ile geçici asemptomatik enfeksiyon tetiklenebilir (Fredericks ve ark., 1996; Lefrere ve ark., 2005; Lindblom ve ark., 2005; Kesibir ve ark., 2006; Allender ve ark., 2007; Fry ve ark., 2007; Kantola ve ark., 2008 )

Semptomatik ve asemptomatik bireylerin solunum yolu örneklerinin virus prevalansının karşılaştırılması konusunda endişe edilen önemli bir nokta, solunum yolu örnekleri konusundaki önyargıdır. İnflamatuvar olaylarda, sebep ne olursa olsun hücreden zengin bir mukoid sekresyon üretilecektir; bu da örneğin kolay alınıp kullanılmasına yardımcı olur fakat asemptomatik hastalarda nazofarengeal sekresyon çok azdır. HBoV için alternatif hipotez ise; virus persistans ya da uzun süreli dönemde respiratuvar yolda dökülme gösteriyorsa bu dökülme sayısı PCR saptaması için alt limitte olabilir. Bu nedenle semptomatik ve asemptomatik bireylerin karşılaştırılması için viral yük bildirilmelidir.

HBoV saptanmış solunum yolu enfeksiyonu olan hastalarda, gastrointestinal sistem bulguları % 25 oranına kadar bildirilmiştir; bu durum HBoV' nin sadece solunum yoluyla sınırlı olmadığı göstermektedir. HBoV' nin çok yakın ilişkili olduğu bovine ve canine parvovirüsleri de solunum yolu ve enterik patojen olarak tanımlanmıştır. Daha sonraki incelemelerle HBoV'nin dışkı örneklerinde de bulunduğu saptanmıştır. Solunum yolu hastalıklarında olduğu gibi gastrointestinal sistem hastalıklarında da HBoV'nin sıklıkla diğer enterik patojenlerle birlikte saptandığı dikkati çekmiş, % 21-77,6 arası oranlarda bulunmuştur. Birliktelik bildirilen patojenler; norovirus, rotavirus,

astrovirus, adenovirus, kampilobakter, salmonella ve Clostridium diffciledir. (Burns ve ark., 2007; Chieochansin ve ark., 2008; Lau ve ark., 2007; Lee ve ark., 2007; Albuquerque ve ark., 2007; Cheng ve ark., 2008; Yu ve ark., 2008; Campe ve ark., 2008; Schildgen ve ark. 2007)

Arthur ve arkadaşlarının yaptığı çok yakın tarihli bir çalışmada; akut gastroenteriti olan çocuklardan alınan dışkı örneklerinde çalışılmıştır. HBoV' nin 3 türü de (HBoV 1-2-3 ) izole edilmiş ve rotavirusten sonra en sık viral ajan olduğu görülmüştür. HBoV-rotavirus birlikteliği ile oluşan klinik ve rotavirusun yalnız başına oluşturduğu klinik arasında dikkati çeken bir farklılık bulunamamıştır. Bu yüzden HBoV varlığının hastalığı şiddetlendirmedeği söylenebilir. (Arthur ve ark., 2009)

HBoV, immün sistemi baskılanmış hastalardan alınan dışkı örneklerinde de nadiren bulunmuştur. Kök hücre transplantasyonu yapılmış ve ishali olan 4 yaşındaki bir çocuk hastada, transplant sonrası dışkısında 21. ve 75. günde HBoV saptanmış ve etken olabileceği bildirilmiştir. T hücre bozukluğu olan bir hastadan dışkı ve faringeal aspirat örneklerinde HBoV pozitif ve ilişkili hepatit raporlanırken, B hücre defektli ve ishali olan bir hastadan HBoV pozitifliği bildirilmiştir. Aksine, HBoV ilişkili solunum yolu hastalığı olan immunitesi düşük bir hasta grubunda HBoV ilişkili gastrointestinal hastalığa rastlanmamıştır Solunum yolu hastalığı olan ve HBoV pozitif saptanan hastalarda HBoV' nin aynı zamanda ishal sebebi olup olmadı henüz açık değildir. (Schenk ve ark., 2007; Lau ve ark., 2007; Kainulainen ve ark., 2008)

Bizim çalışmamızda daha önce bronşiolit tanısı almış 2 yaş altı çocukların akut atak ile başvuran 50 tanesinden alınan nazofarengal aspirat örnekleri, PZR yöntemi ile incelenmiş, 2 tanesinde (% 4) HBoV pozitifliği saptanmıştır. Bu sonuç literatür bilgileri ile uyumludur. Bu virüsle ilgili ko-enfeksiyon oranının yükseklği nedeniyle solunum yolu patojeni olduğu bilinen diğer viruslerin karşılaştırılması gerekmektedir.

