

AKUT SOLUNUM YOLU ENFEKSİYONLU ÇOCUK VE ERİŞKİNLERDE İNSAN BOKAVİRUS DNA'SININ POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU İLE SAPTANMASI

DETECTION OF HUMAN BOCAVIRUS DNA BY POLYMERASE CHAIN REACTION IN CHILDREN AND ADULTS WITH ACUTE RESPIRATORY TRACT INFECTIONS

Kenan MİDİLLİ¹, Gülden YILMAZ², Salih TÜRKOĞLU³, Baarnisa ISKANNOVA¹, Sevgi ERGİN¹, Filiz YARIMCAM¹, Melda ÖZDAMAR⁴, Yeşim GÜROL², Yücel TAŞTAN⁵, Kemal ALTAŞ¹

¹ İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul. (kmidilli@istanbul.edu.tr)

² Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

³ İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

⁴ Anadolu Sağlık Merkezi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji, Gebze.

⁵ İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul.

ÖZET

İnsan bokavirüsü (Human Bocavirus; HBoV) 2005 yılında moleküler yöntemlerle tanımlanan ve *Parvoviridae* ailesinde sınıflandırılan yeni bir virustur. Yapılan çalışmalar, HBoV'nin solunum yolu enfeksiyonlarında rolü olduğunu işaret etmektedir. Bu çalışmada, akut solunum yolu hastalığı olan olguların solunum yolu örneklerinde HBoV DNA'sının araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalına başvuran ve akut solunum yolu enfeksiyonu olan 76 çocuk ve 79 erişkin olmak üzere toplam 155 hastadan alınan boğaz sürüntüsü ve/veya boğaz yıkantı örnekleri dahil edilmiştir. HBoV DNA'sı prototip HBoV st1 suşunun 1545-1835 nükleotitleri arasındaki NS1 geninin 290 baz çiftlik kısmını çoğaltan NS1 primerleri (5'-TATGGCCAAGGCA-ATCGTCCAAG-3', 5'-GCCGCGTGAACATGAGAAACAG-3') kullanılarak tek aşamalı "in house" polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile araştırılmıştır. Çalışmamızda, çocuk hastaların %6.5 (5/76)'inde ve erişkin hastaların %2.5 (2/79)'inde HBoV DNA'sı saptanmıştır. HBoV DNA'sının elde edildiği örneklerden üçünün DNA dizi analizi yapılmış ve prototip virus DNA'ları ile %100 homoloji gösterdiği belirlenmiştir. İstanbul ilinde akut solunum yolu enfeksiyonu geçiren çocuk ve erişkin hastalarda HBoV DNA'sının varlığının ilk kez gösterildiği bu çalışma, ülkemizdeki ilk HBoV prevalans çalışmasıdır. HBoV'nin solunum yolu hastalıkları ile ilişkisinin açıklanabilmesi için daha kapsamlı ve prospektif olarak planlanmış klinik ve moleküler çalışmalarla gereksinim vardır.

Anahtar sözcükler: İnsan bokavirüsü, HBoV, solunum yolu enfeksiyonu, polimeraz zincir reaksiyonu, Türkiye.

ABSTRACT

Human bocavirus (HBoV) which was described in 2005 by molecular techniques, is a member of *Parvoviridae*. The role of HBoV is being questioned in acute respiratory diseases (ARD) in many recent studies. The aim of this study was to determine the presence of HBoV DNA in the respiratory specimens of patients with ARD. A total of 155 throat swab and/or washing specimens from 76 children and 79 adults with ARD were examined. HBoV DNA was investigated by single step in-house polymerase chain reaction (PCR) using NS1 primers (5'-TATGGCCAAGGCAATCGTCCAAG-3', 5'-GCC GCGTGAACATGAGAAA-CAG-3') which amplify the 290 base pair region of NS1 gene located between nucleotides 1545-1835 of prototype HBoV st1 strain. HBoV DNA was detected in 5 (6.5%) of 76 children and 2 (2.5%) of 79 adults. Three sequenced samples showed 100% homology with the reference sequences. This study in which HBoV DNA was detected in children and adults with ARD, is the first HBoV prevalence study in Turkey. Larger scale prospective clinical and molecular studies are required to explain the association between HBoV and respiratory disease.

Key words: Human bocavirus, HBoV, respiratory tract infections, polymerase chain reaction, Turkey.

