

Yeni bulunan eski solunum virüsü: Human metapneumovirus Newly discovered old respiratory virus: Human metapneumovirus

Aksoy Gökmen A¹ Çiçek C²

¹İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, İzmir, Türkiye

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Özet

Paramyxoviridae ailesinde yer alan human metapneumovirus (hMPV) alt solunum yolu etkeni olarak ilk kez 2001 yılında tanımlanmıştır. Değişik ülkelerde yapılan çalışmalarda, virüsün özellikle pediatrik hastalarda etken olduğu ve alt solunum yolu enfeksiyonlarında %5-20 oranında saptandığı bildirilmiştir. Yapılan araştırmalarda hMPV'nin daha çok kış sonu ve ilkbahar döneminde enfeksiyona neden olduğu, ancak mevsimsel dağılımın kesin olarak bilinmediği, erkek çocukların kızlardan daha çok etkilendiği ve diğer solunum virüsleri ile birlikte koenfeksiyon yapabildiği bildirilmiştir. Günümüzde, hMPV enfeksiyonu tanısında direkt antijen testleri, hücre kültürü, moleküler yöntemler ve serolojik yöntemler kullanılmaktadır. Bu derlemede, pediatrik yaş grubunda RSV'ye çok benzeyen akut solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan, özellikle 2 yaşından küçük çocuklarda gelişen akut bronşiyolit tablosunda akla gelmesi gereken ve çoğunlukla alt solunum yolu enfeksiyonlarında viral etken olarak gözden kaçan hMPV'nin özelliklerini, yaygınlığını, tanı testlerini irdelemek ve bu virüs konusunda farkındalığı arttırmak amaçlanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Alt solunum yolu enfeksiyonu, yeni keşfedilen virüs, human metapneumovirus.

Summary

Human metapneumovirus (hMPV) belonging to the Paramyxoviridae family was described as a lower respiratory tract factor for the first time in 2001. Studies conducted in various countries reported that the virus, especially in pediatric patients, was determined in 5-20% of lower respiratory tract infections. In recent studies, it was revealed that hMPV mostly caused infection during the late winter and early spring period but seasonal distribution was not exactly known. Boys were affected more than the girls and it could cause coinfection with other respiratory viruses. Currently, direct antigen tests, cell culture, molecular and serological methods are used in diagnosis of hMPV infection. In this review, we aimed to address the features, prevalence and diagnostic tests of hMPV that cause acute respiratory tract infections similar to RSV in pediatric age groups, and suggest that it should be considered especially in children under two years of age in statements of acute bronchiolitis. It mostly should not be considered as viral factor in lower respiration infections. Our aim was also to increase awareness about this virus.

Key Words: Lower respiratory tract infections, a newly discovered virus, human metapneumovirus.

Giriş

Alt solunum yolu enfeksiyonları tüm dünyada enfeksiyon hastalıklarına bağlı mortalite ve morbiditenin en önemli nedenidir (1). Özellikle beş yaş altı çocuklarda en önemli ölüm nedenleri arasında yer almaktadır (2). Çocukluk çağında solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan etkenler sıklıkla virüslerdir. Akut solunum yolu enfeksiyonu klinik tablosu ile başvuran hastaların önemli bir kısmında etkenin saptanması zordur (3).

Günümüzde yetişkinlerde toplum kökenli pnömonilerin %50'sinin, pediatrik yaş grubunda ise bronşiyolit ve pnömonilerin %15-35'inin etkeni bilinmemektedir (4). Son yıllarda solunum yolu enfeksiyonu etkenlerinin saptanmasına yönelik çalışmalar yoğunlaşmış, influenza virüsleri, parainfluenza virüsleri, adenovirüs ve RSV gibi klasik solunum virüslerinin dışında hMPV gibi yeni viral etkenler de araştırılmaya başlanmıştır.