Sonuç olarak; HBoV' nin patojenitesi ile ilgili kanıtlar artmakla birlikte, HBoV' nin hastalıklarla ilişkisi ve şiddetiyle ilgili bilgilerin artması için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

## ÖZET

### ÇOCUKLUK ÇAĞI AKUT SOLUNUM YOLLARI İNFEKSİYONLARINDA BOCAVİRUS SAPTANMASI

Solunum yolu enfeksiyonları çocukluk çağında mortalite ve morbiditenin en önemli nedenlerindedir. Sebep daha çok viral kaynaklıyken bazı vakalarda sebep belirlenememektedir.

Yeni bir virus olan İnsan Bocavirusu (HBoV) ilk kez 2005 yılında İsveç' te, solunum yolu enfeksiyonu gözlenen çocukların nazofarengeal aspirat örneklerinden izole edilmiştir. İzole edilen bu virusun filogenetik analizleri sonucunda, Parvoviridae ailesinin üyeleri olan bovine ve canine minute virusleri ile çok yakın ilişkisi olduğu tespit edilmiştir. Sonraki çalışmalarla bu virusun özellikle 5 yaş altındaki çocuklarda akut solunum yolu enfeksiyonlarında etken olduğu gösterilmiştir.

Mart 2009 - Kasım 2009 tarihleri arasında yürüttüğümüz çalışmamızda, fakültemiz çocuk hastalıkları polikliniği ve çocuk acil polikliniğine solunum yolu enfeksiyonu şikayetiyle başvuran 2 yaş altındaki çocuklardan nazofarengeal aspirat örnekleri toplanmış ve -80 ° C' de çalışılincaya kadar saklanmıştır. Daha sonra HBoV DNA' sı PZR yöntemi kullanılarak araştırılmıştır.

Sonuç olarak 200 hastanın 6 tanesinde (%3) HBoV DNA pozitif olarak saptanmıştır.

## SUMMARY

### DETECTION OF BOCAVIRUS IN AKUT RESPIRATUVAR TRACT INFECTIONS IN CHILDHOOD

Respiratory system infections are among the important causes of childhood mortality and morbidity. More frequent agents are viruses whilst the reason can not be found in some cases.

Human Boca Virus (HBoV) which is a new virus was first isolated from the nasopharyngeal aspiration samples of children with respiratory system infection in Sweden in 2005. Filogenetic analysis showed that this virus is closely related with bovine and canine minute viruses which are members of Parvovirus family. Consequent studies showed that this virus is an agent leading to acute respiratory system infection under 5 years old children.

Children under 2 years who admitted to the department of pediatrics and pediatrics ER of Ankara University with a respiratory system infection between March 2009 – November 2009 participated in the study. Nasopharyngeal aspiration samples of the children were collected and were stored in  $-80^{\circ}\text{C}$  in deep freezer. HboV DNA were studied with PCR method.

Of 200 patients, six (%3) were HBoV DNA positive

**KAYNAKLAR**

- Albuquerque MC, Rocha LN, Benati FJ,. Human bocavirus infection in children with gastroenteritis, Brazil. *Emerg Infect Dis* 2007;13(11):1756–8.
- Allander T, Jartti T, Gupta S,. Human bocavirus and acute wheezing in children. *Clin Infect Dis* 2007;44(7):904–10.
- Allander T, Tammi MT, Eriksson M,. Cloning of a human Parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102(36):12891–6.
- Allander, T., T. Jartti, S. Gupta, H. G. Niesters, P. Lehtinen, R. Osterback, T. Vuorinen, M. Waris, A. Bjerkner, A. Tiveljung-Lindell, B. G. van den Hoogen, T. Hyypia, and O. Ruuskanen. 2007. Human bocavirus and acute wheezing in children. *Clin. Infect. Dis.* 44:904–910.
- Arnold JC, Singh KK, Spector SA,. Human bocavirus: prevalence and clinical spectrum at a children’s hospital. *Clin Infect Dis* 2006;43(3):283–8.
- Arthur JL, Higgins GD, Davidson GP,. A novel bocavirus associated with acute gastroenteritis in Australian children. *PLoS Pathog* 2009;5(4):e1000391.
- Bastien N, Brandt K, Dust K,. Human bocavirus infection, Canada. *Emerg Infect Dis* 2006;12(5):848–50.
- Birnbaum HG, Morley M, Greenberg PE,. Economic burden of respiratory infections in an employed population. *Chest* 2002;122(2):603–11.
- Bosis S, Esposito S, Niesters HG,. Role of respiratory pathogens in infants hospitalized for a first episode of wheezing and their impact on recurrences. *ClinMicrobiol Infect* 2008;14(7):677–84.
- Burns K, Parrish CR. Parvoviridae. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields’ virology*. 5th edition. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2007. p. 2437–66.
- Calvo C, Garcia-Garcia ML, Blanco C,. Human bocavirus infection in a neonatal intensive care unit. *J Infect* 2008;57(3):269–71
- Campe H, Hartberger C, Sing A. Role of Human Bocavirus infections in outbreaks of gastroenteritis. *J Clin Virol* 2008;43(3):340–2.
- Cheng WX, Jin Y, Duan ZJ,. Human bocavirus in children hospitalized for acute gastroenteritis: a case-control study. *Clin Infect Dis* 2008;47(2):161–7.

