



# **Solunum Yolu Örneklerinden Saptanan Rhinovirusların Moleküler Yöntemlerle Tiplendirilmesi: Retrospektif Bir Çalışma**

**Beyza TUNER, Harun AĞCA**

**Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim  
Dalı**

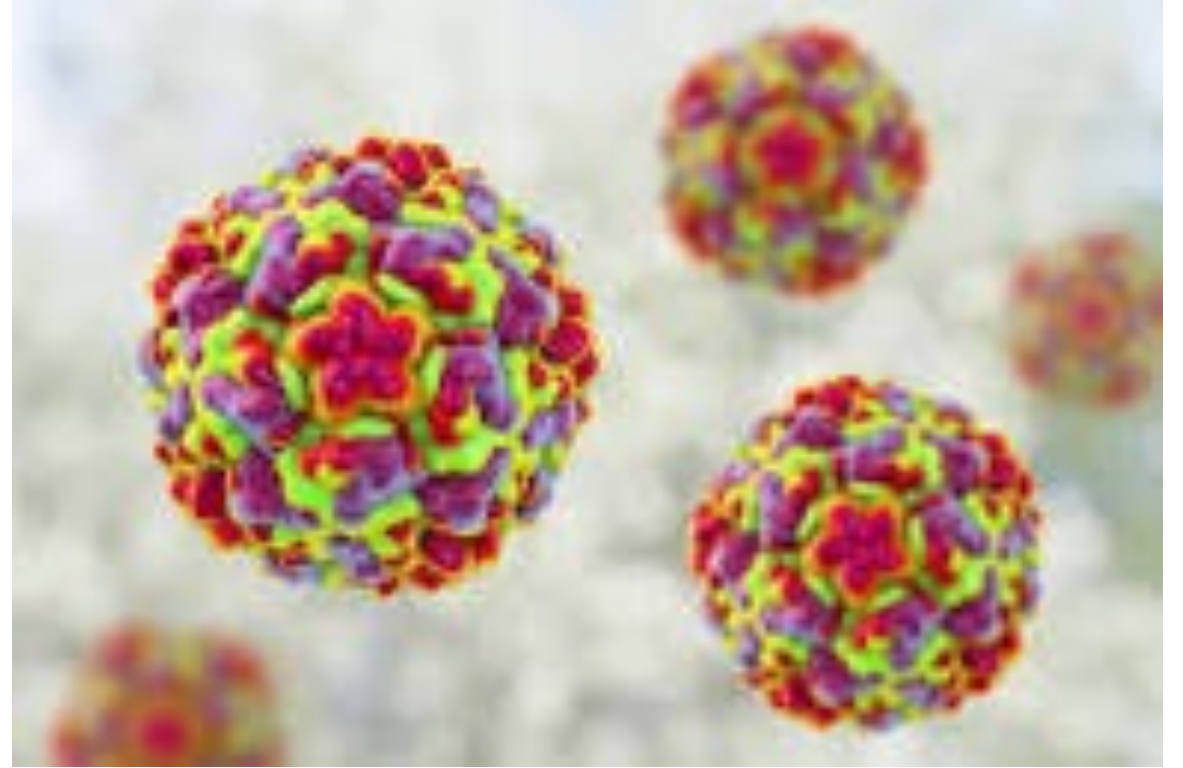
**Tez Projesi: TYL-2022-1056-BAP tarafından desteklenmiştir**

# Giriş

- Rhinovirus(RV)
- Enterovirus cinsindeki Picornaviridae familyasına aittir
- Tek zincirli + polariteli RNA virüsü
- 1956 yılında keşfedildi
- Soğuk algınlığı
- Nükleotid dizi homolojilerine göre üç türde; RV-A, RV-B ve RV-C sınıflandırılır ve 160'ın üzerinde RV serotipi bulunmaktadır

# Giriş

- Tek zincir pozitif polariteli RNA virusu
- Keşif 1956
- Soğuk algınlığının etiyolojik ajanı
- Tüm dünya yıl boyu
- ÜSZE en sık etken



