

COVID-19 Pandemisi Öncesinde *Coronaviridae* Ailesi Pozitifliğinin ve Mevsimsel Dağılımının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi (2016-2020)

Retrospective Evaluation of the Prevalence and Seasonal Distribution of *Coronaviridae* Positivity Before the COVID-19 Pandemic (2016-2020)

Meryem ÇOLAK¹(iD), Anıl AKTAŞ TAPISIZ²(iD), Özlem GÜZEL TUNÇCAN³(iD), Gülendam BOZDAYI⁴(iD)

¹ Karabük Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Karabük, Türkiye

² Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

³ Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

⁴ Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Makale atfı: Çolak M, Aktaş Tapısız A, Güzel Tunçcan Ö, Bozdayı G. COVID-19 pandemisi öncesinde *Coronaviridae* ailesi pozitifliğinin ve mevsimsel dağılımının; retrospektif olarak değerlendirilmesi (2016-2020). FLORA 2020;25(4):480-9.

ÖZ

Giriş: Koronavirüsler, viral solunum yolu enfeksiyonu etkenlerindedir ve özellikle yaşlılar, kronik hastalığı olanlar, immün sistemi baskılanmış hastalarda ağır solunum yolu enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Çalışmanın amacı, pandemi öncesindeki dört yıllık süreçte (2016-2020) hastanemize başvuran hastalardaki *Coronaviridae* ailesi pozitifliğinin ve yaygın görülen tiplerin tespit edilmesi; koronavirüs pozitifliğinin yaş gruplarına, aylara, mevsimlere ve yıllara göre dağılımının araştırılmasıdır.

Materyal ve Metod: Çalışmada Şubat 2016-Ocak 2020 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi Hastanesi'nin çeşitli kliniklerinden akut solunum yolu enfeksiyonu belirtileri nedeniyle moleküler viroloji laboratuvarına gönderilen ve "viral solunum paneli" testi gerçekleştirilmiş 1164'ü kadın (%45) ve 1428'i erkek (%55) olmak üzere yaşları 0-101 yaş arasında değişen 2592 hastanın *Coronaviridae* ailesi pozitifliği retrospektif olarak araştırıldı. Klinik örneklerden nükleik asit ekstraksiyonu 'EZ1 Virus Mini Kit' ile yapılmıştır. Viral DNA amplifikasyonu için 'FTD Respiratory Pathogen 21' testi kullanılarak multiplex Real-Time PCR yöntemiyle gerçekleştirildi. Koronavirüs pozitifliğinin yaş gruplarına, aylara, mevsimlere ve yıllara göre dağılımının istatistiksel analizleri SPSS 20.0 bilgisayar programı aracılığıyla yapıldı.

Bulgular: Klinik örneklerin 229'unun (%8.9) herhangi bir koronavirüs tipi için pozitif olduğu görüldü. En yaygın görülen koronavirüs tipinin %52 (119/229) ile CoV-229E olduğu görüldü. Diğer koronavirüs tiplerinin dağılımı sırasıyla CoV-HKU1; %19.2 (44/229), CoV-OC43; %17.4 (40/229), CoV-NL63; %14 (32/229) olarak tespit edildi ve baskın tipin yıldan yıla değiştiği görüldü. Tek başına koronavirüs pozitifliği %48,1 diğer virüsler ile birlikteliği %51.9 olarak tespit edildi. En yüksek koronavirüs birlikteliğinin Rhinovirüs (%35.3) ve İnfluenza A virüsünde (%19,3) olduğu görüldü. 60 yaş üstü hastalarda diğer yaş gruplarına kıyasla daha yüksek oranda (%30.6) pozitiflik olduğu tespit edildi ($p < 0.05$). En yüksek koronavirüs pozitiflik oranının Ocak (%17.4) ayında, en düşük oran ise Haziran (%1.7) ayında olduğu görüldü. En yüksek pozitiflik oranı (%44.2) ile kış mevsiminde, en düşük oran (%8.2) ise yaz mevsiminde saptandı. Koronavirüslerin mevsimsel farklılık göstererek kış aylarında daha yüksek oranlarda tespit edildiği görüldü ($p < 0.05$).

Sonuç: Viral solunum yolu enfeksiyonlarında klinik bulgulara dayanarak tanı koymak mümkün olmadığından erken tanı, tedavi ve gereksiz antibiyotik kullanımının önlenmesi için rutin tanıda viral solunum yolu paneli ve Multiplex real time PCR testi hızlı ve kullanışlı bir yöntemdir. *Coronaviridae* ailesi pozitifliği 60 yaş üstü hastalarda ve mevsimsel farklılık göstererek kış aylarında daha yüksek oranlarda görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Solunum yolu enfeksiyonu; Koronavirüs; Multiplex Gerçek-zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu

Geliş Tarihi/Received: 13/07/2020 - Kabul Ediliş Tarihi/Accepted: 01/09/2020

©Telif Haklı 2020 Flora. Makale metnine www.floradergisi.org web adresinden ulaşılabilir.

Çevrimiçi Yayın Tarihi: 31.12.2020

ABSTRACT

Retrospective Evaluation of the Prevalence and Seasonal Distribution of Coronaviridae Positivity Before the COVID-19 Pandemic (2016-2020)Meryem ÇOLAK¹, Anıl AKTAŞ TAPISIZ², Özlem GÜZEL TUNÇCAN³, Gülendamar BOZDAYI⁴¹ Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Karabük University, Karabük, Turkey² Department of Child Health and Diseases, Faculty of Medicine, Gazi University, Ankara, Turkey³ Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Faculty of Medicine, Gazi University, Ankara, Turkey⁴ Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Gazi University, Ankara, Turkey

Introduction: Coronaviruses are the agents of viral respiratory infections and cause severe respiratory infections, especially in the elderly, those with chronic disease and immunocompromised patients. The aim of this study was to determine the positive and common types of Coronaviridae family in patients admitted to our hospital in the four-year period before the COVID-19 pandemic (2016-2020) and to investigate the distribution of coronavirus positivity by age groups, months, seasons and years.

Materials and Methods: Between February 2016 and January 2020, clinical samples of 1164 female (45%) and 1428 (55%) male patients were sent to the molecular virology laboratory from the various clinics of Gazi University, Faculty of Medicine Hospital due to symptoms of acute respiratory tract infection. Coronaviridae family positivity was investigated retrospectively in clinical samples of 2592 patients aged 0-101 years. Nucleic acid extraction from the clinical samples was performed with the 'EZ1 Virus Mini Kit'. For viral DNA amplification, it was performed by multiplex Real-Time PCR method using 'FTD Respiratory Pathogen 21' test. Statistical analysis of the distribution of coronavirus positivity by age groups, months, seasons and years was done by SPSS 20.0 computer program.