İlk kez 2001 yılında keşfedilen hMPV özellikle 10 yaş altı çocuklarda alt solunum yolu enfeksiyonlarında etken olarak soyutlanmaktadır. Değişik ülkelerde yapılan çeşitli çalışmalarda virüsün alt solunum yolu enfeksiyonlarında %5-20 oranında etken olduğu bildirilmiştir. Yapılan araştırmalarda hMPV'nin daha çok kış sonu ve ilkbahar döneminde enfeksiyona neden olduğu, mevsimsel

Yazışma Adresi: Ayşegül AKSOY GÖKMEN

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Makalenin Geliş Tarihi: 09.12.2013 Kabul Tarihi: 14.01.2014

dağılımın kesin olarak bilinmediği, erkek çocuklarının kızlardan daha çok etkilediği ve diğer solunum virüsleri ile birlikte koenfeksiyon yapabildiği bildirilmiştir (3,5). Günümüzde, hMPV enfeksiyonu tanısında direkt antijen testleri, hücre kültürü, moleküler yöntemler ve serolojik yöntemler kullanılmaktadır. hMPV için henüz antiviral tedavi bulunmamaktadır. Bu yüzden el yıkama temas izolasyonu gibi önlemler hastalığın yayılmasının önlenmesi için esas koruyucu önlemlerdir (6).

Bu derlemede, solunum yolu enfeksiyonlarına yol açan virüsler arasında bulunan, RSV'ye çok benzeyen klinik tablolara neden olduğu için, özellikle akut bronşiyolit tablosu ile gelen iki yaş altı çocuklarda RSV etken olarak saptanamadığında ilk akla gelmesi gereken solunum virüsü özelliğini taşıyan ve alt solunum yolu enfeksiyonlarında viral etken olarak gözden kaçan hMPV'nin özelliklerini, yaygınlığını ve tanı testlerini irdelemek amaçlanmıştır.

Tarihçe

2001 yılında Van den Hoogen ve ark., Hollanda'da solunum yolu enfeksiyonu olan çocuklarda yeni bir virüs keşfettiklerini ve bu etkeni 20 yıllık sürede 28 çocukta toplanan solunum sekresyonlarında saptadıklarını bildirmişlerdir. Hastaların çoğunda klinik bulguların RSV'nin neden olduğu solunum yolu enfeksiyonlarına benzerlik gösterdiği, bazılarında hafif üst solunum yolu enfeksiyonu bulguları, bazılarında ise mekanik ventilasyon gerektirecek düzeyde alt solunum yolu enfeksiyonu (bronşiyolit, pnömoni vb.) olduğunu gözlemlemişlerdir. Tanımlanamayan virüs izolatlarının tersiyer maymun hücrelerinde (tMK) yavaş, Vero hücrelerinde çok yavaş ve zayıf ürediğini, Madin Darby Canine Kidney (MDCK) ve tavuk embriyosu fibroblast (CEF) hücrelerinde ise hiç üremediğini saptamışlardır (7,8). Hollandalı araştırmacılar, belirli genetik sekansları gösteren "random arbitrarly primed PCR" (RAP-PCR) yöntemini kullanarak hMPV'yi tanımlamışlar, yeni saptanan virüse 2001 yılında hMPV adı verilmiştir (9-11). Daha sonra yapılan araştırmalarda, son 50 yılda çeşitli enfeksiyon hastalıkları nedeniyle stoklanan hasta serumlarında hMPV antikorları araştırılmıştır. hMPV'ye ilişkin ilk serolojik kanıt 1958 yılına ait Hollanda'daki bir hasta serumunda saptanmış ve ilerleyen çalışmalarla bu virüse karşı gelişen antikorların en az yarım yüzyıldır insanlarda bulunduğu gösterilmiştir. Bu bilgiler ışığında, hMPV'nin yeni ortaya çıkan bir virüs değil, yeni tanımlanmış bir virüs olduğu sonucuna varmışlardır (7-9,11).

Sınıflandırma

Paramiksovirusler, *Mononegavirales* takımında *Paramyxoviridae* ailesinde yer alan zarflı, tek iplikli, negatif kutuplu RNA virüsleridir. *Paramiksoviridae*;