# Giriş

- Her mevsimde görülebilir
- Çoğunlukla sonbaharda bazen ilkbaharda pik
- Kış ayları hariç diğer mevsimlerde en çok ÜSYE etkeni RV
- RV-C ılıman subtropikal sonbahar-kış pik
- RV-A ve RV-B için spesifik bir bölgesel ve mevsimsel dağılım yok

Ortalama bir yetişkin yılda 2-3 kez soğuk algınlığı

Çocuklar 8-12 kez

Çocuklar RV' nin ana rezervuarı olarak kabul edilir

Bebek ve çocuklarda bronşiyolit

Astım alevlenmeleri

Yaşlı ve immünsupresif hastalarda ölümcül pnömoni

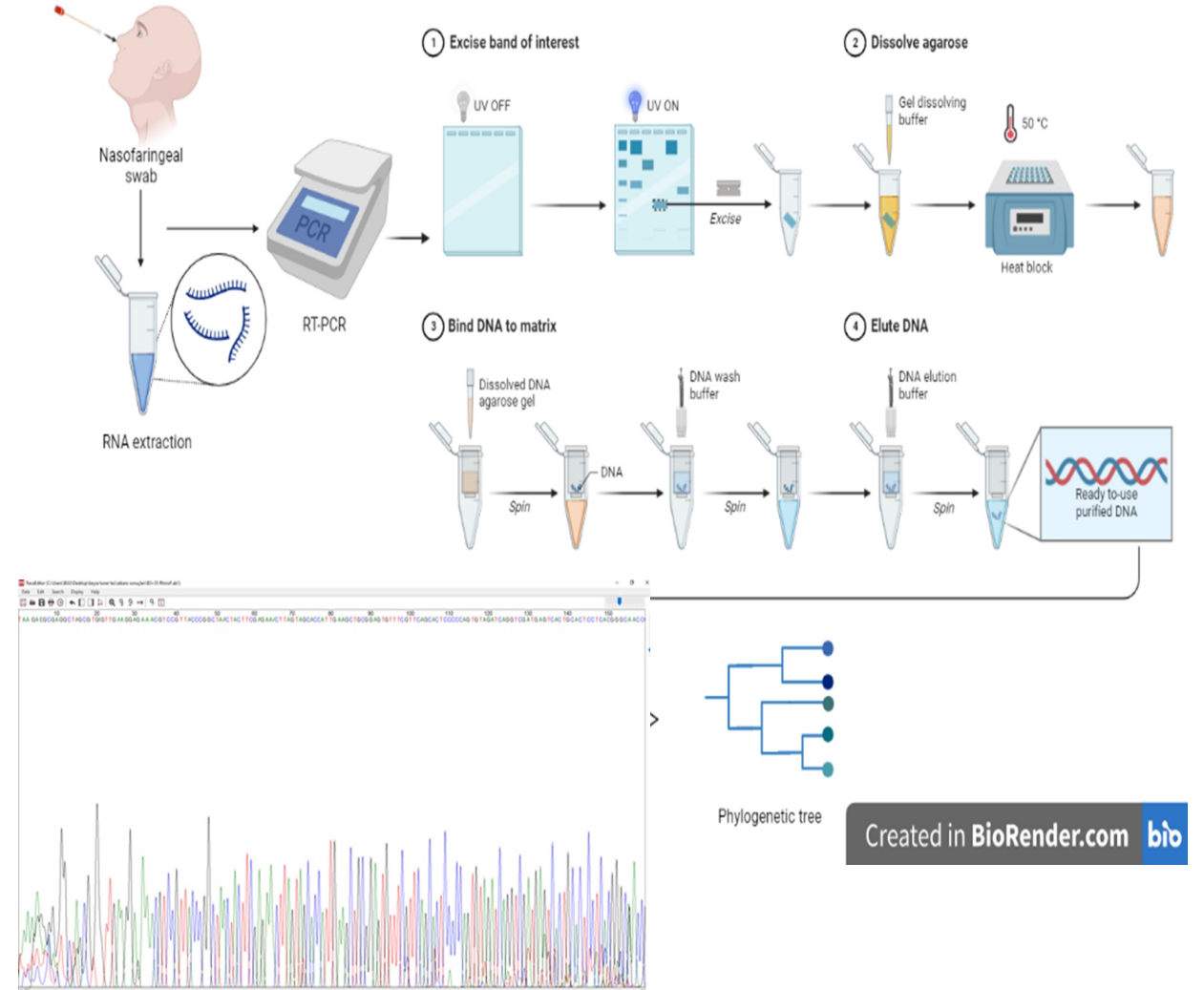


# Giriş ve Amaç

- **Projenin amacı;** Bursa Uludağ Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı PCR laboratuvarına 22.10.2021- 13.12.2022 tarihleri arasında gönderilen nazofaringeal sürüntü örneklerinden Multiplex PZR ile RV pozitifliği saptanan 80 adet örneğin moleküler yöntemlerle alt tiplendirilmesini yapmak, RV'lerin moleküler epidemiyolojisini, yaş, cinsiyet arasındaki ilişkiyi belirlemek
- RV'lerin mevsimsel dağılımını tespit etmek
- COVID-19 pandemisi sonrasında alt tiplerde değişim olup olmadığının belirlemek