GİRİŞ

Akut solunum yolu enfeksiyonları, tüm dünyada özellikle 10 yaşına kadar olan çocuklarda gelişen enfeksiyonlar arasında önemli morbidite ve mortalite nedenidir. Solunum yolu enfeksiyonlarının da temel sorumluları viruslar olup, bunlar arasında en sık rhinoviruslar (HRV), solunum sinsityal virusu (RSV), influenza ve parainfluenza (PIV) viruslar yer almaktadır. Son yıllarda, nükleik asit tekniklerinin, sebebi belirlenememiş solunum yolu enfeksiyonlarında yaygın kullanımı ile birlikte, 2001 yılından itibaren yeni viruslar tanımlanmış ve solunum yolu enfeksiyonlarının %80'inin viruslar tarafından oluşturulduğu gösterilmiştir. Bunlar arasında; insan metapnömovirusu (human metapneumovirus; HMPV), yeni koronavirüsler (SARS-CoV, HCoV-NL63, HCoV-HKU1), insan bokavirusu (Human bocavirus; HBoV), insan polyoma virus KI (KIV) ve WUV ile yeni rhinovirüsler (HRV-QPM, NAT001, NAT045) bulunmaktadır¹⁻¹⁶.

HBoV, İsveç'te akut solunum yolu enfeksiyonu geçiren çocukların havuzlanmış nazofarinks aspiratlarında 2005 yılında saptanmış yeni bir virustur¹. HBoV, *Parvoviridae* ailesi, *Parvovirinae* alt ailesi içinde sınıflandırılan beş cinsten (Parvovirus, Erythrovirus, Dependovirus, Amdovirus, Bocavirus) biri olan Bocavirus cinsine dahil edilmiştir. Küçük (20-26 nm), çıplak ve ikozahedral yapıya sahip olan HBoV, 5217 nükleotitten oluşan tek iplikli DNA genomu içerir. Viral genom, iki yapısal protein (VP1 ve VP2), iki yapısal olmayan protein (NS1 ve NS2), fosfolipaz A2 benzeri aktiviteye sahip PLA2 ve enfektivite ile ilgili VP1u proteinini kodlayan bölgelerden oluşmaktadır.

Bocavirus ismi, "bovine (bo) parvovirus" (BPV) ve "canine (ca) minute virus"tan türetilmiş olup, veterinerlikte 1960 yılından beri bilinmektedir. BPV, ishalli buzağların gastrointestinal sisteminden izole edilmiştir. Hayvan bokavirüsleri solunum yolu ve gastrointestinal sistem hastalıklarına, üreme bozukluklarına ve hidrops fetalise yol açmaktadır^{15,17-19}. Yakın zamana kadar HBoV'nin saptanmasında sadece nükleik asit teknikleri kullanılmıştır. Briev ve arkadaşları²⁰, HBoV DNA pozitif nazofaringeal aspiratların elektron mikroskopik incelemesinde parvovirus benzeri partiküller tanımlamışlardır. Ayrıca in-

sanlarda, HBoV yapısal proteinlerine karşı oluşmuş antikor tayini ile ilgili araştırmalar da yapılmıştır²⁰⁻²³. HBoV enfeksiyonları ve klinik bulguları ile ilgili çok sayıda çalışmaya karşın, akut solunum yolu enfeksiyonlarında HBoV'nin rolü halen tartışılmaktadır¹⁻²⁹. Bu çalışmada, akut solunum yolu enfeksiyonu olan çocuk ve erişkin hastalarda HBoV DNA'sının polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile araştırılması hedeflenmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Örnekler

Çalışmaya, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalına akut solunum yolu enfeksiyonu nedeniyle başvuran ≤ 5 yaş 76 çocuk hasta ile influenza benzeri sendromla başvuran 79 erişkin hastaya ait boğaz salgısı ve boğaz yıkantı örnekleri dahil edildi. Örneklerin tümü adenovirus, influenza A, B ve RSV A, B virusları açısından PCR yöntemi ile daha önce negatif bulunmuştu. Hastaların hiçbirinde ishal mevcut değildi.

DNA Eldesi ve HBoV PCR

Örneklerden DNA eldesi için ticari bir DNA saflaştırma kiti (HighPure Viral Nucleic Acid Kit, Roche Diagnostics, Almanya) kullanıldı ve işlem üreticinin talimatları doğrultusunda yürütüldü.

