

Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı ve Astımı Olan Hastalarda İnsan Metapnömovirus Varlığının Araştırılması ve Hastalık Atakları ile İlişkisi*

Investigation of the Presence of Human Metapneumovirus in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Asthma and Its Relationship with the Attacks

Ahmet İLVAN¹, Gönül ASLAN², Mehmet Sami SERİN³, Mukadder ÇALIKOĞLU¹, Fatma Mehtap YILMAZ⁴, Seda TEZCAN², Dilaver TAŞ⁵, Cüneyt AYRIK⁶, Evren UYGUNGÜL⁷, Ogün SEZER⁸, Gürol EMEKDAŞ²

¹ Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Mersin.

¹ Mersin University Faculty of Medicine, Department of Chest Diseases, Mersin, Turkey.

² Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin.

² Mersin University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Mersin, Turkey.

³ Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin.

³ Mersin University Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Microbiology, Mersin, Turkey.

⁴ Çukurova Dr. Aşım Tüfekçi Devlet Hastanesi, Adana.

⁴ Cukurova Dr. Askim Tufekci State Hospital, Adana, Turkey.

⁵ Gülhane Askeri Tıp Akademisi Haydarpaşa Eğitim Hastanesi, Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Kliniği, İstanbul.

⁵ Gulhane Military Academy of Medicine Haydarpasa Training Hospital, Clinic of Chest Diseases and Tuberculosis, Istanbul, Turkey.

⁶ Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Acil Tıp Anabilim Dalı, Mersin.

⁶ Mersin University Faculty of Medicine, Department of Emergency Medicine, Mersin, Turkey.

⁷ Iğdır Devlet Hastanesi, Iğdır.

⁷ Igdir State Hospital, Igdir, Turkey.

⁸ Türk Silahlı Kuvvetleri Rehabilitasyon ve Bakım Merkezi, Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara.

⁸ Turkish Armed Forces Rehabilitation and Care Center, Department of Medical Microbiology, Ankara, Turkey.

* Bu çalışma, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projelerini Destekleme Birimince desteklenmiş [BAP-TF DTB (AI) 2007-2] ve TÜSAD 33. Ulusal Kongresi (15-19 Ekim 2011, İzmir)'nde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

Geliş Tarihi (Received): 12.02.2013 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 02.08.2013

İletişim (Correspondence): Prof. Dr. Ahmet İlvan, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 324 341 2311, **E-posta (E-mail):** ailvan@hotmail.com

ÖZET

İnsan metapnömovirusu (Human metapneumovirus; hMPV), 2001 yılında akut solunum yolu enfeksiyonu olan çocuklardan izole edilen ve *Paramyxoviridae* ailesinde sınıflandırılan zarflı bir RNA virusudur. Son yıllarda hMPV enfeksiyonlarının kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) ve astım ataklarında etkili olduğu ileri sürülmektedir. Bu çalışmada, KOAH ve astımı olan hastalarda hMPV'nin sıklığı, atak şiddetine etkisi ve hMPV varlığı ile demografik ve klinik özelliklerin ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya, "Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease" kriterlerine göre KOAH tanısı konulan 66 (atağı olan 45, stabil dönemde olan 21 hasta) ve "Global Strategy for Asthma Management and Prevention" kriterlerine göre astım tanısı konulan 57 (atağı olan 33, astımı kontrolde olan 24 hasta) olmak üzere toplam 123 hasta dahil edilmiştir. Tüm hastalardan nazofarengeal yıkıntı örnekleri alınmış ve örneklerde hMPV-RNA varlığı, virusun F gen bölgesinin hedeflendiği ters transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) yöntemi ile araştırılmıştır. Çalışmamızda hMPV-RNA pozitiflik oranı KOAH'lı hastalarda %30.3 (20/66), astımlı hastalarda ise %31.6 (18/57) olarak bulunmuş ve gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=1.00$). Atağı olan olgular ile hastalığın kontrolde olduğu olgular karşılaştırıldığında hMPV-RNA varlığı; KOAH atağı olanlarda %31.1 (14/45), stabil KOAH'lı hastalarda %28.6 (6/21); astım atağı olanlarda %36.4 (12/33), kontrolde astımı olan hastalarda %25 (6/24) oranlarında tespit edilmiştir ($p>0.05$). KOAH ve astım ataklı hastalarda toplam hMPV saptanma oranı (26/78; %33.3), KOAH ve astımı stabil/kontrolde olanlara (12/45; %26.7) göre yüksek bulunmuş, ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p=0.57$). Yoğun bakım ve mekanik ventilasyon gerektiren atağı olan KOAH'lı hastalarda hMPV pozitifliği %36.4 oranında saptanırken, evde ve hastanede (yoğun bakım ve mekanik ventilasyon gerektirmeden) tedavi olabilecek KOAH ataklı hastalarda bu oran %26.1 olarak tespit edilmiştir ($p=0.67$). Benzer olarak orta ve ağır atağı olan astımlılarda hMPV saptanma oranının (%45), hafif atağı olanlara (%23.1) göre yüksek olduğu gözlenmiş, ancak bu fark da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.28$). Hem KOAH hem de astımlı grupta, hMPV pozitif ve negatif hastalar arasında demografik ve klinik özellikler (yaş, cinsiyet, özgeçmiş, sigara içme durumu, alerji, KOAH derecesi veya astım şiddeti, KOAH veya astım atak şiddeti, inhale steroid kullanma durumu, ateş) yönünden bulunan farklılıklar, astımlı hastalardaki hastalık şiddeti hariç ($p=0.02$), istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildir ($p>0.05$). Sonuç olarak, hMPV'nin KOAH ve astım ataklarının oluşum ve şiddeti üzerindeki rolünün aydınlatılabilmesi için daha geniş olgu sayıları ile yapılacak ileri çalışmalara gereksinim olduğu düşünülmüştür.