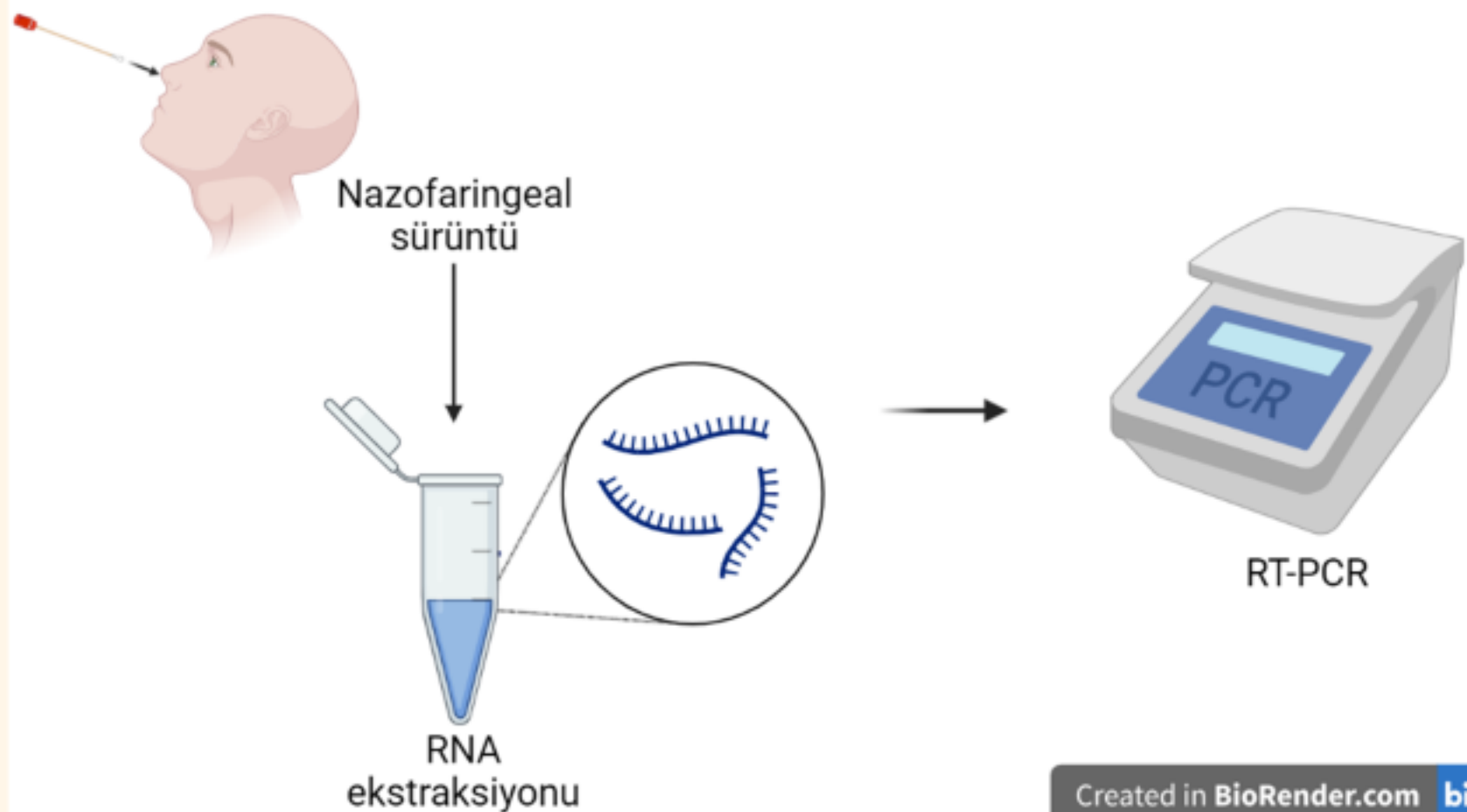
# Gereç ve Yöntem

- Multipleks PZR (Sendromik panel) ile RV pozifliği saptanan, 0-90 yaş aralığındaki hastalara ait 80 örnek
- Viral RNA ekstraksiyonu, PureLink™ Viral RNA/DNA Mini Kit (ThermoFisher Scientific)
- QIAGEN (Germany) OneStep RT-PCR Kit
- Agaroz jel elektroforezi ile 390 bp uzunluđundaki hedef
- Saflařtırma için GeneAll Expin™ Gel SV(South Korea)
- Sanger Dideoksi Dizileme
- Biyoinformatik analiz için MEGA 11



50 °C 30 dk  
95 °C 15 dk  
94 °C 1 dk  
52 °C 1 dk  
72 °C 1 dk  
72 °C 10 dk

} 40 Döngü



Forward (İleri) primer: 5' CAAGCACTTCTGTTTCCC' 3

Reverse (Geri) primer: 5'-CACGGACACCCAAAGTAGT-3'

RT-PCR Buffer	10 uL
dNTP	2 uL
Primer F	1 uL
Primer R	1 uL
RT-PCR Enzim Mix	2 uL
H <sub>2</sub> O	29 uL
RNA	5 uL

# Bulgular

Uyguladığımız protokol tek basamaklı reverse transkripsiyon PZR olması nedeniyle daha kısa sürede daha az malzeme kullanılarak gerçekleştirildi