Allender ve arkadaşlarının¹ tanımladığı prototip HBoV st1 suşunun 1545-1835 nükleotitleri arasındaki NS1 geninin 290 baz çift (bç)'lik kısmı, NS1 primerleri (5'-TATGGCCA-AGGCAATCGTCCAAG-3', 5'-GCCGCGTGAACATGAGAAACAG-3') kullanılarak tek aşamalı PCR ile çoğaltıldı. 95°C'de 2 dakika başlangıç denatürasyonunu takiben, 95°C'de 30 saniye denatürasyon, 56°C'de 45 saniye birleşme ve 72°C'de 60 saniye uzamayı içeren 45 PCR siklusu uygulandı. Elde edilen ürünler agaroz jel elektroforezinde yürütüldü ve standart moleküler ağırlık ile karşılaştırılarak incelendi. Beklenen ürün boyutu 290 bç idi.

Elde edilen üç örnek, amplikonun özgüllüğünü kanıtlamak için DNA dizi analizine tabii tutuldu.

Dizi Analizi

PCR ürünlerinde, ticari bir kit ile saflaştırıldıktan (HighPure PCR Product Purification Kit, Roche Diagnostics, Almanya) sonra amplifikasyon işleminde kullanılan primerlerle "cycle sequencing" işlemi yapıldı. Bu amaçla, "big-dye terminator kit" kullanıldı ve elde edilen ürünler, "sefadeks G-50 fine" kolonlarından geçirilerek saflaştırıldıktan sonra dizi analizi için ABI-PRISM 310 Sequencer (Perkin-Elmer Applied Biosystems, ABD) cihazına yüklendi. Elde edilen diziler DNASTAR, BioEdit, MEGA-2 software programları kullanılarak kontrolden geçirildi ve düzeltildi. Hizalama işlemi Bioedit paketi içinde yer alan ClustalWallis programı kullanılarak yapıldı. Filogenetik ağaçların oluşturulmasında Treecon yazılımı kullanıldı.

Filogenetik analize dahil edilen suşlara ait dizilerin Gen Bankası erişim numaraları şunlardır: DQ000495 (st1), Sweden; EF203920 (CU6), Thailand; DQ340227 (KR-MN0484),

DQ340228 (KR-MN0885), DQ344454 (KR-MN0202), Korea; EF560214 (MC-10), Brazil; EF450727 (HK11), Hong Kong; EF450740 (HK24), Hong Kong; EF560207(MC-3), Brazil; EF560210 (MC-6), Brazil; DQ340229 (KR-MN0974), Korea; DQ471815 (CHSD5), USA; EF450720 (HK4), Hong Kong; EF203922 (CU74), Thailand; EF450723 (HK7), Hong Kong; EF450719 (HK3), Hong Kong; EF450733 (HK17) Hong Kong; DQ672598 (ViPi-HC), Italy; EF203921 (Cu49), DQ471813 (CHSD2), USA; DQ499604 (HBoV/Thai/05/001), Thailand; DQ200648 (QPID04-0007), Australia; DQ471819 (CHSD9), USA; DQ988933 (BJ3064), China; DQ340225 (KR-MN1114), Korea; DQ340570 (CRD2), USA; EF441262 (WLL-2), China; DQ340226 (KR-MN0046), Korea; EF560212(MC-8).