Results: Two hundred and twenty-nine (8.8%) of the clinical samples were found to be positive for any Coronavirus type. The most common type of Coronavirus was found to be CoV-229E with 52% (119/229). The distribution of other coronavirus types including CoV-HKU1, CoV-OC43 and CoV-NL63 was determined as 19.2% (44/229), 17.4% (40/229) and 14% (32/229) respectively, and the most common type of Coronavirus changed from year to year. Single Coronavirus positivity was found to be 48.1%, its association with other viruses was 51.9%. The highest coinfection of Coronavirus was found in Rhinovirus (35.3%) and influenza A virus (19.3%). Patients over 60 years of age were found to have a higher rate (30.6%) positivity compared to other age groups ($p < 0.05$). The highest rate of Coronavirus positivity was observed in January (17.4%) and the lowest rate in June (1.7%). It was observed that the highest rate of positivity (44.2%) was in winter and the lowest rate (8.2%) was in summer ($p < 0.05$). Coronaviruses were found to be detected at higher rates in winter with seasonal variation ($p < 0.05$).

Conclusion: Since it is not possible to diagnose viral respiratory tract infections based on clinical findings, viral respiratory panel and Multiplex real time PCR test is a fast and useful method in routine diagnosis for early diagnosis and treatment and to prevent unnecessary use of antibiotics. Coronaviridae family positivity is seen in patients over 60 years of age and in seasonal variation, with higher rates in winter.

Key Words: Respiratory tract infection; Coronavirus; Multiplex Real-time polymerase chain reaction

GİRİŞ

Koronavirüsler (CoV) ilk olarak 1960'lı yıllarda tanımlanmış olup zarflı, lineer tek zincirli ve pozitif polariteli RNA virüsleridir. Yüzeylerinde yer alan çubuk şeklindeki uzantıları nedeniyle "taçlı virüs" anlamına gelen "Coronavirus" olarak adlandırılmışlardır. Koronavirüsler, *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* ve *Deltacoronavirus* olarak adlandırılan başlıca dört cinsi ile *Coronaviridae* ailesi içerisinde yer alırlar. Bilinen insan koronavirüsleri HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-HKU1, SARS-CoV, MERS-CoV ve SARS-CoV-2 (COVID-19)'dur^[1].

Koronavirüsler, insanların yanı sıra kedi, köpek, domuz, yarasa, çeşitli kemirgen ve kanatlı hayvan türleri başta olmak üzere; pek çok evcil ve yabani hayvanlarda bulunabilmektedirler. Bilinen koronavirüsler insanlarda genellikle hafif solunum yolu infeksiyonuna neden olurken ilk kez 2003 yılında ortaya çıkan SARS-CoV (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus); 2012 yılında Suudi Arabistan'da tanımlanan MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus) ve 2019 yılında Çin'de tanımlanan SARS-CoV-2 (COVID-19) ise ağır hastalık tablosuna neden olabilen koronavirüslerdir. Fatalite hızı SARS-CoV salgınında %11, MERS-CoV'da %35-50 COVID-19'da %2 civarındadır^[1].

Koronavirüslerde bulunan S proteini, virüsün konak hücre reseptörüne bağlanmasından sorumludur. Koronavirüsler reseptör olarak bir ekzopeptidaz olan dipeptidil peptidaz-4 (DPP4) proteinini kullanmaktadırlar. DPP4 bronş epitel dokusu başta olmak üzere böbrek, ince bağırsak, karaciğer ve prostat epitelinde ve aktive lökositlerde bulunmaktadır. Dolayısıyla koronavirüsler insanlarda hafif ve orta dereceli üst solunum yolu infeksiyonlarının yanı sıra enterik, hepatik ve nörolojik tutulumlarla seyreden klinik tablolara da neden olabilmektedirler^[2,3]. Koronavirüs infeksiyonları tüm dünyada yaygın olarak görülmekle birlikte genellikle sonbahar ve kış aylarında artışlar görülmektedir^[4].

Virüslerin neden olduğu solunum sistemi infeksiyonlarında klinik benzerdir ve laboratuvar tanısı olmadan etkeni tespit etmek mümkün değildir. Tanıda viral kültür, hızlı antijen testleri, direkt immüno floresan testler ve serolojik testler kullanılmakta ancak günümüzde moleküler yöntemler ön plana çıkmaktadır^[5]. Her bir viral etken için ayrı ayrı amplifikasyon yapma zorunluluğu, artan maliyet ve iş gücü kaybı sorunu, tek bir reaksiyonda birden fazla etkenin tespitine olanak veren multipleks PCR yönteminin kullanılması ile çözülmektedir. Multipleks PCR'da klinik örnekte bulunan farklı mikroorganizmalar veya tek bir gen üzerinde bulunan farklı hedef bölgeler için özgül primerler kullanılarak, aynı anda birden fazla hedef çoğaltılabilmektedir. Böylece, klinik örnekte birden fazla mikroorganizmanın aranabilmesi mümkün olmaktadır^[5,6].

Koronavirüs infeksiyonlarında patojene özgü bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. Hastaların yönetiminde uygulanan asıl tedavi destekleyici, ikincil infeksiyonları ve komplikasyonları önlemeye yöneliktir^[6].

Çalışmada, COVID-19 pandemisi öncesindeki dört yıllık süreçte (2016-2020) akut solunum yolu infeksiyonu belirtileri nedeniyle moleküler viroloji laboratuvarına gönderilen hastalardaki *Coronaviridae* ailesi pozitifliğinin ve yaygın görülen tiplerin tespit edilmesi; koronavirüs pozitifliğinin yaş gruplarına, aylara ve mevsimlere göre dağılımının araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOD

Çalışmada Şubat 2016-Ocak 2020 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi Hastanesi'nin çeşitli kliniklerinden akut solunum yolu infeksiyonu

belirtileri nedeniyle moleküler viroloji laboratuvarına gönderilen ve "viral solunum paneli" testi çalışılmış, 2592 hastanın *Coronaviridae* ailesi sonuçları retrospektif olarak araştırılmıştır.

Çalışma Örneklerinin Toplanması

Çalışmamıza; 2592 hastaya ait nazofaringeal sürüntü, boğaz sürüntüsü, burun sürüntüsü ve bronkoalveoler lavaj (BAL) örnekleri dahil edilmiştir. Nazofaringeal sürüntü, boğaz sürüntüsü ve burun sürüntüsü örnekleri viral taşıma besiyeri (UTM-RT Transport, Copan Diagnostics, İtalya) içerisinde; bronkoalveoler lavaj örnekleri steril taşıma kabında laboratuvara gönderilmiştir. Klinik örnekler çalışma zamanına kadar -80°C'de bekletilmiştir.