- Chen, A.Y., Cheng, F., Lou, S., Qui, J., 2010 Characterization of the gene expression profile of human *bocavirus*. *Virology*. 2010 May 8
- Chieochansin T, Thongmee C, Vimolket L,. Human bocavirus infection in children with acute gastroenteritis and healthy controls. *Jpn J Infect Dis* 2008; 61(6):479–81.
- Choi EH, Lee HJ, Kim SJ,. The association of newly identified respiratory viruses with lower respiratory tract infections in Korean children, 2000–2005. *Clin Infect Dis* 2006;43(5):585–92.
- Chow BD, Huang YT, Esper FP. Evidence of human bocavirus circulating in children and adults, Cleveland, Ohio. *J Clin Virol* 2008;43(3):302–6.
- Chung JY, Han TH, Kim CK,. Bocavirus infection in hospitalized children, South Korea. *Emerg Infect Dis* 2006;12(8):1254–6.
- Drosten C, Gunther S, Preiser W, et al. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med* 2003;348(20): 1967–76
- Endo R, Ishiguro N, Kikuta H,. Seroepidemiology of human bocavirus in Hokkaido prefecture, Japan. *J Clin Microbiol* 2007;45(10):3218–23.
- Fouchier RA, Hartwig NG, Bestebroer TM,. A previously undescribed coronavirus associated with respiratory disease in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101(16):6212–6.
- Fredericks, D. N., and D. A. Relman. 1996. Sequence-based identification of microbial pathogens: a reconsideration of Koch's postulates. *Clin. Microbiol. Rev.* 9:18–33.
- Fry AM, Lu X, Chittaganpitch M,. Human bocavirus: a novel Parvovirus epidemiologically associated with pneumonia requiring hospitalization in Thailand. *J Infect Dis* 2007;195(7):1038–45.
- Garcia ML, Calvo C, Pozo F,. Detection of human bocavirus in ill and healthy Spanish children: a 2-year study. *Arch Dis Child* 2009;94(3):249.
- Gendrel D, Guedj R, Pons-Catalano C,. Human bocavirus in children with acute asthma. *Clin Infect Dis* 2007;45(3):404–5.
- Jacques J, Moret H, Renois F,. Human bocavirus quantitative DNA detection in French children hospitalized for acute bronchiolitis. *J Clin Virol* 2008;43(2):142–7.
- Kainulainen L, Waris M, Soderlund-Venermo M,. Hepatitis and human bocavirus primary infection in a child with T-cell deficiency. *J Clin Microbiol* 2008; 46(12):4104–5.