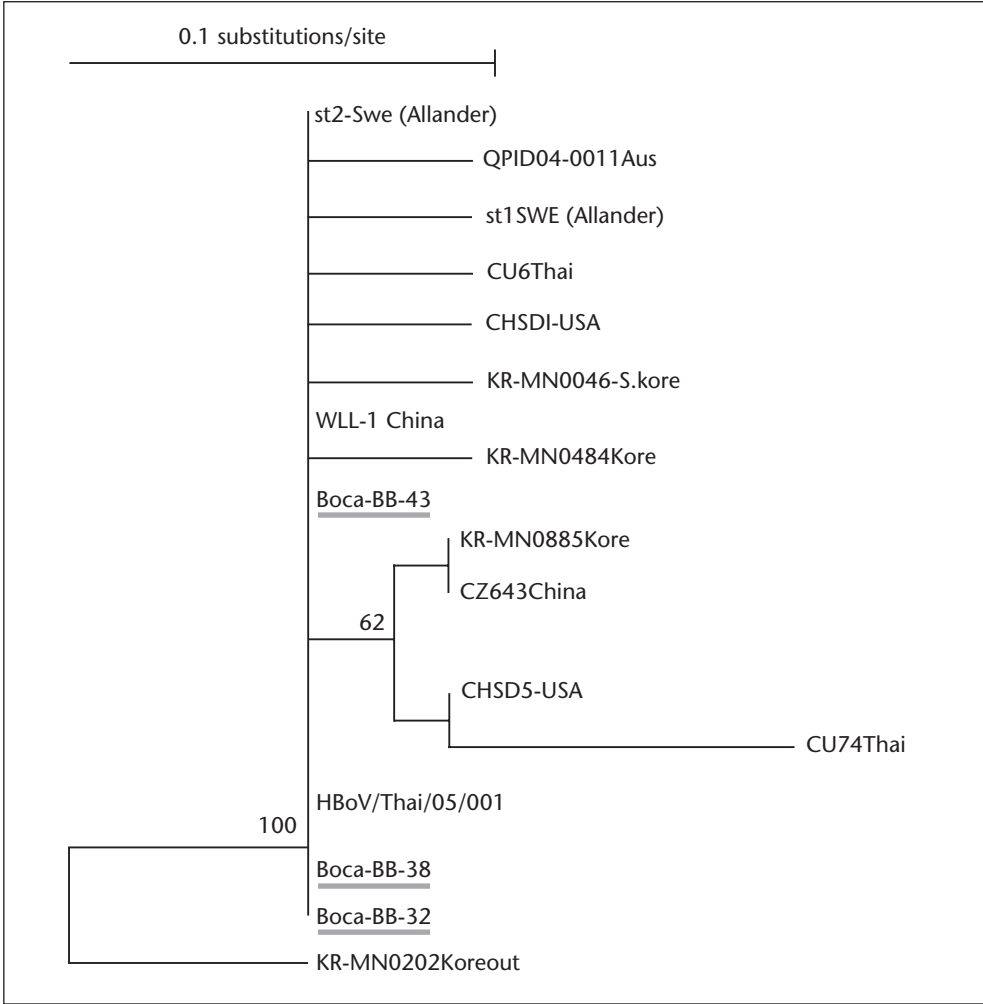
BULGULAR

Çalışmamızda, 76 çocuk hastaya ait örneğin 5 (%6.5)'inde ve 79 erişkin hastaya ait örneğin 2 (%2.5)'sinde HBoV DNA'sı saptanmıştır. Elde edilen üç örneğin DNA dizi analizi sonucu oluşturulan filogenetik analiz sonucu Şekil 1'de görülmektedir. Dizi analizi uygulanan bu üç örnek referans dizilerle %100 homoloji göstermiştir (Şekil 2).

TARTIŞMA

Son 10 yıl içinde moleküler yöntemlerdeki hızlı gelişmeler, birçok enfeksiyonlar için olduğu gibi solunum yolu enfeksiyonlarında da geleneksel yöntemler (hücre kültürü, antijen tespiti, seroloji) ile saptanamayan yeni viral etkenlerin tanımlanabilmesini olanaklı kılmıştır¹⁶. Özellikle çocuklarda önemli bir solunum yolu patojeni olan HMPV'nin 2001 yılında tanımlanmasını takiben, 2003 yılında SARS-CoV, 2004 ve 2005 yıllarında diğer yeni koronavirüsler olan NL63 ve HKU1, yine 2005 yılında HBoV ve 2007 yılında polyomavirus KI (KIV) ve WUV tanımlanmıştır^{16,17}. Yeni bir etken virus bulunduğu zaman, bu virusun patojen olarak potansiyelinin de ortaya çıkarılması önem taşımaktadır. "Koch postulatları" bir patojen ve hastalık arasındaki ilişkiyi ortaya koyma açısından geleneksel standardı sağlamıştır; ancak günümüz şartlarında bu postulatlarda da bazı modifikasyonların yapılma gereği ortaya çıkmıştır³⁰. Buna göre bir mikroorganizma ile bir hastalık arasında ilişki kurulabilmesi için üç koşul aranmaktadır: (a) mikroorganizmanın geninin hasta kişilerde kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek prevalansta saptanmış olması, (b) mikroorganizmanın uygun hayvan modelinde çoğaltılmış olması ve o hasta hayvandan izole edilmiş olması, (c) konakta yeni etkene karşı özgül bağışık yanıtın gösterilmiş olması¹⁶. Bu koşullara göre HMPV ve yeni koronavirüslerin insanlarda solunum yolları hastalığı ile ilişkisi kanıtlanmıştır; ancak polyoma virusların ve HBoV'nin hastalıkla ilişkisi kanıtlanmaya çalışılmaktadır^{11,16,20,21}.