Anahtar sözcükler: İnsan metapnömovirusu; kronik obstrüktif akciğer hastalığı; astım; RT-PCR.

ABSTRACT

Human metapneumovirus (hMPV), an enveloped RNA virus classified in Paramyxoviridae family, was first characterized in 2001 from children with acute respiratory tract infection. Recent studies have suggested hMPV to play a role in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and asthma attacks. The aims of this study were to investigate the frequency of hMPV in patients with COPD and asthma, its effects on the severity of the attacks and the relationship between demographical and clinical factors. A total of 123 patients, including 66 with COPD (45 were in attack and 21 were stable) and 57 with asthma (33 were in attack and 24 were under control) diagnosed according to the criteria of Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease and the Global Strategy for Asthma Management and Prevention, respectively, were included in the study. Nasopharyngeal lavage samples collected from all of the patients have been evaluated for the presence of hMPV-RNA by using a reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) targeting F gene region of the virus. hMPV-RNA positivity rates in patients with COPD and asthma were observed as 30.3% (20/66) and 31.6% (18/57), respectively, and the difference between the groups were not statistically significant ($p=1.00$). When patients were compared according to their disease status, hMPV was detected in 31.1% (14/45) of patients with COPD attack and 28.6% of stable patients ($p>0.05$). These rates were found as 36.4% (12/33) and 25% (6/24) in patients with asthma attack and controlled asthma, respectively ($p>0.05$). Although the virus detection

rates in patients with COPD and asthma attacks (26/78; 33.3%) were higher than the patients with stable/controlled disease (12/45; 26.7%), the difference was not found as statistically significant ($p=0.57$). The detection rate of hMPV-RNA was 26.1% in patients who can be treated at home and hospital without any need of intensive care and mechanical ventilation, while this rate was 36.4% in patients with COPD attack who require intensive care and mechanical ventilation ($p=0.67$). Similarly, hMPV-RNA was detected more frequently in asthma patients with moderate and severe attacks (45%) than in patients with mild attacks (23.1%); however this difference was also not statistically significant ($p=0.28$). No association of hMPV-RNA detection and demographical and clinical characteristics (age, gender, medical history, smoking status, allergy, COPD severity, asthma severity, the severity of attacks, using inhaled steroid, fever) of the patients could be demonstrated ($p>0.05$), except the severity of the disease in patients with asthma ($p=0.02$). In conclusion, further studies with large number of cases are needed to elucidate the role of hMPV in the occurrence and severity of COPD and asthma attacks.

Key words: Human metapneumovirus; chronic obstructive pulmonary disease; asthma; RT-PCR.

GİRİŞ

İlk kez 2001 yılında solunum yolu enfeksiyonu olan çocuklardan izole edilen insan metapnömovirusu (Human metapneumovirus; hMPV), *Paramyxoviridae* ailesi, *Pneumovirinae* alt ailesi, *Metapneumovirus* cinsinde sınıflandırılan zarflı, heliksel nükleokapsidli, negatif polariteli tek zincirli RNA genomuna sahip bir virustur^{1,2}. Filogenetik analizler ile hMPV, zarf glikoproteinlerini kodlayan G (tutunma) ve F (füzyon) geni nükleotid dizlerine göre A ve B olmak üzere iki genotipe ayrılmaktadır². F glikoproteini aminoasit dizleri, bu iki genotip içinde oldukça korunmuş bölge olup, çapraz nötralizasyon ve koruma aracılık eden antijenik determinantları içermektedir^{1,2}.

İnsan metapnömovirusu, dünya genelinde tüm yaşlarda akut alt ve üst solunum yolu enfeksiyonu etkeni olarak yaygın olarak rapor edilmekle birlikte en çok 5 yaş altı çocuklarda bildirilmektedir^{3,4}. Çocuklarda hMPV, solunum sinsityal virusunun (Respiratory syncytial virus; RSV) neden olduğu klinik tablolara benzer bulgulara neden olmaktadır. Toplumdan kazanılan diğer solunum yolu viruslarında (RSV, adenovirus, influenza, parainfluenza, rhinoviruslar) olduğu gibi, primer enfeksiyon erken çocukluk döneminde kazanılır ve bu dönemde immünite yetersiz olduğu için erişkin dönemde reenfeksiyonlar ortaya çıkabilir^{5,6}. Son yıllarda hMPV enfeksiyonlarının, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) ve astım ataklarındaki rolünü araştırarak çeşitli çalışmalar yayınlanmaktadır⁷⁻¹¹. Bu çalışma, KOAH veya astım atağı ile başvuran hastalarda hMPV sıklığını, atak şiddeti ile ilişkisini, hMPV varlığının demografik ve klinik özelliklerle ilişkisini araştırmak amacıyla planlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Hastalar

Çalışmaya, GOLD-2007 (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease) kriterlerine göre KOAH ve GINA-2007 (Global Strategy for Asthma Management and Prevention) kriterlerine göre astım tanısı konan 169 hasta dahil edildi. Bu hastalardan tüm verileri elde edilebilen 123 tanesinin sonuçları değerlendirmeye alındı. Hastaların 66'sı

KOAH (KOAH atağı olan 45, stabil dönemde olan 21 hasta), 57'si ise astım (astım atağı olan 33, astımı kontrolde olan 24 hasta) tanısı almıştı. Çalışma Mersin Üniversitesi Etik Kurulunun onayı ile gerçekleştirildi ve hasta onamları alındı.