80 örneğin

33'ü (%41,25) RV-A,

8'i (%10) RV-B,

31'i (%38,75) RV-C,

3'ü (%3,75) Enterovirus D68

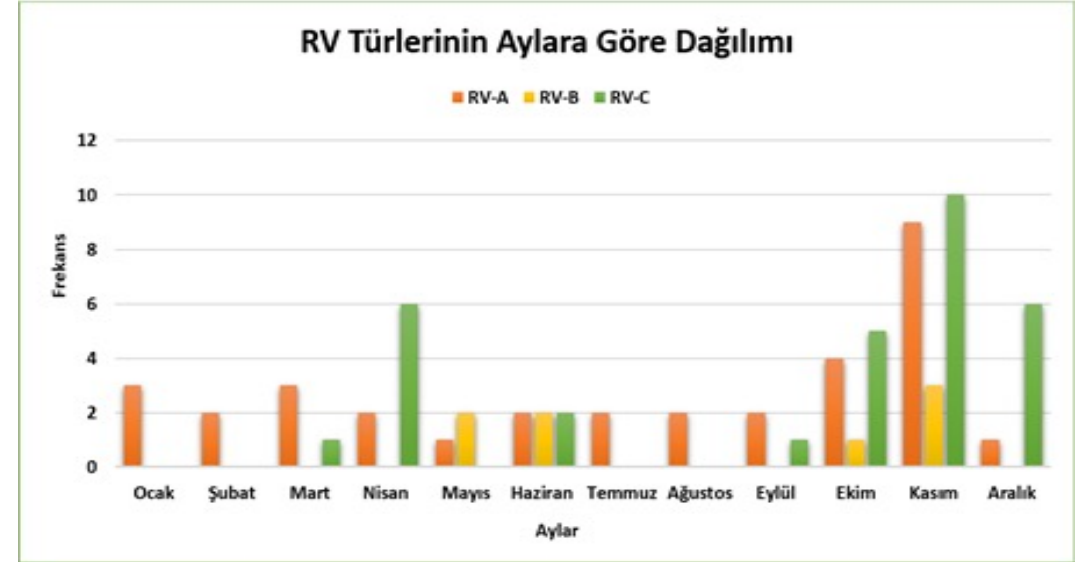
5'i (%6,25) tiplendirilemedi

- Hastaların 39'u (%48,75) kadın, 41'i (%51,25) erkek
- 2021 yılında 3 örnekte RV-A (%60), 2 örnekte RV-C (%40)