Nükleik Asit İzolasyonu ve Viral DNA Amplifikasyonu

Klinik örneklerden nükleik asit izolasyonu EZ1 Virüs Mini Kit v2.0 (Qiagen, Almanya) kullanılarak, EZ1 Advanced (Qiagen, Almanya) cihazında üretici firmanın protokolü doğrultusunda yapılmıştır. Elde edilen DNA'lar amplifikasyon yapılarına kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir.

Viral DNA amplifikasyonu Fast Track Diagnostics (FTD) Respiratory Pathogen 21 testi (Fast Track Diagnostics, Lüksemburg) kullanılarak multipleks Real-Time PCR yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Fast Track Diagnostics Respiratory Pathogen 21 testi, İnfluenza A, İnfluenza B, İnfluenza A (H1N1), Rhinovirüs, Koronavirüs NL63, Koronavirüs 229E, Koronavirüs OC43, Koronavirüs HKU1, Parainfluenza 1, Parainfluenza 2, Parainfluenza 3, Parainfluenza 4, Human metapneumovirüs A/B, Human bocavirüs, Mycoplasma pneumoniae, Respiratory syncytial virüs A/B, Adenovirüs, Enterovirüs, Human parechovirüs olmak üzere toplam 21 adet solunum yolu patojenini saptayabilmektedir. FTD[®] Respiratory Pathogen 21, bu virüsleri saptayabilen primerler ve TaqMan problemleri içeren kullanıma hazır bir kittir. Ancak koronavirüslerde viral nükleik asit RNA olduğundan, cDNA oluşturmak için bir revers transkripsiyon yapılmıştır. Daha sonra cDNA, virüse özgül prob kullanılarak Real-time PCR ile çoğaltılmış ve PCR sırasında floresan ışığının ölçülmesi ile amplikonlar saptanmıştır.

Amplikonların saptanmasında ABI 7500 sistemiyle floresans ışımlar ölçülmüştür. Testte, FAM (florofor) floresans sinyali elde edilen örnek sonuçları pozitif olarak kabul edilmiştir. Örnekte, FAM

floresans saptanmaz iken internal kontrolde floresans sinyali varsa, pozitif ve negatif kontroller çalışmış ise, test sonucu negatif olarak kabul edilmiştir. Pozitif kontrolde ya da internal kontrolde floresans görülmediği durumlarda ise test geçersiz kabul edilmiş ve tekrar edilmiştir. Koronavirüs tiplerinden CoV-229E (Cor 229) 520 nm dalga boyunda “green” kanalda, CoV-NL63 (Cor 63) 550 nm dalga boyunda “yellow” kanalda, CoV-HKU1 (HKU) 610 nm dalga boyunda “orange” kanalda, CoV-OC43 (Cor 43) 670 nm dalga boyunda “red” kanalda saptanmıştır.

İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler SPSS 20.0 bilgisayar programı aracılığıyla yapılmıştır. Mann-Whitney U ve Ki-Kare testi kullanılarak veriler değerlendirilmiş ve yapılan analizlerde $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edilmiştir.

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik kurulu tarafından onaylanmıştır.

BULGULAR

Çeşitli kliniklerden Moleküler Viroloji Laboratuvarı'na gönderilen 1164 kadın (%45) ve 1428 erkek (%55) olmak üzere yaşları 0-101 yaş arasında değişen toplam 2592 hastaya ait nazofaringeal sürüntü, boğaz sürüntüsü, burun sürüntüsü ve bronkoalveoler lavaj (BAL) örnekleri retrospektif olarak araştırılmıştır.

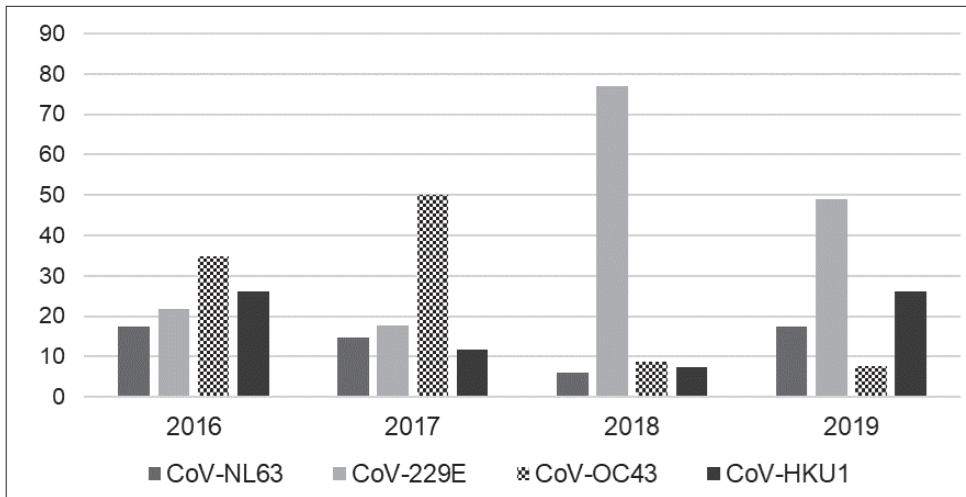
Klinik örneklerde %8.8 (229/2592) *Coronaviridae* ailesi pozitifliği tespit edilmiş, en yaygın görülen

koronavirüs tipinin %52 (119/229) ile CoV-229E olduğu görülmüştür. Diğer koronavirüs tiplerinin dağılımı sırasıyla CoV-HKU1; %19.2 (44/229), CoV-OC43; %17.4 (40/229), CoV-NL63; %14 (32/229), iki CoV tipinin birlikte pozitifliği %2.6 olarak saptanmıştır.

Koronavirüs tiplerinin yıllara göre dağılımı incelendiğinde; en yaygın görülen koronavirüs tipinin 2016 ve 2017 yılında sırasıyla %34.8 ve %50 ile CoV-OC43 olduğu; 2018 ve 2019 yılında %77 ve %49 ile CoV-229E olduğu görülmüştür. Koronavirüs tiplerinin yıllara göre dağılımı Şekil 1'de gösterilmiştir.