Çalışmaya alınan olguların demografik ve klinik özellikleri (yaş, cinsiyet, özgeçmiş, sigara içme durumu, alerji, KOAH derecesi veya astım şiddeti, KOAH veya astım atak şiddeti, inhale steroid kullanma durumu, ateş) kaydedildi. Hastaların klinik özelliklerine göre rutin tetkikleri [PA akciğer grafisi, hemogram, solunum fonksiyon testi (SFT)-spirometri] yapıldı. Tüm hastalardan nazofarengeal yıkantı örneği alındı. Örnekler, laboratuvarında hazırlanan viral taşıma besiyerinin 3 ml kadar nazofarenkse verilip geri çekilmesiyle elde edildi. Örneklerde hMPV RNA'sı, virusun F gen bölgesinin hedeflendiği RT-PCR (reverse transcriptase-polymerase chain reaction) yöntemi ile araştırıldı.

RT-PCR ile hMPV RNA'sının Tespiti

Nazofarengeal yıkantı örneklerinden viral nükleik asidin izolasyonu, klasik RNA izolasyon yöntemi ile gerçekleştirildi¹². İzole edilen RNA'lardan cDNA sentezi için "RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit" (Fermentas, #K1622) kullanıldı. "NCBI/ Primer-BLAST-Primer designing tool" programı kullanılarak hMPV TW05-00125 izolatının, F gen bölgesinin 348 baz çift (bç)'lik kısmını hedefleyen primerler tasarlandı (Tablo I). PCR optimizasyonu için, daha önce HEXAPLEX® PLUS Multiplex PCR yöntemi ile yapılmış bir çalışmada hMPV pozitif bulunan solunum yolu örneklerine ait RNA'lar kullanıldı¹³.

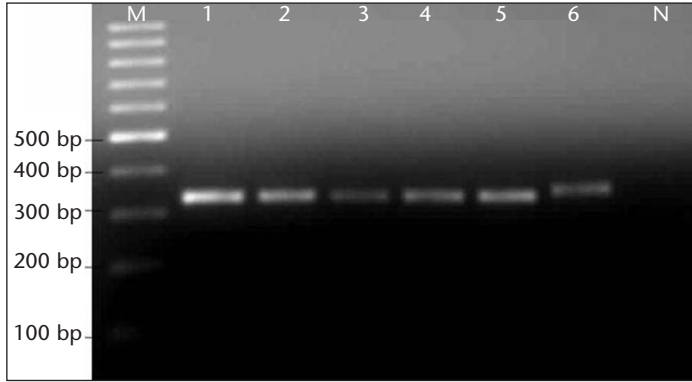
Her bir örneğin PCR amplifikasyonu 25 µl'lik reaksiyon hacimlerinde gerçekleştirildi. Reaksiyon karışımı, 2.5 µl 10XPCR tampon, 2.5 µmol/µl MgCl₂, 0.1 µmol/µl dNTP karışımı, 0.2 pmol/µl her bir primer, 25 U Taq DNA polimeraz ve 3 µl cDNA içermekte idi. Örneklerin ısı döngü cihazında (Eppendorf, Mastercycler, Almanya) amplifikasyon koşulları ise, 94°C'de 10 dk başlangıç denatürasyonu, arkasından 40 döngü 94°C'de 45 sn denatürasyon, 60°C'de 45 sn bağlanma ve 72°C'de 1 dk uzama basamakları ve arkasından 70°C'de 5 dk son uzama basamakları şeklinde idi. PCR ürünleri, %1'lik agaroz jel elektroforezinden sonra 0.5 µg/ml etidyum bromür ile boyandıktan sonra UV transilüminatörde görüntülendi (Şekil 1).

PCR Ürününün Direkt DNA Dizi Analizi

Elde edilen PCR ürünlerinin doğrulanması için amplifiye ürünlerden birine "Bigdye Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit" (Applied Biosystems, CA, ABD) kullanılarak dizi

Tablo I. hMPV F Gen Bölgesini Hedefleyen Primer Dizileri

	Primer dizileri (5'-3')	Hedeflenen bölge (nt)	Tm	GC%	Ürün uzunluğu
Forward primer	CAGCAGCAGTCACAGCAGGCA	3408-3428	59.91	%61.90	348 bç
Reverse primer	CAGCTCTGGCCAGCTCAGCA	3755-3736	59.06	%65.00	



Şekil 1. hMPV F gen bölgesinin RT-PCR sonrası yaklaşık 348 bp uzunluğundaki amplifikasyon ürünlerinin %1'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü [Kolon M: Moleküler ağırlık standardı (GeneRuler 100 bp DNA ladder, #SM0241, Fermentas); Kolon 1-6: Pozitif örnekler; Kolon 7: Negatif kontrol].

analizi gerçekleştirildi. Dizi analizi verileri ABI PRISM 3130XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems, CA, ABD) kromatogram şeklinde toplandı.

Filogenetik Analiz

Hasta örneklerinden birine ait dizi analizi verisi ve dört adet referans NCBI (National Center for Biotechnology Information) hMPV genom dizisi (GenBank erişim no: FJ168779.1, GQ153651.1, KC403982 ve KC403979.1), CLUSTAL X versiyon 1.83 yazılım programı ile hizalandıktan sonra GENDOC versiyon 2.6.002 (Multiple Sequence Alignment Editor & Shading Utility) yazılım programı ile konsensus dizi olarak kaydedildi. Bu dizilerin filogenetik karşılaştırması MEGA versiyon 3.1 paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. Filogenetik ağaç "Neighbor-Joining" metodu ile oluşturuldu.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz SPSS 17.0 programı ile yapıldı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırması için ki-kare testi, sürekli değişkenlerin karşılaştırması için t-testi kullanıldı. Anlamlılık sınırı olarak $p < 0.05$ değeri kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmamızda, KOAH atak ve stabil KOAH grupları arasında; yaş, cinsiyet, özgeçmiş, sigara içme durumu, alerji öyküsü, KOAH şiddeti, inhale steroid kullanımı, vücut ısı yüksekliliği yönünden anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo II). Zorlu vital kapasite (FVC), FVC 1. saniye volümü (FEV_1) ve FEV_1/FVC oranı, atak olan hastalarda beklenildiği üzere daha düşük bulunmuştur (p değeri sırasıyla; 0.82, 0.04 ve 0.06). Hastaların beyaz küre ve nötrofil sayıları yüksek (p değeri sırasıyla; 0.02 ve < 0.01), lenfosit sayıları düşüktür ($p < 0.01$). KOAH atak grubunda 21 (%46.7) hastada, stabil grupta 5 (23.8) hastada hMPV pozitifliği saptanmıştır ($p = 0.13$) (Tablo II).