- 2022 yılında 30 örnekte RV-A (%44,7), 8 örnekte RV-B (%12), 29 örnekte RV-C (%43,3)



# Bulgular

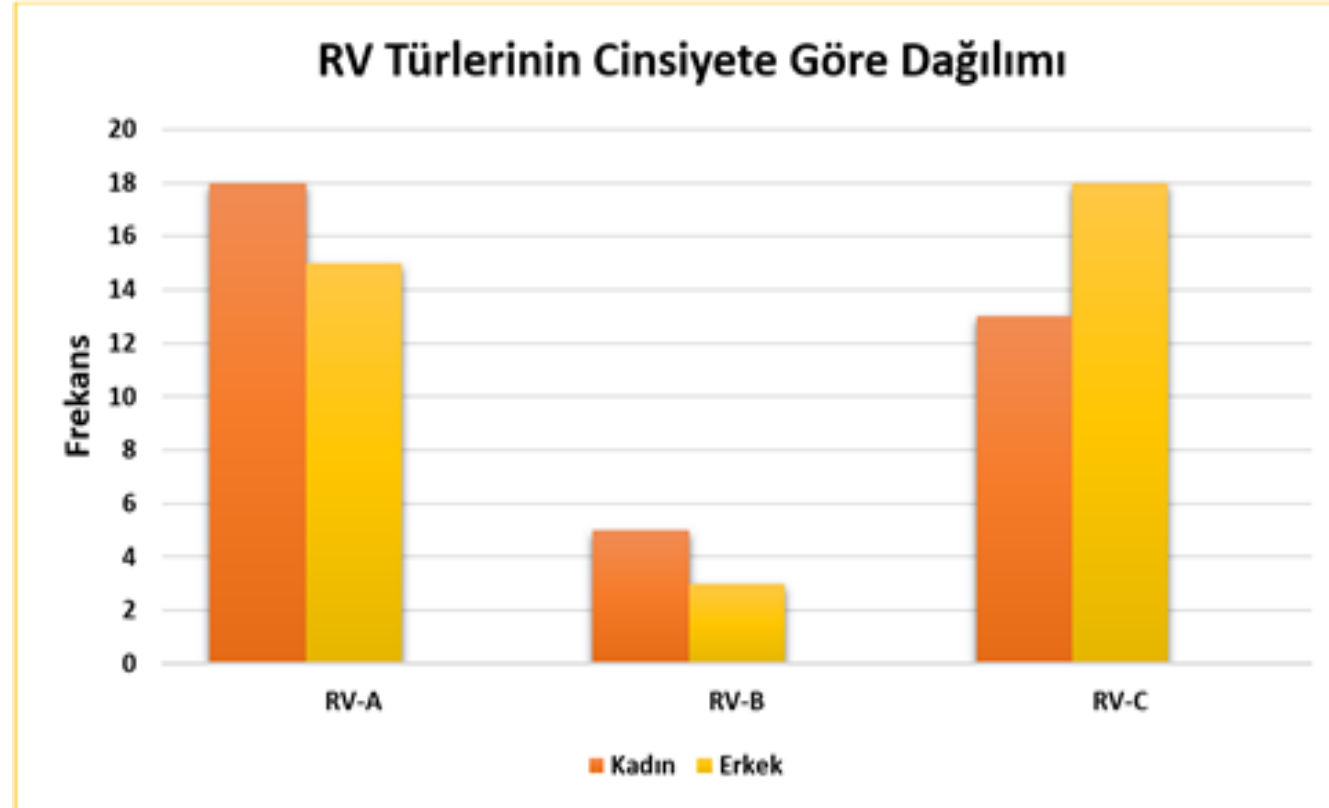
- Aylara ve mevsimlere göre dağılım
- RV-A yıl boyu ve dört mevsim
- RV-C sıklıkla sonbahar ve kış