Koronavirüs pozitifliği tespit edilen örneklerde tek başına koronavirüs pozitifliği %48.1 (110/229), diğer virüsler ile birlikteliği %51.9 (119/229) olarak saptanmıştır. En yüksek koronavirüs birliktelikleri %35.3 (43/119) ile Rhinovirüs ve %19.3 (23/119) ile İnfluenza A virüste saptanırken; en düşük koronavirüs birlikteliğinin Parainfluenza 1'de (1/119) olduğu görülmüştür (Tablo 1).

Koronavirüs pozitif dört örnekte aynı anda üç etken birlikte saptanmıştır. Aynı anda üç etkenin birlikte pozitif görüldüğü örneklerde Rhinovirüs/ İnfluenza A/CoV-229E birlikteliği (2 hasta), Rhinovirüs/Parainfluenza 3/CoV-OC43 birlikteliği (1 hasta), Respiratory syncytial virüs A/B/ Human parechovirüs/CoV-229E birlikteliği (1 hasta), tespit edilmiştir. Aynı anda üç etkenin birlikte pozitif görüldüğü, üçlü koinfeksiyon etkenlerinin dağılımı Tablo 2'de verilmiştir (Tablo 2).



Şekil 1. Koronavirüs tiplerinin yıllara göre dağılımı.

Tablo 1. Coronavirüs tipleri (CoV-229E, NL63, OC43, HKU1) ile koinfeksiyon etkenlerinin dağılımı

İkili koinfeksiyon etkenleri	Hasta Sayısı	
	(n)	(%)
Rhinovirüs	42	35.3
İnfluenza A	23	19.3
İnfluenza A (H1N1)	8	6.7
Adenovirüs	8	6.7
Human metapneumovirüs A/B	7	5.9
Respiratory syncytial virüs A/B	6	5.1
Human bocavirüs	5	4.2
Enterovirüs	5	4.2
Parainfluenza 4	4	3.4
İnfluenza B	3	2.5
Parainfluenza 3	3	2.5
Parainfluenza 2	2	1.7
Human parechovirüs	2	1.7
Parainfluenza 1	1	0.8
Toplam	119	100

Tablo 2. Üçlü koinfeksiyon etkenlerinin dağılımı

Üçlü koinfeksiyon etkenleri	Hasta Sayısı
Rhinovirüs/İnfluenza A/CoV-229E	2
Rhinovirüs/Parainfluenza 3/CoV-OC43	1
Respiratory syncytial virüs A/B/Human parechovirüs/CoV-229E	1

Çalışmamızda altı örnekte birden fazla koronavirüs tipinin birlikte pozitif olduğu saptanmış, koronavirüs tiplerinin koinfeksiyon oranı %2.6 (6/229) olarak tespit edilmiştir. İki koronavirüs tipinin birlikte pozitif görüldüğü altı örnekte ikisinde CoV-229E/CoV-OC43 birlikteliği, yine iki örnekte CoV-OC43/CoV-NL63 birlikteliği; birer örnekte CoV-HKU1/CoV-229E ve CoV-NL63/CoV-229E birlikteliği saptanmıştır.

Çalışmamızda koronavirüs pozitifliğinin örneklerin gönderildiği kliniklere göre dağılımı incelendiğinde; %66.5'inin (152/229) erişkin; %33.5'inin (77/229) pediatri bölümlerinden gelen hastalara ait olduğu görülmüştür. Hastaların 33'ünün (%14.4) göğüs hastalıklarından, 32'sinin (%14) iç hastalıklarından, 24'ünün (%10.4) infeksiyon hastalıklarından, 16'sının (%7) erişkin hematoloji, 13'ünün çocuk infeksiyon hastalıklarından (%5.6), 12'sinin çocuk sağlığı ve hastalıklarından (%5.2), 12'sinin

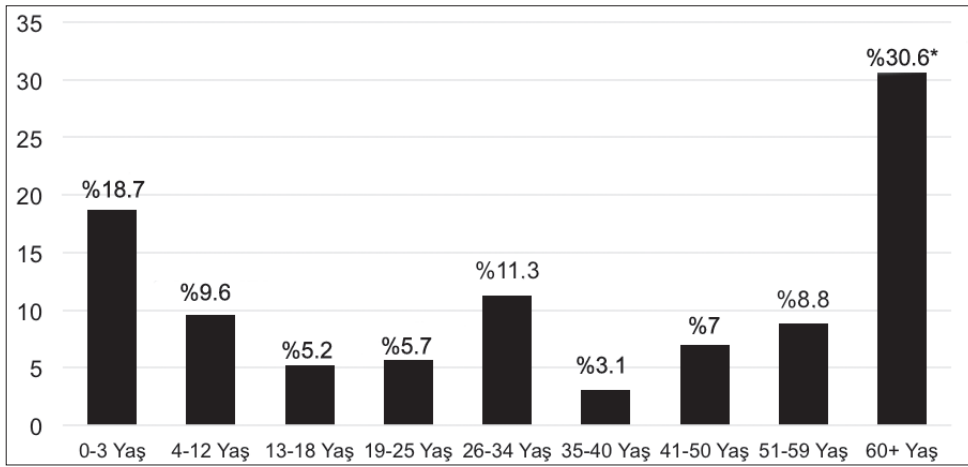
cocuk hematolojiden (%5.2), 11'inin nefrolojiden (%4.8), diğerlerinin ise genel cerrahi, nöroloji, kadın hastalıkları ve doğum, onkoloji, çocuk göğüs hastalıkları, yenidoğan yoğun bakım vb. gibi çeşitli klinik ve polikliniklerden geldiği görülmüştür.

Çalışmamızda koronavirüs pozitif hastaların yaş gruplarına göre dağılımı incelendiğinde; pediatrik hasta grubunda koronavirüs pozitifliği %7 (77/1076), erişkin hasta grubunda %10 (152/1516) olarak saptanmıştır. 0-3 yaş grubunda %18.7, 4-12 yaş aralığında %9.6, 13-18 yaş aralığında %5.2, 19-25 yaş aralığında %5.7, 26-34 yaş aralığında %11.3, 35-40 yaş aralığında %3.1, 41-50 yaş aralığında %7, 51-59 yaş aralığında %8.8'inin ve 60 yaş üstü hastalarda koronavirüs pozitifliğinin %30.6 olduğu görülmüştür. Koronavirüs pozitif hastaların yaş gruplarına göre dağılımı incelendiğinde; 60 yaş üstü hastalarda diğer yaş gruplarına kıyasla daha yüksek oranda pozitiflik olduğu tespit edilmiştir.