Astımlı hastalar değerlendirildiğinde; atakta astım grubunda beklendiği gibi FVC ve FEV_1 değerleri düşük (p değeri sırasıyla; < 0.01 ve < 0.01), FEV_1/FVC oranı ise farksız bu-

Tablo II. KOAH'lı Hastaların Klinik ve Demografik Özellikleri

Özellik	KOAH atak grubu (n= 45)	Stabil KOAH grubu (n= 21)	p değeri
Yaş (yıl)	64.3 ± 9.0	66.0 ± 8.4	0.47
Cinsiyet			
Kadın	7 (15.6)	0 (0)	0.09
Erkek	38 (84.4)	21 (100)	
Özgeçmişte hastalık öyküsü			
Var	28 (62.2)	10 (47.6)	0.63
Yok	17 (37.8)	11 (52.4)	
Sigara			
İçmemiş	3 (6.7)	0 (0)	0.39
Bırakmış	31 (68.9)	17 (81)	
Halen içiyor	11 (24.4)	4 (19)	
Alerji			
Var	9 (20)	3 (14.3)	0.74
Yok	36 (80)	18 (85.7)	
İnhale steroid			
Kullanıyor	24 (53.3)	7 (33.3)	0.21
Kullanmıyor	21 (46.7)	14 (66.7)	
KOAH şiddeti			
Hafif	6 (13.3)	5 (23.8)	0.65
Orta	13 (28.9)	7 (33.3)	
Şiddetli	18 (40)	6 (28.6)	
Çok şiddetli	8 (17.8)	3 (14.3)	
Atak şiddeti*			
I + II	23 (51.1)	-	-
III + IV	22 (48.9)		
SFT (spirometri)			
FVC (% beklenen)	65.9 ± 8.6	67.3 ± 24.6	0.82
FEV ₁ (% beklenen)	43.4 ± 11.2	55.6 ± 21.6	0.04
FEV ₁ /FVC (%)	50.6 ± 12.1	57.1 ± 9.5	0.06
Vücut ısı yüksekliği (> 38°C)			
Var	21 (46.7)	5 (23.8)	0.13
Yok	24 (53.3)	16 (76.2)	
Beyaz küre (/mm ³)	10712 ± 2756	8442 ± 1353	0.02
Nötrofil (/mm ³)	8465 ± 2433	5600 ± 1603	< 0.01
Lenfosit (/mm ³)	1348 ± 568	2233 ± 603	< 0.01
hMPV-RNA			
Negatif	31 (68.9)	15 (71.4)	0.83
Pozitif	14 (31.1)	6 (28.6)	

Kategorik değişkenler sayı ve yüzde, sürekli değişkenler Ortalama ± Standart sapma olarak verilmiştir.

* I: Evde tedavi olabilecek atak; II: Hastanede tedavi edilmesi gereken (yoğun bakım veya mekanik ventilasyon gerektirmeyen) atak; III: Yoğun bakımda tedavi edilmesi gereken atak; IV: Mekanik ventilasyon gerektiren atak.

lunmuştur ($p= 0.70$). Vücut ısı yüksek olanların oranı atakta astım grubunda daha fazladır ($p< 0.01$). hMPV pozitifliği atakta astım grubunda daha yüksek (%36.4'e karşılık %25) olmasına rağmen fark anlamlı bulunmamıştır ($p= 0.53$). Diğer demografik ve klinik özellikler yönünden görülen farklılıklar da istatistiksel olarak anlamlı değildir (Tablo III).

KOAH ve astım ataklı hastalar ile stabil KOAH ve kontrolde astım hastaları toplam olarak karşılaştırıldığında; ataklı grupta hMPV saptama oranı yüksek (%33.3'e karşılık %26.7) bulunmuş, ancak bu yüksekliğin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı izlenmiştir (Tablo IV). Benzer olarak, KOAH ataklı hastalar ile astım ataklı hastalar arasındaki fark (sırasıyla %31.1 ve %36.4) ile stabil KOAH ve kontrolde astım hastaları arasındaki fark (sırasıyla %28.6 ve %25) da anlamlı bulunmamıştır. Tüm KOAH hastaları ve tüm astım hastalarında hMPV saptama oranı birbirine yakın oranlarda (%30.3 ve %31.6) bulunmuştur (Tablo IV).

Yoğun bakım ve mekanik ventilasyon (MV) gerektiren atağı olan KOAH'lı hastalarda hMPV pozitifliği %36.4 oranında saptanırken, evde ve hastanede (yoğun bakım ve MV gerektirmeden) tedavi olabilecek KOAH ataklı hastalarda bu oran %26.1 olarak tespit edilmiştir ($p= 0.67$). Orta ve ağır atağı olan astımlılarda hMPV saptanma oranı (%45), hafif atağı olanlara (%23.1) göre yüksek bulunmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiş ($p= 0.28$); bu durumun örnek sayısının az olmasından ($n= 33$) kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Hem KOAH hem de astım hasta grubunda hMPV pozitif ve negatif hastalar arasında demografik ve klinik özellikler yönünden bulunan farklılıklar, astımlı hastalardaki hastalık şiddeti hariç, istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildir (Tablo V ve VI).