Yapılan çalışmalar, HBoV enfeksiyonunun hemen tüm dünyada görüldüğünü vurgulamaktadır. Bu çalışmalarda, nükleik asit teknikleri ile akut solunum yolu enfeksiyonu olan hastalarda %0.5-18.3 arasında değişen oranlarda HBoV DNA'sı saptanmıştır. Bazı araştırmacılar ise bu oranları %33-56 gibi yüksek oranlarda bildirmişler ve HBoV'nin diğer solunum yolu patojenleri ile birlikte olduğunu ifade etmişlerdir¹⁻²⁹. Bu bulgular, HBoV'nin akut solunum yolu enfeksiyonundaki rolünün sorgulanmasına yol açmıştır. Bi-



Şekil 1. Elde edilen üç HBoV dizilerinin, Gen Bankasındaki suşların NS1 bölgelerine ait dizilerle filogenetik analiz sonuçları.

zim çalışmamızda HBoV DNA'sı 76 pediatrik örneğin 5 (%6.5)'inde ve 79 erişkin hasta-ya ait örneğin 2 (%2.5)'sinde tespit edilmiştir. Bu örneklerin tümü adenovirus, influenza A, B ve RSV A, B virusları açısından PCR yöntemi ile negatif bulunan örneklerdir.

Ulaşabildiğimiz kadarıyla ülkemizde HBoV'ye ait veriler sınırlıdır. Çelebi'nin³¹ çalış- masında, Mart-Ağustos 2007 tarihleri arasında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk ve Ço- cuk Acil Polikliniğinde akut solunum yolu enfeksiyonu tanısı konulan 15 yaş altı 119'u erkek, 84'ü kız toplam 203 hastanın boğaz sürüntü örneğinde HBoV DNA'sı PCR yön- temi ile araştırılmış ve 11 (%5.4) örnekte HBoV pozitif olarak saptanmıştır. Çalışmada ayrıca, HBoV pozitif hastaların %72.6'sının beş yaşın altında olduğu, en çok pozitif ör-