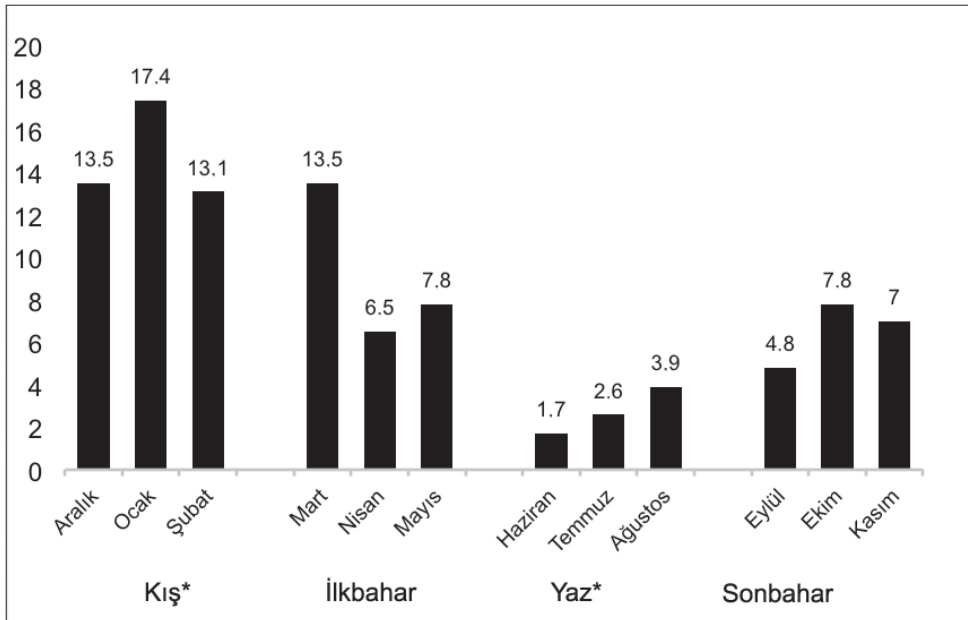
Koronavirüs pozitifliğinin yaş grupları arasında dağılımı incelendiğinde koronavirüs pozitifliği, 60 yaş üstü hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). Yaş gruplarına göre koronavirüs pozitiflik oranları Şekil 2'de verilmiştir.

Koronavirüs pozitifliğinin aylara göre dağılımı incelendiğinde; en yüksek pozitiflik oranının Ocak (%17.4) ve Aralık (%13.5) aylarında, en düşük oranın ise Haziran (%1.7) aylarında olduğu görülmüştür. Koronavirüs pozitifliğinin mevsimlere göre

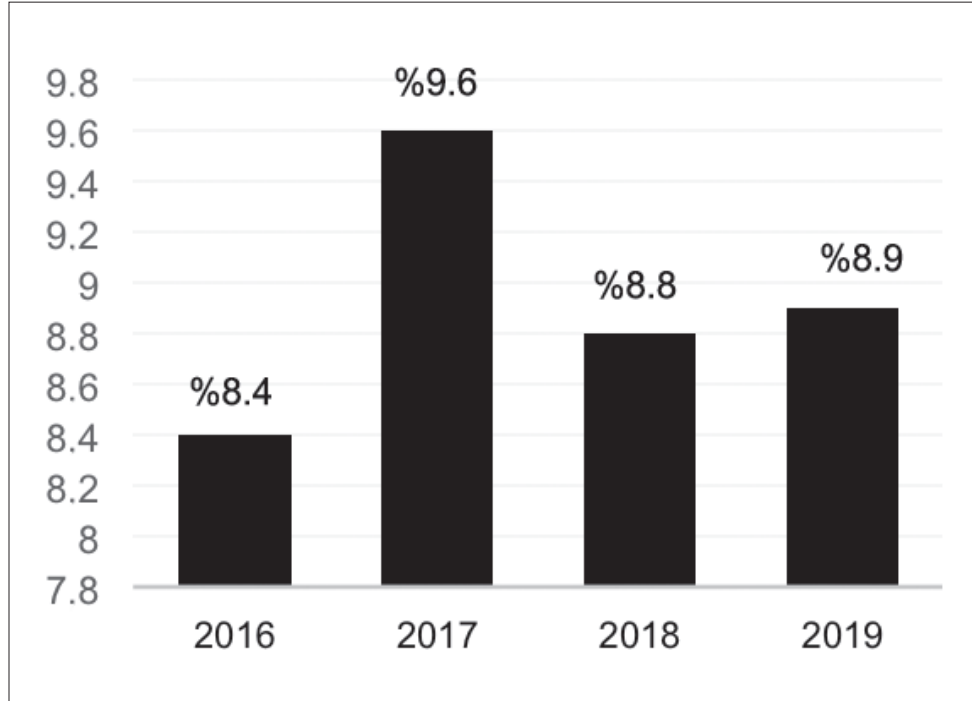
dağılımı incelendiğinde; en yüksek pozitiflik oranının (%44.2) kış mevsiminde, en düşük oranın (%8.2) ise yaz mevsiminde olduğu görülmüştür. Koronavirüslerin tüm yıl boyunca görülmekle birlikte en yüksek oranlara kış aylarında ulaştığı saptanmıştır. Çalışmamızda koronavirüs pozitifliğinin mevsimlere göre dağılımı incelendiğinde yaz ve kış mevsimi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p = 0.042$). Koronavirüs pozitifliğinin aylara ve mevsimlere göre dağılımı Şekil 3'te gösterilmiştir.



Şekil 2. Hastaların yaş gruplarına göre koronavirüs pozitiflik oranları.
* $P < 0.05$.



Şekil 3. Koronavirüs pozitifliğinin aylara ve mevsimlere göre dağılımı.
* $P < 0.05$.



Şekil 4. Koronavirüs pozitifliğinin yıllara göre dağılımı.

Koronavirüs pozitif örneklerin yıllara göre dağılımı incelendiğinde; 2016 yılında %8.4 (23/274), 2017 yılında %9.6 (34/353), 2018'de %8.7 (68/779) ve 2019 yılında %8.9 (104/1186) oranında koronavirüs pozitifliği olduğu görülmüştür. En yüksek pozitiflik oranı 2017 yılında, en düşük oran ise 2016 yılında saptanmıştır. Koronavirüs pozitifliğinin yıllara göre dağılımı Şekil 4'te gösterilmiştir.