RT-PCR ile hMPV pozitif olarak belirlenen bir hasta örneği ile dört referans NCBI hMPV dizisinin filogenetik karşılaştırması sonunda, hMPV PCR pozitif olarak belirlenen ürüne ait dizinin, NCBI referans dizileri içinde gruplandığını göstermiştir (Şekil 2).

TARTIŞMA

İnsan metapnömovirusunun 2001 yılında Hollanda'da ilk defa bildirilmesinden sonra, solunum yolu enfeksiyonlarının önemli bir patojeni olarak dünya çapında bir dağılıma sahip olduğu ortaya konmuştur^{2,14}. Solunum yolu enfeksiyonu olan çocuklarda hMPV saptanma oranı %2-25, erişkinlerde ise %2-15 arasında değişmektedir^{4,6,15-18}. Buna karşın seroprevalans yaş ilerledikçe yükselmektedir^{2,3}. hMPV enfeksiyonu mevsimsel dağılım göstermekte olup, Aralık-Şubat ve Nisan-Mayıs döneminde daha sık rastlanmaktadır^{14,19,20}.

İnsan metapnömovirusunun KOAH'lı hastalarda atak nedeni olabileceği ile ilgili ilk bilgiyi Vicente ve arkadaşları⁷ ortaya atmıştır. Bu araştırmacılar KOAH'lı 89 hastanın 90 atağında aldıkları 90 balgam örneğinin %5.5'inde RT-PCR ile hMPV saptamışlardır⁷. Rohde ve arkadaşları⁸ ise, 130 KOAH atağı, 65 stabil KOAH ve KOAH'ı olmayan 34 sigara içici kişinin burun lavaj sıvısı ve indükte balgamında RT-PCR ile hMPV araştırmışlar; sadece

Tablo III. Astımlı Hastaların Klinik ve Demografik Özellikleri

Özellik	Astım atak grubu (n= 33)	Kontrolde astım grubu (n= 24)	p değeri
Yaş (yıl)	49.0 ± 13.7	47.3 ± 9.3	0.60
Cinsiyet			
Kadın	26 (78.8)	22 (91.7)	0.28
Erkek	7 (21.2)	2 (8.3)	
Özgeçmişte hastalık öyküsü			
Var	10 (30.3)	10 (41.7)	0.54
Yok	23 (69.7)	14 (58.3)	
Sigara			
İçmemiş	19 (57.6)	15 (62.5)	0.61
Bırakmış	9 (27.3)	4 (16.7)	
Halen içiyor	5 (15.2)	5 (20.8)	
Alerji			
Var	7 (21.2)	7 (29.2)	0.71
Yok	26 (78.8)	17 (70.8)	
İnhale steroid			
Kullanıyor	25 (75.8)	20 (83.3)	0.72
Kullanmıyor	8 (24.2)	4 (16.7)	
Astım şiddeti			
İntermitan	3 (9.1)	5 (20.8)	0.061
Hafif persistan	15 (45.5)	15 (62.5)	
Orta + şiddetli persistan	15 (45.5)	4 (16.7)	
Atak şiddeti			
Hafif	13 (39.4)	-	-
Orta + şiddetli	20 (60.6)		
SFT (spirometri)			
FVC (% beklenen)	78.0 ± 16.0	100.1 ± 19.0	< 0.01
FEV ₁ (% beklenen)	66.1 ± 20.7	84.7 ± 15.5	0.01
FEV ₁ /FVC (%)	70.9 ± 13.5	72.1 ± 6.0	0.70
Vücut ısı yüksekliği (> 38°C)			
Var	17 (51.5)	2 (8.3)	< 0.01
Yok	16 (48.5)	22 (91.7)	
Beyaz küre (/mm ³)	8195 ± 3952	7212 ± 1499	0.47
Nötrofil (/mm ³)	5097 ± 4023	4064 ± 1536	0.45
Lenfosit (/mm ³)	2154 ± 782	2529 ± 868	0.31
hMPV-RNA			
Negatif	21 (63.6)	18 (75.0)	0.53
Pozitif	12 (36.4)	6 (25.0)	

Kategorik değişkenler sayı ve yüzde, sürekli değişkenler Ortalama ± Standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo IV. Hasta Gruplarında hMPV-RNA Pozitifliği

Hasta grupları (Sayı)	hMPV-RNA pozitifliği, Sayı (%)	p değeri
KOAH atak + Astım atak (78)	26 (33.3)	0.57
Stabil KOAH + Kontrolde astım (45)	12 (26.7)	
KOAH atak (45)	14 (31.1)	0.81
Astım atak (33)	12 (36.4)	
Stabil KOAH (21)	6 (28.6)	1.00
Kontrolde astım (24)	6 (25)	
Tüm KOAH (66)	20 (30.3)	1.00
Tüm astım (57)	18 (31.6)	

KOAH atağı olanların 3 (%2.3)'ünde pozitiflik tespit etmişlerdir. Kanada'da yapılan bir çalışmada, KOAH atağı ile hastaneye yatırılan olguların %6.25'inde (4/64) RT-PCR ile hMPV varlığı saptanmış; pozitif hastalardan ikisinin aynı zamanda pnömonisinin olduğu vurgulanmıştır²¹. ABD, İrlanda ve İsviçre'de yapılan çalışmalarda da, KOAH atağı olan hastalarda hMPV saptanma oranları sırasıyla; %12 (6/50)²², %1.5 (2/136)²³ ve %9.7 (7/72)²⁴ olarak bildirilmektedir. Stabil KOAH hastalarının araştırıldığı, ulaşılabilen iki çalışmada ise, bu hastalarda hMPV'ye rastlanmadığı ifade edilmektedir^{8,23}. Bizim çalışmamızda, gerek stabil KOAH hastalarında (%28.6), gerekse KOAH atağı olanlarda (%31.1) saptanan hMPV pozitiflik oranlarının, bu çalışmaların verilerine göre yüksek olduğu izlenmektedir.