	İlbarhar	Yaz	Sonbahar	Kış
RV-A	%40	%100	%36	%83
RV-B	%20	%0	%10	%0
RV-C	%40	%0	%54	%17

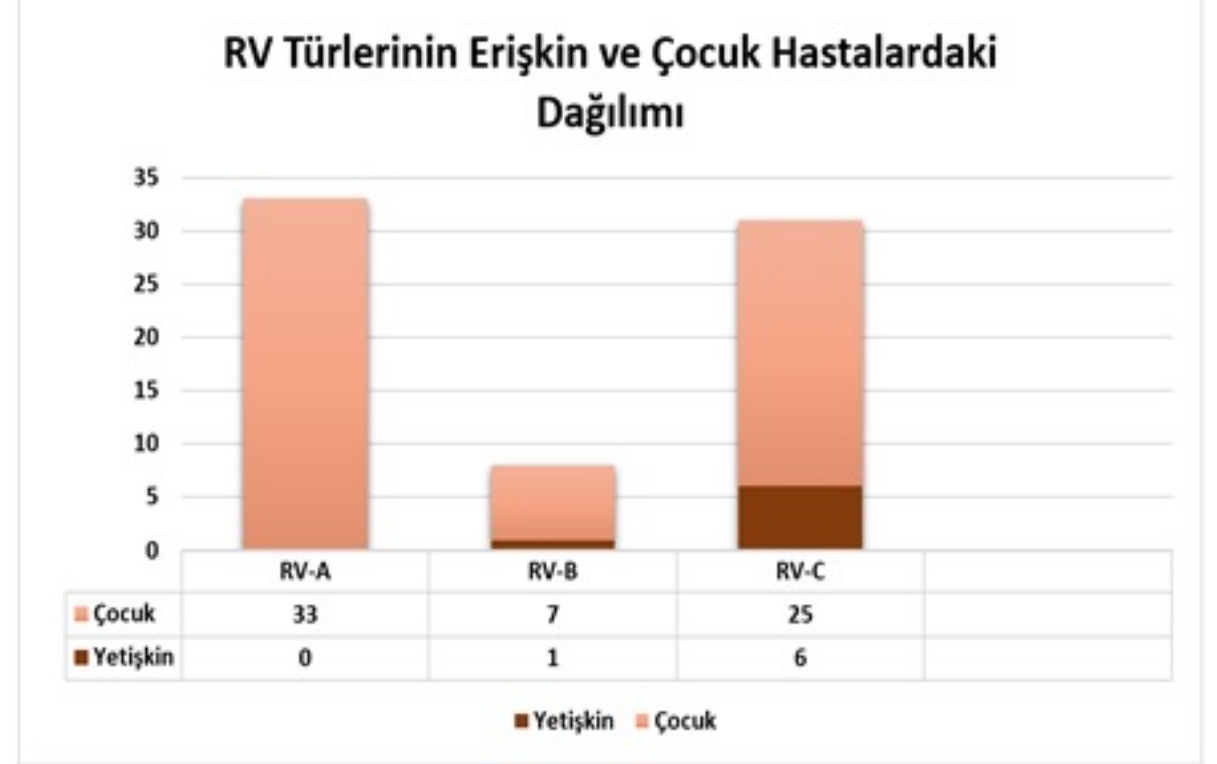
# Bulgular

- Cinsiyete göre RV dağılımları
- Kadınlar
  - 18'inde (%50) RV-A
  - 5'inde (%13,9) RV-B
  - 13'ünde (%36,1) RV-C
- Erkekler
  - 15'inde (%41,7) RV-A
  - 3'ünde (%8,3) RV-B
  - 18'inde (%50) RV-C