TARTIŞMA

Akut solunum yolu infeksiyonları, dünya genelinde tüm yaş gruplarında en sık görülen hastalıklar arasında ilk sıralarda yer almakta ve bu infeksiyonların yaklaşık olarak %80'inden virüslerin sorumlu olduğu belirtilmektedir^[7,8]. Koronavirüsler sık rastlanan viral solunum yolu infeksiyonu etkenlerindedir ve özellikle yaşlılar, kronik hastalığı olanlar, immün sistemi baskılanmış hastalarda ağır solunum yolu infeksiyonlarına neden olmaktadır. Çalışmamızda çeşitli kliniklerinden akut solunum yolu infeksiyonu şüphesi nedeniyle moleküler viroloji laboratuvarına gönderilen hastaların *Coronaviridae* ailesi pozitifliği ve yaygın görülen koronavirüs tipleri ile; koronavirüs pozitifliğinin yaş gruplarına, aylara, mevsimlere ve yıllara göre dağılımı retrospektif olarak araştırılmıştır.

Solunum yolu infeksiyonu olan hastalarda viral solunum yolu etkenlerinin araştırıldığı çalışmalarda tespit edilen koronavirüs pozitiflikleri incelendiğinde; Bsisu ve arkadaşlarının^[9] beş yıllık verilerle Ürdün'de yaptığı çalışmada, multipleks real time PCR yöntemi ile koronavirüs pozitifliği %4.1 olarak saptanmıştır. Giraud-Gatineau ve arkadaşlarının^[10] Fransa'da solunum yolu infeksiyonu etkenlerini ve buna bağlı ölüm oranlarını araştırdıkları çalışmada koronavirüs pozitifliği %6.1 olarak; koronavirüs kaynaklı ölüm oranı 4.4 olarak bildirilmiştir. Ülkemizde multipleks real time PCR yöntemi ile viral etkenlerin araştırıldığı çalışmalarda; Tokak ve arkadaşlarının^[11] solunum yolu infeksiyonu olan 997 hastada koronavirüs pozitifliğini %7.88; Özdamar ve arkadaşlarının^[12] alt solunum yolu infeksiyonu tanısı ile takip ettikleri 283 hastada koronavirüs pozitifliğini %7.4 olarak saptamıştır. Çalışmamızda multipleks real time PCR yöntemi ile test edilen klinik örneklerde %8.8 koronavirüs pozitifliği tespit edilmiştir. Çalışmamızda tespit edilen bu oranın ülkemizde yapılan çalışmalarla benzerlik gösterdiği, yurt dışında yapılan çalışmalardan ise yüksek olduğu görülmüştür. Bu durumun coğrafi yerleşim, iklim şartları, nüfus, alt yapı ve aşılama ile ilgili olabileceği düşünülmüştür.

Koronavirüsler tüm dünyada yaygın olarak bulunmakta, koronavirüs tiplerinin dağılımları ve yıldan yıla baskın tipi değişmektedir^[11]. Viral solunum yolu etkenlerinin araştırıldığı çalışmalarda tespit edilen koronavirüs tiplerinin dağılımına bakıldığında; 2019-2020 arasında yapılan bir çalışmada Fransa'da en yaygın görülen koronavirüs tipinin CoV-HKU1 olduğu bildirilmiştir^[10]. Amerika'da 2014-2017 yıllarında yapılan bir çalışmada en yaygın görülen koronavirüs tipinin CoV-OC43 olduğu bildirilmiştir^[13]. Ülkemizde 2018 yılında yapılan bir çalışmada en yaygın görülen koronavirüs tiplerinin sırasıyla CoV-NL63, CoV-HKU1 ve CoV-OC43, CoV-229E olduğu bildirilmiştir^[12]. 2019 yılında yine ülkemizde yapılan bir diğer çalışmada ise en yaygın görülen koronavirüs tipi CoV-OC43, ikinci en yaygın görülen koronavirüs tipi CoV-229E olarak saptanırken diğer koronavirüs tiplerine rastlanmadığı bildirilmiştir^[11]. Çalışmamızda 2016-2019 yılları arasındaki dört yıllık süreçte koronavirüs tiplerinin dağılımı incelendiğinde; en yaygın görülen koronavirüs tipi CoV-229E olarak saptanmış, bunu sırasıyla CoV-HKU1, CoV-OC43, CoV-NL63 izlemiştir. Yıl bazında bakıldığında 2016 ve 2017 yılında en yaygın görülen tip CoV-OC43 iken 2018 ve 2019 yılında CoV-229E en yaygın görülen koronavirüs tipi olmuştur. Yapılan çalışmalar, koronavirüs tiplerinin dağılımlarının ve baskın tipinin değiştiğini göstermektedir. Çalışmamızda yaygın görülen koronavirüs tipinin yıl bazında farklılık göstermesi baskın görülen tipin yıldan yıla değiştiğini desteklemektedir.

Solunum yolu infeksiyonlarında viral etkenlerinin araştırıldığı çalışmalarda koronavirüslerin sıklıkla diğer solunum yolu virüsleri ile koinfeksiyon oluşturduğu bildirilmektedir^[8-12]. Akut solunum yolu infeksiyonu olan 3192 hastada multipleks Real Time PCR yöntemi ile viral etkenlerin araştırıldığı bir çalışmada koronavirüs pozitif 98 örneğin 44'ünün (%45) diğer solunum yolu virüsleri için de pozitif olduğu bildirilmiştir^[14]. Aynı çalışma solunum yolu infeksiyonlarında viral koinfeksiyonların hastalığın şiddeti üzerinde herhangi bir etkisinin saptanmadığına ilişkin çalışmalar bulunduğunu belirterek bu durumun multipleks real time PCR yönteminin duyarlılığı ve aynı anda birden fazla virüsü tespit edilebiliyor olması ile ilişkilendirmiştir.