Astımlı hastaların ataklarında hMPV'nin rolü olduğuna dair ilk veri 2002 yılında Jartti ve arkadaşları²⁵ tarafından bildirilmiştir. Bu araştırmacılar, akut "wheezing" şikayeti ile başvuran 132 çocuğun (25'i bronşit, 59'u "wheezy" bronşit, 48'i akut astım) 10 (%8)'unda hMPV varlığını göstermişlerdir²⁵. Yine astım ve/veya "wheezing"li çocuklarda yapılan diğer çalışmalarda, %4.6-16.6 oranları arasında hMPV varlığı gösterilmiştir²⁶⁻²⁹. Erişkin astım atağında hMPV'nin araştırıldığı tek çalışma ise Williams ve arkadaşları⁹ tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, astım atağı nedeniyle hastaneye yatırılan 101 hastanın 7 (%6.9)'sinde, hastaneye yatışta alınan nazofarengeal yıkıntı örneğinde RT-PCR ile hMPV saptanmış; bu hastalardan üç ay sonra alınan örnekler negatif bulunmuş ve hMPV'nin astım ataklarında etiyolojik rol oynadığı ileri sürülmüştür⁹. Bizim çalışmamızda, astımı kontrol altında olan hastaların %25'inde, astım atağı olan hastaların ise %36.4'ünde hMPV varlığı tespit edilmiş ve bu oranların diğer çalışmaların verilerinden yüksek olduğu gözlenmiştir.

Bizim çalışmamız, yukarıda tartışılan KOAH ve astım hastalarını içeren çalışmalara göre daha kapsamlı olup, farklı grupları içermektedir. Çalışmamıza hem KOAH, hem de astım hastaları dahil edilmiş, bunların da atakta ve stabil durumda olanları ayrı ayrı değerlendirilmiştir (Tablo IV). Genel anlamda irdelendiğinde, KOAH ve astımlı hastalarda hMPV pozitiflik oranları sırasıyla %30.3 ve %31.6 olarak saptanmış ve bu oranlar yukarıda tartışılan çalışmalardan oldukça yüksek bulunmuştur. Sonuçlarımızın yüksekliği,

Tablo V. KOAH'lı Hastaların hMPV Pozitifliğine Göre Demografik ve Klinik Özellikleri

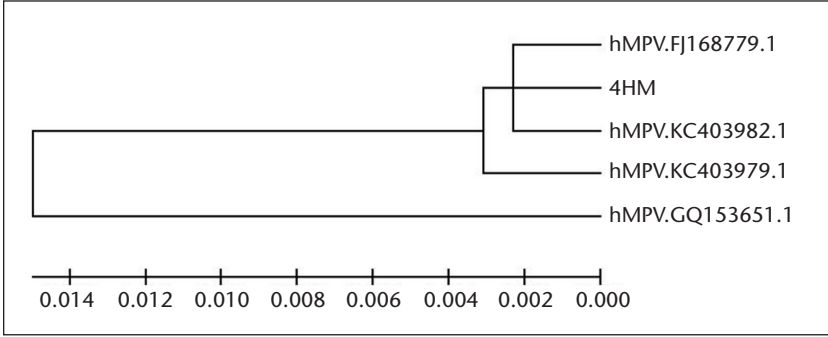
Özellik	hMPV		p değeri
	Negatif (n= 46; %69.7)	Pozitif (n= 20; %30.3)	
Yaş (yıl)	64.9 ± 9.0	64.6 ± 8.4	0.91
Cinsiyet			
Kadın	6 (85.7)	1 (14.3)	0.31
Erkek	40 (67.8)	19 (32.2)	
Özgeçmişte hastalık öyküsü			
Var	22 (81.5)	5 (18.5)	0.14
Yok	24 (61.5)	15 (38.5)	
Sigara			
İçmemiş	2 (66.7)	1 (33.3)	0.61
Bırakmış	32 (66.7)	16 (33.3)	
Halen içiyor	12 (80)	3 (20)	
Alerji			
Var	8 (66.7)	4 (33.3)	0.81
Yok	38 (70.4)	16 (29.6)	
İnhale steroid			
Kullanıyor	20 (64.5)	11 (35.5)	0.55
Kullanmıyor	26 (74.3)	9 (25.7)	
KOAH şiddeti			
Hafif	8 (72.7)	3 (27.3)	0.48
Orta	13 (65)	7 (35)	
Şiddetli	19 (79.2)	5 (20.8)	
Çok şiddetli	6 (54.5)	5 (45.5)	
Klinik durum			
Atak	31 (68.9)	14 (31.1)	0.83
Stabil	15 (71.4)	6 (28.6)	
Atak şiddeti*			
I + II	17 (73.9)	6 (26.1)	0.67
III + IV	14 (63.6)	8 (36.4)	
SFT (spirometri)			
FVC (% beklenen)	66.1 ± 18.2	67.3 ± 14.6	0.83
FEV ₁ (% beklenen)	49.1 ± 18.2	47.4 ± 15.7	0.77
FEV ₁ /FVC (%)	53.1 ± 12.2	54.1 ± 10.1	0.93
Vücut ısı yüksekliği (> 38°C)			
Var	16 (61.5)	10 (38.5)	0.37
Yok	30 (75)	10 (25)	
Beyaz küre (/mm ³)	10345 ± 2812	10786 ± 3955	0.69
Nötrofil (/mm ³)	8051 ± 2664	7436 ± 2331	0.48
Lenfosit (/mm ³)	1499 ± 646	1554 ± 738	0.81

Kategorik değişkenler sayı ve yüzde, sürekli değişkenler Ortalama ± Standart sapma olarak verilmiştir.

* I: Evde tedavi olabilecek atak; II: Hastanede tedavi edilmesi gereken (yoğun bakım veya mekanik ventilasyon gerektirmeyen) atak; III: Yoğun bakımda tedavi edilmesi gereken atak; IV: Mekanik ventilasyon gerektiren atak.