Bora-EB-32	TATGCGTG	TTAATCATTT	GAACAAAGG	TTTGATTTA	ATGACTGCA	ACAACGCTA
Bora-EB-38	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Bora-EB-43	-----	-----	-----	-----	-----	-----
KR-MNO 102Kore out	-----	-----	-----	-C-	-A-	-C-
KR-MNO 104Kore	-----	-----	-----	-----	-----	-----
QPID04-001Aus	-----	-----	-----	-----	-----	-----
CHSIL-USA	-----	-----	-G-	-----	-----	-----
KR-MNO 046-3 .kore	-----	-----	-----	-----	-----	-----
HEoQ/Thai/05/001	-----	-----	-----	-----	-----	-----
CU74Thai	-----	-----	A-	-----	-----	-----
C2649China	-----	-----	A-	-----	-----	-----
KR-MNO 805Kore	-----	-----	A-	-----	-----	-----
st13WE (Allander)	-----	-----	-----	-----	-----	-T-
WLL-1China	-----	-----	-----	-----	-----	-----
CU6Thai	-----	-----	-----	-----	-----	-----
st2-3we (Allander)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
CHSD5-USA	-----	-M-	M-	-----	-----	-----
50						
Bora-EB-32	CTTCTTTGCT	GGGAGGAGTG	CTTAATGCA	CAGGATTCGG	TGGAACCTGC	AAAATGCTATC
Bora-EB-38	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Bora-EB-43	-----	-----	-----	-----	-----	-----
KR-MNO 102Kore out	-A-	-----	-----	-----	-----	-----
KR-MNO 104Kore	-----	-----	-----	-----	-----	-----
QPID04-001Aus	-----	-A-	-----	-----	-----	-----
CHSIL-USA	-----	-----	-----	-----	-----	-----
KR-MNO 046-3 .kore	-----	-----	-----	-----	-----	-----
HEoQ/Thai/05/001	-----	-----	-----	-----	-----	-----
CU74Thai	-----	-----	-----	-----	-----	-A-
C2649China	-----	-----	-----	-----	-----	-----
KR-MNO 805Kore	-----	-----	-----	-----	-----	-----
st13WE (Allander)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
WLL-1China	-----	-----	-----	-----	-----	-----
CU6Thai	-----	-----	-----	-----	-----	-----
st2-3we (Allander)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
CHSD5-USA	-----	-----	-----	-----	-----	-----
120						
Bora-EB-32	TTGGGCGGGA	CAGGATGCA	AAATGACGTC	AAGCATAGAG	ACAGTGACT	TTTAAGCTAA
Bora-EB-38	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Bora-EB-43	-----	-A-	-----	-----	-----	-----
KR-MNO 102Kore out	-----	-----	-----	-----	-----	-----
KR-MNO 104Kore	-----	-----	-----	-----	-----	-----
QPID04-001Aus	-----	-A-	-----	-----	-----	-----
CHSIL-USA	-----	-----	-----	-----	-----	-----
KR-MNO 046-3 .kore	-A-	-----	-----	-----	-----	-----
HEoQ/Thai/05/001	-----	-----	-----	-----	-----	-----
CU74Thai	-----	-----	-----	-----	-C-	-----
C2649China	-----	-----	-----	-----	-----	-----
KR-MNO 805Kore	-----	-----	-----	-----	-----	-----
st13WE (Allander)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
WLL-1China	-----	-----	-----	-----	-----	-----
CU6Thai	-----	-----	-A-	-----	-----	-----
st2-3we (Allander)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
CHSD5-USA	-----	-----	-----	-----	-M-	-----
180						
Bora-EB-32	ACACCTGTAA	TTATATCCAC	TAACTACGAT	ATCTACCGGG	TTGTTGGTGG	CAATCTCTGT
Bora-EB-38	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Bora-EB-43	-----	-----	-----	-----	-----	-----
KR-MNO 102Kore out	-----	-----	-----	-----	-----	-----
KR-MNO 104Kore	-----	-----	-----	-----	-----	-----
QPID04-001Aus	-----	-----	-----	-----	-----	-----
CHSIL-USA	-----	-----	-----	-----	-----	-----
KR-MNO 046-3 .kore	-----	-----	-----	-----	-----	-----
HEoQ/Thai/05/001	-----	-----	-----	-----	-----	-----
CU74Thai	-----	-----	-----	-T-	-----	-----
C2649China	-----	-----	-----	-----	-----	-----
KR-MNO 805Kore	-----	-----	-----	-----	-----	-----
st13WE (Allander)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
WLL-1China	-----	-----	-----	-----	-----	-----
CU6Thai	-----	-----	-----	-----	-----	-----
st2-3we (Allander)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
CHSD5-USA	-----	-----	-----	-----	-----	-----
240						
Bora-EB-32	TCTCA	-----	-----	-----	-----	-----
Bora-EB-38	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Bora-EB-43	-----	-----	-----	-----	-----	-----
KR-MNO 102Kore out	-----	-----	-----	-----	-----	-----
KR-MNO 104Kore	-----	-----	-----	-----	-----	-----
QPID04-001Aus	-----	-----	-----	-----	-----	-----
CHSIL-USA	-----	-----	-----	-----	-----	-----
KR-MNO 046-3 .kore	-----	-----	-----	-----	-----	-----
HEoQ/Thai/05/001	-----	-----	-----	-----	-----	-----
CU74Thai	-----	-----	-----	-----	-----	-----
C2649China	-----	-----	-----	-----	-----	-----
KR-MNO 805Kore	-----	-----	-----	-----	-----	-----
st13WE (Allander)	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Şekil 2. Gen Bankasındaki suşların NS1 genlerinin 290 bç'lik kısmının üç Türk suşu ile hizalama sonuçları.

neğin nisan ayında saptandığı (n= 5) ve pozitiflik saptanan hastalardan birinde adenovirus pozitifliğinin de olduğu bildirilmiştir³⁰. Mevsimsel dağılım ve gerçek insidans hakkında bilgilerin yetersiz olması, çalışmaların diğer viral solunum yolu enfeksiyonlarının görüldüğü kış aylarında toplanan örneklerden yapılmasına bağlıdır²⁹. Bizim çalışmamızdaki örnekler de kış ayında toplanan örneklerdir. Sonuçlarımız, farklı coğrafi bölgelerde yapılan çalışmalar ile uygunluk göstermektedir. Her ne kadar viral etkenlerin taranması, adenovirus, influenza A, B ve RSV A, B ile sınırlı olsa da, çalışma grubumuzda HBoV DNA varlığının saptanmış olması, virusun ülkemizde de akut solunum yolu enfeksiyonlarında rolü olduğunu düşündürmektedir. Filogenetik analiz sonuçları, daha önceki çalışmalarda bildirilen suşlara benzer suşların ülkemizde de enfeksiyon oluşturduğunu işaret etmektedir.