Ülkemizde akut solunum yolu infeksiyonu tanısı olan çocuk hastalar ile yapılan bir çalışmada multipleks PCR yöntemi ile koronavirüs pozitif 21 örneğin 7'sinde (%33) koinfeksiyon olduğunu, bunların bir tanesinde üç etkenin bir arada saptandığını bildirmişlerdir^[12]. Solunum yolu infeksiyonu etkenlerinin araştırıldığı çalışmalarda koronavirüs infeksiyonlarında sıklıkla (> %30) diğer solunum yolu virüsleri ile koinfeksiyon saptandığı bildirilmiştir^[14-17]. Çalışmamızda koronavirüs pozitif örneklerin yarısından fazlasında diğer virüsler ile koinfeksiyon tespit edilmiş, dört örnekte ise aynı anda üç etken saptanmıştır. Aynı anda birden fazla etken saptandığı durumlar, multipleks PCR gibi çok duyarlı yöntemler ile virüsün uzun süreler saptanabilmesi ve kişinin başka bir virüsle infekte olduğunda "ikili-üçlü" infeksiyonlar şeklinde görülebilmesi ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Çalışmamızda en yüksek koronavirüs birlikteliği gördüğümüz virüs, 119 örneğin 43'ünde tespit ettiğimiz Rhinovirüs olmuştur. Ülkemizde solunum yolu infeksiyonlarının viral etkenleri ile ilgili yapılan çalışmalarda en sık rastlanan virüsler RSV, Rhinovirüs ve Adenovirüs olarak belirtilmektedir^[15-20]. Özdamar ve arkadaşları^[12] alt solunum yolu infeksiyonu tanısıyla takip edilen hastalarda hem tek hem koinfeksiyon etkeni olarak en sık Rhinovirüs'ünün tespit edildiği bildirilmiştir^[12]. Sancaklı ve arkadaşları^[17] pediatrik hastalarda solunum yolu infeksiyonlarında viral etken olarak en sık Rhinovirüs'ü tespit ettiklerini, koronavirüs ile koinfeksiyon saptanan örneklerde ise yine en sık Rhinovirüs ve RSV tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Çalışmamızda en yüksek koronavirüs birlikteliği gördüğümüz virüs yapılan çalışmalara benzer şekilde Rhinovirüs olmuştur. Bu durum; Rhinovirüsün solunum yolu hastalıklarının önde gelen nedenlerinden olması ve sıklıkla solunum yolu infeksiyonlarından izole edilmesi ve infeksiyon klinik olarak geçirilmiş bile olsa, virüsün uzun süreler saptanabilmesi nedeniyle koinfeksiyonlar şeklinde görülebilmesiyle ilişkilendirilmiştir.

Solunum yolu infeksiyonlarında en sık tespit edilen viral etkenler ile ilgili çalışmalarda etken olarak farklı yaş gruplarında farklı virüslerin tespit edildiği belirtilmektedir^[4,8,9]. İlerleyen yaşla beraber patojen mikroorganizmalara karşı hem immün sistemde hem de fizyolojik, anatomik ve doğal

defans sistemlerinde ortaya çıkan gerilemeler nedeniyle, geriatrik olgularda infeksiyon hastalıkları daha sık görülebilmektedir.^[18] Çalışmamızda koronavirus pozitif hastaların yaş gruplarına göre dağılımı incelendiğinde; 60 yaş üstü hastalarda diğer yaş gruplarına kıyasla daha yüksek oranda pozitiflik olduğu tespit edilmiş ($p < 0.05$). Koronavirus pozitif hastaların %30.6'sının 60 yaş üstü geriatrik hastalar olduğu görülmüştür. Bu yaş grubunda sık karşılaşılan sensoriyel kayıplar ve demans nedeniyle geriatrik hastalarda hastalık öyküsünün alınması güçleşmekte ve çoğunlukla hastalığın ileri aşamalarında tanı koyulabilmektedir. Geriatrik olgularda atipik prezantasyonlar görülebileceği, bu nedenle geriatrik hasta grubunda klasik bulgular olmasa bile koronavirus infeksiyonunun göz önünde bulundurulması gerektiği düşünülmüştür.

Koronavirusların tüm yıl boyunca görülmekle birlikte en yüksek oranlara kış aylarında ulaştığını bildiren çok sayıda çalışma bulunmaktadır.^[11-17] Ancak koronavirusların mevsimsel farklılık göstermediğini bildiren bir çalışmada; sadece CoV-229E'nin yıl boyu görüldüğü; diğer tiplerin ise Kasım-Temmuz aralığında saptandığı belirtilmiştir.^[19] Solunum yolu virüslerinin mevsimsel dağılımının araştırıldığı bir diğer çalışmada 2010-2018 yılları arasında solunum yolu infeksiyonu nedeniyle takip edilen hastalarda koronavirus pozitifliğinin en yüksek oranda yaz döneminde, en düşük oranda ise sonbaharda saptandığı bildirilmiştir.^[20] Çalışmamızda koronavirus pozitifliğinin tüm yıl boyunca görüldüğü; Aralık ve Ocak aylarında pik yaptığı, Haziran aylarında ise en düşük seviyeye geldiği görülmüştür. Ocak ayında en sık olmak üzere Aralık-Mart ayları koronavirus infeksiyonlarının en sık görüldüğü aylar olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda en yüksek *Coronaviridae* ailesi pozitifliği %44.2 ile kış, en düşük oran ise %8.2 ile yaz mevsiminde saptanmış; koronavirus pozitifliğinin mevsimlere göre dağılımı incelendiğinde yaz ve kış mevsimi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.05$). Çalışmamız koronavirusların tüm yıl boyunca görülmekle birlikte mevsimsel farklılık göstererek en yüksek oranlara kış aylarında ulaştığını desteklemektedir.

Çalışmamızda koronavirus pozitifliğinin yıllara göre dağılımı incelendiğinde; 2016-2019 yılları arasında koronavirus pozitifliklerinin sırasıyla;

%8.4; %9.6; %8.7; %8.9 olarak saptandığı ve yıllar içerisinde düşük oranlarda da olsa artış gösterme eğiliminde olduğu görülmüştür. Ülkemizde solunum yolu infeksiyonu etkenlerinin araştırıldığı çalışmalarda tespit edilen koronavirus pozitiflik oranlarının son on yıldaki dağılımına bakıldığında 2010-2011 yılları arasında yapılan bir çalışmada Koronavirus pozitifliği %2.9^[15]; 2012 yılında yapılan bir çalışmada %3.4^[17]; 2013 yılında yapılan bir çalışmada %5^[16]; 2015-2017 yılları arasında yapılan bir çalışmada %7.4^[12]; 2016-2017 yılları arasında yapılmış bir çalışmada^[11] koronavirus pozitifliği %7.8 olarak saptanmıştır. Koronavirus pozitifliğinde görülen bu yükselişin nedeninin küresel ısınma, ortalama hava sıcaklığında görülen değişiklikler, artan seyahatler, bulaş riskine neden olan alışveriş merkezleri, kafe ve restoran sayılarında görülen artmanın yanı sıra solunum yolu virüslerinin tanısında gittikçe yaygın kullanım alanı bulan oldukça duyarlı moleküler yöntemler olduğu düşünülmüştür.