Tablo VI. Astımlı Hastaların hMPV Pozitifliğine Göre Demografik ve Klinik Özellikleri

Özellik	hMPV		p değeri
	Negatif (n= 39; %68.4)	Pozitif (n= 18; %31.6)	
Yaş (yıl)	49.4 ± 12.7	45.8 ± 10.3	0.31
Cinsiyet			
Kadın	35 (72.9)	13 (27.1)	0.12
Erkek	4 (44.4)	13 (55.6)	
Özgeçmişte hastalık öyküsü			
Var	15 (75)	5 (25)	0.63
Yok	24 (64.9)	13 (35.1)	
Sigara			
İçmemiş	26 (76.5)	8 (23.5)	0.24
Bırakmış	8 (61.5)	5 (38.5)	
Halen içiyor	5 (50)	5 (50)	
Alerji			
Var	9 (64.3)	5 (35.7)	0.75
Yok	30 (69.8)	13 (30.2)	
İnhale steroid			
Kullanıyor	33 (73.3)	12 (26.7)	0.17
Kullanmıyor	6 (50)	6 (50)	
Astım şiddeti			
İntermitan	3 (37.5)	5 (62.5)	0.02
Hafif persistan	25 (83.3)	5 (16.7)	
Orta + şiddetli persistan	11 (57.9)	8 (42.1)	
Klinik durum			
Atak	21 (63.6)	12 (36.4)	0.53
Stabil	18 (75)	6 (25)	
Atak şiddeti			
Hafif	10 (76.9)	3 (23.1)	0.28
Orta + şiddetli	11 (55)	9 (45)	
SFT (spirometri)			
FVC (% beklenen)	88.6 ± 20.0	87.7 ± 22.6	0.89
FEV ₁ (% beklenen)	73.2 ± 18.8	79.2 ± 24.5	0.38
FEV ₁ /FVC (%)	70.1 ± 8.1	75.0 ± 15.2	0.29
Vücut ısı yüksekliği (> 38°C)			
Var	10 (52.6)	9 (47.4)	0.13
Yok	29 (76.3)	9 (23.7)	
Beyaz küre (/mm ³)	7929 ± 3547	7312 ± 1421	0.69
Nötrofil (/mm ³)	4776 ± 3530	4286 ± 2046	0.75
Lenfosit (/mm ³)	2289 ± 830	2396 ± 879	0.81
Kategorik değişkenler sayı ve yüzde, sürekli değişkenler Ortalama ± Standart sapma olarak verilmiştir.			



Şekil 2. Çalışmaya ait bir örnek (4HM) ve dört NCBI veri tabanı hMPV dizisine ait “Neighbor-Joining” karşılaştırma yöntemi ile oluşturulmuş filogenetik ağaç.

mevsimsel, coğrafik ve etnik faktörler gibi çeşitli nedenlere bağlı olabilir. Örneğin, olguların çoğu kış mevsiminde başvurmuşlardır ki, kış aylarında hMPV enfeksiyonunun pik yaptığı bilinmektedir^{4,14,19,20}. Ayrıca hMPV prevalansı ülkeler ve bölgeler arasında da farklılık gösterebilir^{1,2,14}. Örneğin; Japonya’da yapılan bir çalışmada hMPV seropozitifliği, genel popülasyonda (1 ay-35 yaş) %72.5, 20 yaş üstü popülasyonda ise %100 olarak bildirilmiş³⁰, Çin’de yapılan bir çalışmada ise, 15 yaş altındaki çocuklarda kış aylarındaki akut solunum sistemi enfeksiyonlarında hMPV prevalansı %84.4 olarak bulunmuştur³¹. Ülkemizde yapılan çalışmalarda, alt solunum yolu enfeksiyonu olan çocuklarda hMPV saptanma oranı İstanbul’dan³² %13, İzmir’den³³ %11 olarak rapor edilmekte iken, Mersin’de yapılan bir çalışmada, yaşları 1-60 ay arası olan hışılıtlı 77 çocuk hastada %59.7 oranında hMPV pozitifliği bildirilmiştir¹³. Bu veriler, Mersin ilinde hMPV prevalansının oldukça yüksek olduğunu düşündürmektedir. Dolayısıyla yine Mersin’de gerçekleştirdiğimiz bu çalışmada, KOAH ve astımlı olgularda elde edilen yüksek oranlar bu durum ile ilişkili olabilir.