- Kantola, K., L. Hedman, T. Allander, T. Jartti, P. Lehtinen, O. Ruuskanen, K. Hedman, and M. Soderlund-Venermo. 2008. Serodiagnosis of human bocavirus infection. *Clin. Infect. Dis.* 46:540–546
- Kaplan NM, Dove W, Abu-Zeid AF,. Human bocavirus infection among children, Jordan. *Emerg Infect Dis* 2006;12(9):1418–20.
- Kapoor A, Slikas E, Simmonds P,. A newly identified bocavirus species in human stool. *J Infect Dis* 2009;199(2):196–200.
- Karalar L, Lindner J, Schimanski S, Kertai M, Segerer H, Modrow S. Prevalence and clinical aspects of human bocavirus infection in children *Clin Microbiol Infect.* 2010 Jun;16(6):633-9.
- Kesebir D, Vazquez M, Weibel C,. Human bocavirus infection in young children in the United States: molecular epidemiological profile and clinical characteristics of a newly emerging respiratory virus. *J Infect Dis* 2006;194(9):1276–82.
- Kleines M, Scheithauer S, Rackowitz A,. High prevalence of human bocavirus detected in young children with severe acute lower respiratory tract disease by use of a standard PCR protocol and a novel real-time PCR protocol. *J Clin Microbiol* 2007;45(3):1032–4.
- Koskenvuo M, Mottonen M, Waris M,. Human bocavirus in children with acute lymphoblastic leukemia. *Eur J Pediatr* 2008;167(9):1011–5.
- Lau SK, Yip CC, Que TL,. Clinical and molecular epidemiology of human bocavirus in respiratory and fecal samples from children in Hong Kong. *J Infect Dis* 2007;196(7):986–93.
- Lee JI, Chung JY, Han TH,. Detection of human bocavirus in children hospitalized because of acute gastroenteritis. *J Infect Dis* 2007;196(7):994–7.
- Lefrere, J. J., A. Servant-Delmas, D. Candotti, M. Mariotti, I. Thomas, Y. Brossard, F. Lefrere, R. Girot, J. P. Allain, and S. Laperche. 2005. Persistent PARVOVIRUS B19 infection in immunocompetent individuals: implications for transfusion safety. *Blood* 106:2890–2895
- Lindner J, Modrow S. Human bocavirus—a novel Parvovirus to infect humans. *Intervirology* 2008;51(2):116–22.
- Maggi F, Andreoli E, Pifferi M,. Human bocavirus in Italian patients with respiratory diseases. *J Clin Virol* 2007;38(4):321–5.
- Miyakis S, van Hal SJ, Barratt J,. Absence of human Bocavirus in bronchoalveolar lavage fluid of lung transplant patients. *J Clin Virol* 2009; 44(2):179–80.

- Murray P R, Rosenthal K S, Pfaller M A. Medical Microbiology. Philadelphia: ASM press; 2007: 177-183, 473-489, 697-707, 817-821, 935-939
- Monteny M, Niesters HG, Moll HA,. Human bocavirus in febrile children, The Netherlands. *Emerg Infect Dis* 2007;13(1):180–2.
- Nguyen- Van- Tam. Epidemiology of influenza. Nicholson G K, Webster R G, Hay A J (ed). *Textbook of influenza* s. Oxford: Blackwell Science Ltd; 1998: 181-206
- Schenk T, Huck B, Forster J,. Human bocavirus DNA detected by quantitative real-time PCR in two children hospitalized for lower respiratory tract infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007;26(2):147–9.
- Schildgen O, Muller A, Simon A. Human bocavirus and gastroenteritis. *Emerg Infect Dis* 2007;13(10):1620–1.
- Smuts H, Hardie D. Human bocavirus in hospitalized children, South Africa. *Emerg Infect Dis* 2006;12(9):1457–8.
- Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi Ltd Şti; 1999: 783-791, 913-919.
- Van den Hoogen BG, de Jong JC, Groen J,. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nat Med* 2001;7(6):719–24.
- Von Linstow ML, Høgh M, Høgh B. Clinical and epidemiologic characteristics of human bocavirus in Danish infants: results from a prospective birth cohort study. *Pediatr Infect Dis J* 2008;27(10):897–902.
- Williams JM. 2009 update in prevention, evaluation, and outpatient treatment of influenza. *Curr Med Res Opin* 2009;25(4):817–28.
- Yu JM, Li DD, Xu ZQ,. Human bocavirus infection in children hospitalized with acute gastroenteritis in China. *J Clin Virol* 2008;42(3):280–5.
- Zeng M, Zhu QR, Wang XH, Yu H, Shen J. 2010. Human bocavirus in children with respiratory tract infection in Shanghai: a retrospective study. *World J Pediatr*. Feb; 6(1):65-70
- Zhi N, Mills IP, Lu J,. Molecular and functional analyses of a human Parvovirus PARVOVIRUS B19 infectious clone demonstrates essential roles for NS1, VP1, and the 11-kilodalton protein in virus replication and infectivity. *J Virol* 2006;80(12):5941–50.
- Ziegler S, Tillmann RL, Muller A,. No gastroenteric Bocavirus in high risk patients stool samples. *J Clin Virol* 2008;43(3):349–50.