Paramyxovirinae ve *Pneumovirinae* olmak üzere iki alt aileye ayrılır ve bu ailede bulunan virüsler hem insan hem de hayvanlarda enfeksiyon etkeni olarak soyutlanırlar. *Paramyxovirinae* alt ailesinde Avulavirüs, Respirovirüs, Rubulavirüs, Henipavirüs ve Morbillivirüs cinsleri, *Pneumovirinae* alt ailesinde ise Pnömovirüs ve Metapnömovirüs cinsleri bulunmaktadır (2,7). hMPV yapısal olmayan protein 1 ve 2 (NS1, NS2) gen kodlarının eksikliği ve RNA genomundaki farklı gen diziliminden dolayı Pnömovirüs cinsinin diğer üyelerinden ayırt edilmektedir. Avian pnömovirüs (APV) kuşlarda enfeksiyona neden olan bir etken olarak ilk kez 1970 yılında izole edilmiş ve A, B, C, D olmak üzere dört genetik gruba ayrılmıştır. hMPV 2001 yılında keşfedildikten sonra, APV'nin C genetik grubunun homolog diziniyle çok yakın dizi benzerliği olduğu saptanmış ve bu nedenle aynı cins üyeleri altında sınıflandırılmıştır. Ancak yapılan araştırmalarda, hMPV'nin hindi ve tavuklarda herhangi bir enfeksiyona neden olmadığı sadece insanlarda etken olduğu görülmüştür (7). Günümüzde, hMPV'nin bilinen iki genetik gruba (A ve B) ayrıldığı, A ve B genetik gruplarının ise A1, A2, B1, B2 alt grubu olduğu bilinmektedir. Virüsün genetik grupları, alt gruplarının sınıflandırılması halen gelişme aşamasındadır (4,9,10).

Human Metapneumovirus'ün Yapısı ve Replikasyon Özellikleri

Paramyxoviridae ailesindeki tüm virüsler gibi hMPV'de zarflı, pleomorfik şekilli, 150-300 nm boyutunda, helikal nükleokapside sahip, negatif kutuplu, tek zincirli, genomu segmentsiz RNA virüsüdür. hMPV elektron mikroskopunda RSV'ye benzer olarak pleomorfik, sferik ve filamentöz yapılar şeklinde görülmektedir. Sferik yapılar 13-17 nm büyüklüğünde dikensi çıkıntılar içeren zarf ile birlikte yaklaşık 150-600 nm çapındadır. Viral zarf glikoproteinleri bağlanma (G) proteini, füzyon (F) proteini, küçük hidrofobik (SH) protein ve matrix proteindir. G protein, F protein ve SH protein zarf üzerinde dikensi çıkıntılar oluşturur. Matrix proteini nükleokapsidi çevreleyerek nükleokapsid ile zarf arasında yer alır. Nükleokapsid viral RNA, nükleoprotein (N), fosfoprotein (P), transkripsiyonu güçlendiren (M2-1) protein ve büyük polimeraz (L) alt birimi olmak üzere dört nükleokapsid/polimeraz proteini ile ilişkilidir. hMPV'nin yapısında hemaglütininin olmadığı bilinmekle birlikte henüz diğer virion ile ilişkili özellikleri tanımlanmamıştır. Virüsün genomu, RSV genomundan yaklaşık iki kb daha kısadır ve NS1, NS2 genlerini içermez. Ayrıca SH, G, F ve M2 genleri arasında da dizilim farklılıkları vardır. Respiratory syncytial viruste sıralanış SH-GF-M2 iken, hMPV'de bu sıra F-M2-SH-G dizilimi şeklindedir ve hMPV'nin genler arası bölgesi RSV'den daha uzundur. Dizilim farkı olmasına rağmen iki virüs arasındaki nükleotid benzerliği yaklaşık %50 oranındadır ve iki

genom yakın yapısal ve fonksiyonel benzerlikler içermektedir. Viral genom 3'-leader-N-P-M-F-M2-SH-G-L-trailer-5' sırasında olup, toplam dokuz proteini kodlar (3-18).

hMPV'nin konakta kullandığı reseptörler, tutunma süreci ve replikasyonu ile ilgili kesin bir bilgiye henüz ulaşılamamıştır. Ancak replikasyon döngüsünün RSV'ye benzediği düşünülmektedir. Yapılan *in vitro* çalışmalarda, virüs G ve F proteinleri ile başta heparan sülfat ve kondroitin sülfat B olmak üzere hücrel glikozaminoglikanlara (GAG) bağlanır. Glikozaminoglikanlara ek olarak, *in vitro* ortamda çok sayıda hücrel proteinin de (intraselüler adezyon molekülü (ICAM), RhoA, CX3CR1 kemokin reseptörü, annexin II) rolü olduğu saptanmış, ayrıca epitel hücrelerinin salgıladığı yüzey proteinlerinin enfeksiyonu şiddetlendirdiği gözlenmiştir. Virüsün konağa girişi, viral kılıfın hücre plazma membranına füzyonu ile gerçekleşir. Tüm paramiksovirusler gibi hMPV de hücreden hücreye F proteini ile geçerek çok çekirdekli dev hücrelerin oluşmasına neden olur. Transkripsiyon, protein sentezi ve replikasyonun tüm aşamaları konak hücre sitoplazmasında gerçekleşir. RNA polimeraz nükleokapsidin bir bölümü olarak hücre içine taşınır. Genom mRNA'ya transkribe olur. Virüsün mRNA ve proteinleri ilk kez etkenin alınmasından sonra 4-6 saat içinde hücrelerde saptanabilir ve 14-18 saatte en yüksek düzeyine ulaşır (7,16-18).