Çalışmamızda hMPV varlığı, KOAH ve astım atağı olan hastalarda (%33.3), stabil veya kontrolde olan hastalara (%26.7) göre, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamakla birlikte, daha yüksek oranda saptanmıştır. Ayrıca şiddetli ataklarda hMPV pozitiflik oranı, hafif ataklara göre daha yüksek saptanmış (KOAH için %36.4’e karşı %26.1; astım için %45’e karşı %23.1), ancak bu farklılık da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ancak bu konular ile ilgili olarak literatürde herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır. Sonuç olarak, insan metapnömoviruslarının KOAH ve astım ataklarında ve atak şiddetinde rolü olabileceği düşünülmekle birlikte, bu durumun aydınlatılması için daha geniş olgu sayıları ile yapılacak çok merkezli ileri çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Broor S, Bharaj P, Chahar HS. Human metapneumovirus: a new respiratory pathogen. *J Biosci* 2008; 33(4): 483-93.
2. Feuillet F, Lina B, Rosa-Calatrava M, Boivin G. Ten years of human metapneumovirus research. *J Clin Virol* 2012; 53(2): 97-105.
3. Falsey AR. Human metapneumovirus infection in adults. *Pediatr Infect Dis J* 2008; 27(10 Suppl): S80-3.
4. Kroll JL, Weinberg A. Human metapneumovirus. *Semin Respir Crit Care Med* 2011; 32(4): 447-53.
5. Jartti L, Langen H, Söderlund-Venermo M, Vuorinen T, Ruuskanen O, Jartti T. New respiratory viruses and the elderly. *Open Respir Med J* 2011; 5: 61-9.
6. Haas LE, Thijsen SF, van Elden L, Heemstra KA. Human metapneumovirus in adults. *Viruses* 2013; 5(1): 87-110.
7. Vicente D, Montes M, Cilla G, Perez-Trallero E. Human metapneumovirus and chronic obstructive pulmonary disease. *Emerg Infect Dis* 2004; 10(7): 1338-9.
8. Rohde G, Borg I, Arinir U, et al. Relevance of human metapneumovirus in exacerbations of COPD. *Respir Res* 2005; 6: 150.
9. Williams JV, Crowe JE Jr, Enriquez R, et al. Human metapneumovirus infection plays an etiologic role in acute asthma exacerbations requiring hospitalization in adults. *J Infect Dis* 2005; 192(7): 1149-53.
10. Lopez MA, Kuszniarz GF, Imaz MS, Cociglio R, Tedeschi FA, Zalazar FE. Human metapneumovirus (hMPV) associated to severe bronchial asthmatic crisis. *Rev Argent Microbiol* 2006; 38(3):140-2.
11. Papadopoulos NG, Christodoulou I, Rohde G, et al. Viruses and bacteria in acute asthma exacerbations--a GA² LEN-DARE systematic review. *Allergy* 2011; 66(4): 458-68.
12. Chomczynske P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Analytical Biochem* 1987; 162(1): 156-9.
13. Topçuoğlu S, Arslanköylü AE, Kuyucu S, Kuyucu N. Hışılıtlı çocuklarda respiratuar sinsisyal virüs, parainfluenza virüs, influenza virüs ve insan metapnömovirüs sıklığının araştırılması. *Çocuk Enfeksiyon Derg* 2009; 3(4): 153-60.
14. Kahn JS. Epidemiology of human metapneumovirus. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19(3): 546-57.
15. Kahn JS. Human metapneumovirus: a newly emerging respiratory pathogen. *Curr Opin Infect Dis* 2003; 16(3): 255-8.
16. Williams JV, Harris PA, Tollefson SJ, et al. Human metapneumovirus and lower respiratory tract disease in otherwise healthy infants and children. *N Engl J Med* 2004; 350(5): 443-50.
17. Foulongne V, Guyon G, Rodière M, Segondy M. Human metapneumovirus infection in young children hospitalized with respiratory tract disease. *Pediatr Infect Dis J* 2006; 25(4): 354-9.
18. Mammias IN, Koutsaftiki C, Nika E, et al. Detection of human metapneumovirus in infants with acute respiratory tract infection. *Mol Med Report* 2011; 4(2): 267-71.
19. Aberle SW, Aberle JH, Sandhofer MJ, Pracher E, Popow-Kraupp T. Biennial spring activity of human metapneumovirus in Austria. *Pediatr Infect Dis J* 2008; 27(12): 1065-8.
20. Aberle JH, Aberle SW, Redlberger-Fritz M, Sandhofer MJ, Popow-Kraupp T. Human metapneumovirus subgroup changes and seasonality during epidemics. *Pediatr Infect Dis J* 2010; 29(11): 1016-8.
21. Hamelin ME, Côté S, Laforge J, et al. Human metapneumovirus infection in adults with community-acquired pneumonia and exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Infect Dis* 2005; 41(4): 498-502.
22. Martinello RA, Esper F, Weibel C, Ferguson D, Landry ML, Kahn JS. Human metapneumovirus and exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *J Infect* 2006; 53(4): 248-54.
23. McManus TE, Marley AM, Baxter N, et al. Respiratory viral infection in exacerbations of COPD. *Respir Med* 2008; 102(11): 1575-80.
24. Kherad O, Kaiser L, Bridevaux PO, et al. Upper-respiratory viral infection, biomarkers, and COPD exacerbations. *Chest* 2010; 138(4): 896-904.

25. Jartti T, van den Hoogen B, Garofalo RP, Osterhaus AD, Ruuskanen O. Metapneumovirus and acute wheezing in children. *Lancet* 2002; 360(9343): 1393-4.
26. Williams JV, Tollefson SJ, Heymann PW, Carper HT, Patrie J, Crowe JE. Human metapneumovirus infection in children hospitalized for wheezing. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115(6): 1311-2.
27. Chung JY, Han TH, Kim SW, Kim CK, Hwang ES. Detection of viruses identified recently in children with acute wheezing. *J Med Virol* 2007; 79(8): 1238-43.
28. Khetsuriani N, Kazerouni NN, Erdman DD, et al. Prevalence of viral respiratory tract infections in children with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119(2): 314-21.
29. Moattari A, Aleyasin S, Arabpour M, Sadeghi S. Prevalence of human metapneumovirus (hMPV) in children with wheezing in Shiraz-Iran. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2010; 9(4): 250-4.
30. Ebihara T, Endo R, Kikuta H, et al. Seroprevalence of human metapneumovirus in Japan. *J Med Virol* 2003; 70(2): 281-3.
31. Xiao NG, Xie ZP, Zhang B, et al. Prevalence and clinical and molecular characterization of human metapneumovirus in children with acute respiratory infection in China. *Pediatr Infect Dis J* 2010; 29(2): 131-4.
32. Hatipoğlu N, Somer A, Badur S, et al. Viral etiology in hospitalized children with acute lower respiratory tract infection. *Türk J Pediatr* 2011; 53(5): 508-16.
33. Aksoy Gökmen A, Çiçek C, Saz EU, Ozananar Y, Duyu M. Detection of human metapneumovirus prevalence in pediatric patients with lower respiratory tract infections. *Mikrobiyol Bul* 2012; 46(4): 614-23.