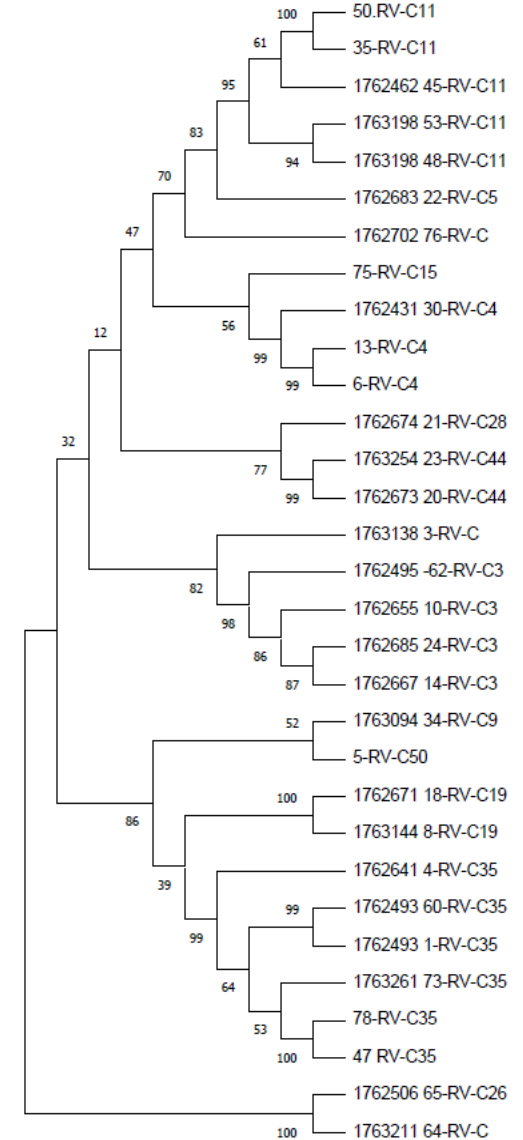
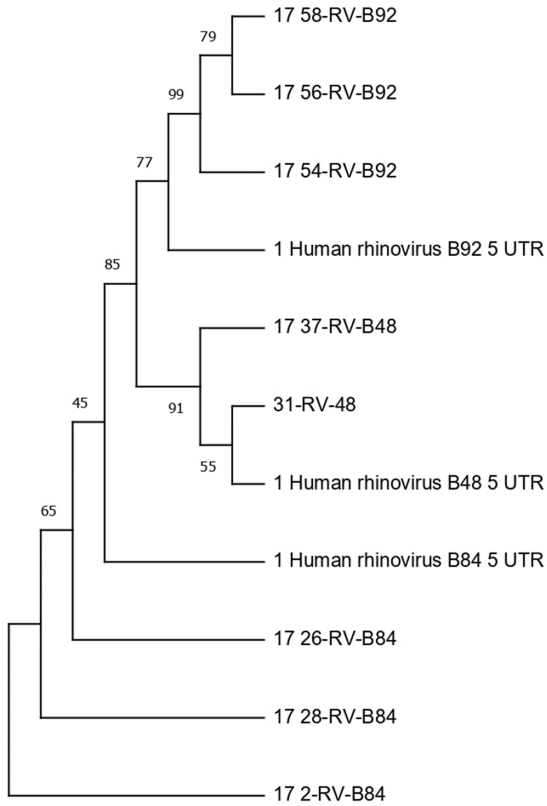
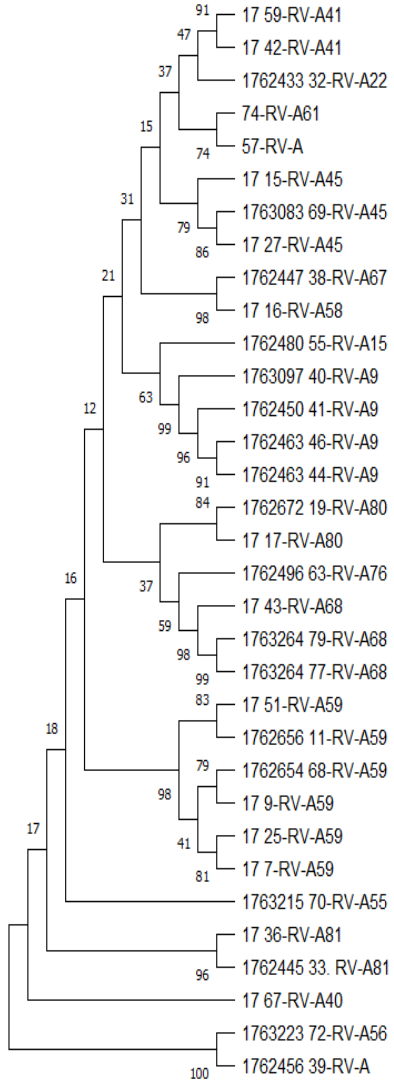
# Bulgular