SONUÇ

Laboratuvarımıza gönderilen örneklerin %8.9'unda multipleks real time PCR yöntemi ile koronavirus pozitifliği tespit edilmiştir. En yaygın görülen koronavirus tipinin CoV-229E olduğu ve baskın tipin yıldan yıla değiştiği görülmüştür. Koronavirus pozitif örneklerin yarısından fazlasında koinfeksiyon olduğu, en yüksek koronavirus birlikteliğinin Rhinovirüs ve İnfluenza A virüs olduğu saptanmıştır. Koronavirus pozitif hastaların yaş gruplarına göre dağılımı incelendiğinde; 60 yaş üstü hastalarda diğer yaş gruplarına kıyasla daha yüksek oranda pozitiflik olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Koronavirusların mevsimsel farklılık göstererek kış aylarında daha yüksek oranlarda saptandığı görülmüştür ($p < 0.05$). Solunum yolu virüslerinin benzer kliniklere yol açması, yaşa ve virüslerin alt tiplerine göre klinik bulguların değişkenlik gösterebilmesi nedeniyle bulgulara dayanarak tanı koymak mümkün olmamaktadır. Moleküler temelli yöntemlerin günümüzde yaygın kullanım alanı bulması, çoklu viral infeksiyonların tespitini kolaylaştırmaktadır. Rutin tanı laboratuvarlarında özellikle riskli hasta gruplarında 'Multipleks Real-time PCR' yöntemi, aynı anda birçok viral solunum yolu etkeninin tanımlanması için hızlı ve kullanışlı bir yöntemdir. Etkenlerin doğru ve zamanında

saptanması ile, bakteriyel ve viral enfeksiyonun ayırımı yapılabilmekte, ampirik olarak kullanılan ve çoğu kez gereksiz ve uzun süren antibiyotik tedavilerinin yüksek maliyetlerinin ve direnç sorununun önüne geçilebilmektedir. Antibiyotik kullanımının azaltılması ile ekonomik olarak direkt bir kazanım sağlanmakla birlikte, tüm dünyada sorun olan antibiyotiğe direnç gelişiminin önlenmesine katkı sağlanabilecektir.

ETİK KURUL ONAYI

Çalışma için Gazi Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan onay alındı (Karar No:341 Tarih: 22.05.2020).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

YAZAR KATKISI

Anafikir/Planlama: MÇ, GB

Analiz/Yorum: MÇ, GB

Veri sağlama: AAT, ÖGT

Yazım: MÇ

Gözden geçirme ve düzeltme: GB

Onaylama: AAT, ÖGT, GB

KAYNAKLAR

1. Perlman S. Another decade, another coronavirus. *N Engl J Med* 2020;382:760-2.
2. Solerte SB, Di Sabatino A, Galli M, Fiorina P. Dipeptidyl peptidase-4 (DPP4) inhibition in COVID-19. *Acta Diabetol* 2020;57:779-83.
3. Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Prokscha A, Naim HY, Müller MA, et al. Polymorphisms in dipeptidyl peptidase 4 reduce host cell entry of Middle East respiratory syndrome coronavirus. *Emerg Microbes Infect* 2020;9:155-68.
4. Koff EM, Van Houten MA, Sanders EA, Bogaert D. Symptomatology during seasonal coronavirus infections in children is associated with viral and bacterial co-detection. *MedRxiv* 2020;3:1-9.
5. Shen M, Zhou Y, Ye J, Al-Maskri AA, Kang Y, Zeng S, et al. Recent advances and perspectives of nucleic acid detection for coronavirus. *J Pharm Anal* 2020;10:97-101.
6. Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol* 2020;92:418-23.
7. Appak Ö, Duman M, Belet N, Sayiner AA. Viral respiratory infections diagnosed by multiplex polymerase chain reaction in pediatric patients. *J Med Virol* 2019;91:731-7.

8. Van Doorn HR, Yu H. Viral respiratory infections. In: Ryan ET, Hill DR, Solomon T, Aronson NE, Endy TP (eds). *Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases*. 10th ed. New York: Philadelphia, 2020;284-8.
9. Bsisu I, Obeidat Z, Ababneh N, Altous M, Obeidat M, Amer M, et al. The etiology of viral lower respiratory tract infections at a tertiary hospital in Jordan over five years. *Int Arab J Antimicrob Agents* 2019;9:1-11.
10. Giraud-Gatineau A, Colson P, Jimeno MT, Zandotti C, Ninove L, Boschi C, et al. Comparison of mortality associated with respiratory viral infections between December 2019 and March 2020 with that of the previous year, Southeastern France. *Int J Infect Dis* 2020;96:154-6.
11. Tokak S, Gülseren YD, Özdemir M. Solunum yolu enfeksiyonlu çocuklarda saptanan viral etkenlerin epidemiyolojisi ve mevsim dağılımının belirlenmesi. *J Pediatr Inf* 2019;13:192-8.
12. Özdamar M, Türkoğlu S. Detection of respiratory pathogens in lower respiratory tract infections by multiplex real time PCR in Kocaeli/Istanbul region in 2015-2017. *Medeniyet Med J* 2018;33:188-94.
13. Killerby ME, Biggs HM, Haynes A, Dahl RM, Mustaqim D, Gerber SI, et al. Human coronavirus circulation in the United States 2014-2017. *J Clin Virol* 2018;101:52-6.
14. Nguyen C, Kaku S, Tutera D, Kuschner WG, Barr J. Viral Respiratory Infections of Adults in the Intensive Care Unit. *J Intensive Care Med* 2016;31:427-41.
15. Akçalı 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.
16. Biçer S, Giray T, Çöl D. Virological and clinical characterizations of respiratory infections in hospitalized children. *Ital J Pediatr* 2013;39:2-10.
17. Sancaklı Ö, Yenigün A, Kırdar S. Alt solunum yolu enfeksiyonunda nazofaringeal örneklerde polimeraz zincir reaksiyonu sonuçları. *J Pediatr Inf* 2012;6:84-9.
18. Özkök S, Cengiz M, Soytaş RB, Avcı S, Yavuzer H, Döventaş A, ve ark. Geriatri kliniğinde yatan hastaların enfeksiyon özellikleri. *Med Bull Haseki* 2020;58:223-7.
19. Bayrakdar F, Altaş AB, Korukluoğlu G. Solunum yolu virüslerinin 2009-2012 yılları arasında ülkemizdeki mevsimsel dağılımı. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2013;43:56-66.
20. Kuşkuç MA, Mete B, Tabak F, Midilli K. Yetişkinlerde solunum yolu viral etkenlerinin 2010-2018 yılları arasındaki prevalansı ve mevsimsel dağılımı. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2020;50:21-6.

Yazışma Adresi/Address for Correspondence

Prof. Dr. Gülendem BOZDAYI

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi,

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,

Ankara-Türkiye

E-posta: gbozdayi@hotmail.com