HBoV izolatlarının yüksek düzeyde homoloji gösterdiği bildirilmiştir²⁹. Genetik varyasyon çoğunlukla kapsid VP1/VP2 genlerinde ortaya çıkar ve buna bağlı olarak da ST1 ve ST2 olarak adlandırılan iki genotipte sınıflandırılır²¹. Bizim çalışmamızda NS1 primerleri ile çoğaltılan bölgede dizi analizi uygulanan üç örnek prototip suşla %100 homoloji göstermiştir. Çoğaltılan bölge farklılığı nedeniyle ST1/ST2 genotiplemesi açısından bu çalışma kapsamında sınıflandırma yapılamamıştır.

HBoV'nin bulaş yolu ile ilgili yeterli bir bilgi bulunmamasına rağmen, aerosol ve yakın temasla diğer solunum yolu virusları gibi bulaştığı tahmin edilmekte; virusun dışkıda da bulunması fekal oral yolla da bulaşın mümkün olduğunu düşündürmektedir¹¹. HBoV'nin nazofarinks, serum, dışkı ve idrar örneklerinde araştırıldığı çeşitli çalışmalar mevcuttur^{11,20,21,29}. Bazı araştırmacılar, akut gastroenteritli olgularda viral DNA'nın %0.8-9.1 oranında saptandığını bildirmektedir^{21,29}. Bizim çalışmamızda, hastalardan alınan boğaz salgısı ve boğaz yıkantı örnekleri kullanılmış, olgularımızın hiçbirinde ishal yakınması olmadığından dışkı örnekleri çalışmaya alınmamıştır.

HBoV enfeksiyonu tanısı, viral genomun PCR ile tayinine dayanmaktadır. Kantitatif olarak HBoV DNA'sının araştırıldığı bir çalışmada, nazofaringeal aspiratta 10⁶ genom/ml'nin üzerindeki değerlerin semptomatik enfeksiyonla ilişkili olduğu, 10⁴'ün altındaki düşük viral yükün ise viral persistansa işaret edebileceği ifade edilmiştir²⁷. Buna karşın, viral yük ile hastalığın şiddeti arasında ilişki saptayamayan çalışmalar da yayınlanmıştır²⁹. Yapılan serolojik çalışmalar ise, HBoV ile oluşan solunum yolu enfeksiyonlarında virusun sistemik yayılım gösterdiğini, B hücre yanıtı oluşturduğunu, özgül IgM antikor varlığının nazofarinksteki yüksek viral yük ve viremi ile korelasyon gösterdiğini, büyük çocuk ve erişkinlerde seroprevalansın %95'in üzerinde olduğunu ortaya koymaktadır^{21,22-29}.

Sonuç olarak, yeni tanımlanan bir virus olmasına karşın HBoV ile ilgili epidemiyolojik ve klinik veriler hızla birikmektedir. Ülkemizde de bu konuda yapılacak ileriye dönük seroepidemiyolojik, klinik ve moleküler çalışmalar, HBoV'nin akut solunum yolu enfeksiyonlarındaki rolüne açıklık getirecektir.