- Rhinovirus türlerinin erişkin ve çocuk hastalardaki dağılımına bakıldığında RV-A'nın sadece çocuklarda, RV-B ve RV-C'nin her yaş grubunda görüldüğü tespit edilmiştir



# Bulgular

## Filogenetik Analiz



# Tartışma

- RV'ler tüm dünyada ve yıl boyunca solunum yolu hastalığına neden olur
- Çoğunlukla sonbaharda ve bazen ilkbaharda olmak üzere en az iki pik görülür
- Kış ayları hariç diğer mevsimlerde solunum yolu etkeni olarak en çok RV görülmektedir
- RV-A en sık saptanan RV türü olmuştur, bunu sırasıyla RV-C ve RV-B izlemektedir

# Tartışma

- Ülkemizde pandemi öncesinde yapılan çalışmalar
- Demirkan ve ark. Aydın'da yaptıkları çalışmada
  - 65 örnek
  - RV A %43,1
  - RV B %10,8
  - RV C %43,1
- Güney ve ark. İstanbul'da yaptıkları çalışmada
  - 82 örnek
  - RV A %42,7
  - RV B %14,6
  - RV C %42,7

Uyguladığımız protokol tek basamaklı reverse transkripsiyon PZR  
Zaman, işgücü, malzeme açısından avantajlı

# Sonuç

- Çalışmamızda elde edilen veriler, dünyada ve ülkemizde yapılan diğer çalışmalarla benzer
- RV-A tüm yıl boyunca
- RV-C ilkbahar ve sonbaharda baskın
- RV-B'nin ise düşük oranda da olsa dolaşımında
- Bu çalışma ülkemizde COVID-19 pandemisi sürerken RV tiplendirmesini yapmış olan ilk çalışma
  - **RV, COVID-19 pandemisinden etkilenmedi**
  - **RV alt tipleri de COVID-19 pandemisinden etkilenmedi**

# Kaynaklar

- 1) Jacobs SE, Lamson DM, St George K, Walsh TJ. Human rhinoviruses. *Clin Microbiol Rev.* 2013;26(1):135-62.
- 2) Ng KT, Oong XY, Lim SH, et al. . Viral load and sequence analysis reveal the symptom severity, diversity, and transmission clusters of rhinovirus infections. *Clin Infect Dis* 2018;67:261–8. 10.
- 3) Bizzintino J., Lee W. M., Laing I. A., Vang F., Pappas T., Zhang G., et al. Association between human rhinovirus C and severity of asthma in children. *Eur. Respir. J.* 2011;37:1037–1042.
- 4) Agca H, Akalin H, Saglik I, Hacimustafaoglu M, Celebi S, Ener B. Changing epidemiology of influenza and other respiratory viruses in the first year of COVID-19 pandemic. *J Infect Public Health.* 2021;14:1186-1190.
- 5) Kiang D, Kalra I, Yagi S, Louie JK, Boushey H, Boothby J, Schnurr DP. Assay for 5' noncoding region analysis of all human rhinovirus prototype strains. *J Clin Microbiol.* 2008;46:3736-45.
- 6) Demirkan E, Kırdar S, Ceylan E, Yenigün A, Kurt Ömürlü İ. Genotypes of rhinoviruses in children and adults patients with acute respiratory tract infections. *Mikrobiyol Bul.* 2017;51:350-360.
- 7) Hikmet Nilşen Güney. Uzmanlık Tezi. Danışman Kenan Midilli. Solunum Yolu Örneklerinde Rhinovirusların Genotiplendirilmesi. İstanbul. 2017.