KAYNAKLAR

1. Allander T, Tammi MT, Eriksson M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A, Andersson B. Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 12891-6.
2. Arden KE, McErlean P, Nissen MD, Sloots TP, Mackay IM. Frequent detection of human rhinoviruses, paramyxoviruses, coronaviruses, and bocavirus during acute respiratory tract infections. *J Med Virol* 2006; 78: 1232-40.
3. Arnold JC, Singh KK, Spector SA, Sawyer MH. Human bocavirus: prevalence and clinical spectrum at a children's hospital. *Clin Infect Dis* 2006; 43: 283-8.
4. Bastien N, Brandt K, Dust K, Ward D, Li Y. Human Bocavirus infection, Canada. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 848-50.
5. Bastien N, Chui N, Robinson JL, Lee BE, Dust K, Hart L, Li Y. Detection of human bocavirus in Canadian children in a 1-year study. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 610-3.
6. Choi EH, Lee HJ, Kim SJ, et al. The association of a newly identified respiratory viruses with lower respiratory tract infections in Korean children, 2000-2005. *Clin Infect Dis* 2006; 43: 585-92.
7. Chung JY, Han TH, Kim CK, Kim SW. Bocavirus infection in hospitalized children, South Korea. *Emerg Infect Dis* 2006; 12:1254-6.
8. Foulongne V, Rodiere M, Segondy M. Human bocavirus in children. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 862-3.
9. Foulongne V, Olejnik Y, Perez V, Elaerts S, Rodiere M, Segondy M. Human bocavirus in French children. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 1251-3.
10. Kaplan NM, Dove W, Abu-Zeid AF, Shamooh HE, Abd-Eldayem SA, Hart CA. Human bocavirus infection among children, Jordan. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 1418-20.
11. Kesebir D, Vazquez M, Weibel C, et al. 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: 1276-82.
12. Lu X, Chittaganpitch M, Olsen SJ, et al. Real-time PCR assays for detection of bocavirus in human specimens. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 3231-5.
13. Ma X, Endo R, Ishiguro N, et al. Detection of human bocavirus in Japanese children with lower respiratory tract infections. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 1132-4.
14. Naghipour M, Cuevas L, Bakhshinejad T, Dove W, Hart C. Human bocavirus in Iranian children with acute respiratory infections. *J Med Virol* 2007; 79: 539-43.
15. Schildgen O, Müller A, Allander T, et al. Human bocavirus: passenger or pathogen in acute respiratory tract infections? *Clin Microbiol Rev* 2008; 21: 291-304.
16. Sloots TP, Whitley DM, Lambert SB, Nissen MD. Emerging respiratory agents: new viruses for old diseases? *J Clin Virol* 2008; 42: 233-43.
17. Ambrose HE, Cleley JP. Virus discovery by sequence-independent genome amplification. *Rev Med Virol* 2006; 16: 365-83.
18. Fauquet CM, Fargette D. International Committee on Taxonomy of Viruses and the 3,142 unassigned species. *Virology* 2005; 2: 64.
19. Manteufel J, Truyen U. Animal bocaviruses: a brief review. *Intervirology* 2008; 51: 328-34.
20. Brieu N, Gay B, Segondy M, Foulongue V. Electron microscopy observation of human bocavirus (HBoV) in nasopharyngeal samples from HBoV -infected children. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 3419-20.
21. Wang K, Wang W, Yan H, et al. Correlation between bocavirus infection and humoral response and co-infection with other respiratory viruses in children with acute respiratory infection. *J Clin Virol* 2010; 47: 148-55.
22. Kantola K, Hedman L, Allander T, et al. Serodiagnosis of human bocavirus infection. *Clin Infect Dis* 2008; 46: 540-6.
23. Sloots TP, McErlean P, Speicher DJ, Arden KE, Nissen MD, Mackay IM. Evidence of human coronavirus HKU1 and human bocavirus in Australian children. *J Clin Virol* 2006; 35: 99-102.

24. Weissbrich B, Neske F, Schubert J, et al. Frequent detection of bocavirus DNA in German children with respiratory tract infections. *BMC Infect Dis* 2006; 6: 109.
25. Maggi F, Andreoli E, Pifferi M, Meschi S, Rocchi J, Bendinelli M. Human bocavirus in Italian patients with respiratory diseases. *J Clin Virol* 2007; 38: 321-5.
26. Manning A, Russell V, Eastick K, et al. Epidemiological profile and clinical associations of human bocavirus and other human parvovirus. *J Infect Dis* 2006; 194: 1197-9.
27. Lin F, Zeng A, Yang N, et al. Quantification of human bocavirus in lower respiratory tract infections in China. *Infect Agent Cancer* 2007; 31: 2-3.
28. Fry AM, Lu X, Chittaganpich M, et al. Human bocavirus: a novel parvovirus epidemiologically associated with pneumonia requiring hospitalization in Thailand. *J Infect Dis* 2007; 195: 1038-45.
29. Lindner J, Modrow S. Human bocavirus-a novel parvovirus to infect humans. *Intervirology* 2008; 51: 116-22.
30. Williams JV. Déjà vu all over again: Koch's postulates and virology in the 21st century. *J Infect Dis* 2010; 201: 1611-4.
31. Çelebi E. Bahar ve yaz mevsimlerinde görülen çocukluk çağı akut solunum yolları enfeksiyonlarında bocavirus DNA' sının saptanması. Uzmanlık Tezi, 2007. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.