Patogenez ve Bağışıklık

hMPV'nin patogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte RSV'ye benzediği düşünülmektedir. Üst ve alt solunum yollarını etkileyerek solunum yolu hastalıklarına sebep olduğu, fakat hangi hücre tipini enfekte ettiği henüz net olarak bilinmemektedir. Deneysel çalışmalarda, en çok siliyer epitel hücrelerini enfekte ettiği ve antijenlerin polarize epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde konsantre olduğu gösterilmekte ve antijenler solunum yolu epiteli boyunca saptanabilmektedir (3,11).

hMPV ile oluşan enfeksiyonlarda bağışık yanıtı inceleyen çalışmaların çoğunluğu yine fare modelleriyle sınırlıdır. İlk çalışmalarda hMPV enfeksiyonu ile hem humoral hem hücrel immün yanıtın ortaya çıktığı belirlenmiştir. Ancak hMPV ile reenfeksiyon görülen durumlarda hücrel ve humoral immünitinin rolü henüz bilinmemektedir. BALB/C farelerinde, hMPV'nin seropozitifliği enfeksiyondan sonraki beşinci günde belirlenebilmiştir. Altıncı günden sonra, ortalama Ig G seviyelerinin artmaya devam ettiği ve plato değerine ulaştığı gözlenmiştir. Virüse özgü Ig A ve Ig E ise belirlenmemektedir. İnsanlarda hMPV enfeksiyonlarına karşı antikor yanıtında bilgiler son derece sınırlıdır (8,13,17,18). Leung ve ark. (19), hMPV enfeksiyonundan sonra, beş aydan daha küçük çocuklarda F proteinine antikor yanıtının belirlenebileceğini gözlemle-

mişlerdir. Ayrıca, N proteinine karşı olan antikorlar da enfeksiyondan sonra belirlenebilmektedir. N proteinine karşı olan antikorların koruyucu olup olmadığı bilinmemektedir.

Epidemiyoloji

a) Bulaşma yolları

Enfekte olmuş insanların solunum yolu salgılarından çevreye yayılır. İnsanlar virüsün ek enfeksiyon kaynağı olup hayvan rezervuarı yoktur. Enfeksiyonun yayılması damlacık yoluyla veya kontamine olmuş cisimlerle gerçekleşebilir. İnkübasyon dönemi 3-5 gün arasında olup hastane kaynaklı bulaşma bildirilmiş, bulaşmanın olduğu kişiler arasında hastane personelinin de bulunduğu olgular saptanmıştır. Küçük partiküllü aerosoller enfeksiyon yayılımında rol alsa da, asıl yayılma ve bulaşma kontamine ellerin burun ve konjunktival mukozaya teması ile gerçekleşir (6).

b) Dünyada ve Türkiye'de hMPV enfeksiyonları sıklığı

hMPV'nin 2001 yılında Hollanda'da keşfedilmesinden sonra birçok ülkede alt solunum yolu enfeksiyonu olan çocuklarda hMPV ile ilgili araştırmalar yapılmıştır. Bu güne kadar yapılan araştırmalara göre dünyada hMPV enfeksiyonunun insidansı %1,5 ile %25 arasında değişmektedir. Retrospektif çalışmalarda, prospektif çalışmalara göre daha yüksek hMPV oranları bildirmiştir (20). Ülkemizde Hatipoğlu ve ark. (21), akut alt solunum yolu enfeksiyonu (ASYE) tanısı alan, hastanede yatan 147 hastada hMPV prevalansını %13 olarak bildirmişlerdir. Altındaş ve ark.'nın (22) ise bronşit ve bronşiyolit ön tanılı hastalarda hMPV prevalansını %10,8, Gökmen ve ark.'nın (23) yaptığı çalışmada ise %11 olarak bulunmuştur.

c) Yaş

Bonroy ve ark. (24) 778 akut solunum yolu enfeksiyonu olan çocukta yaptığı bir araştırmada, hMPV pozitif olan çocukların yaş ortalaması 17 ay, RSV pozitif olan çocukların yaş ortalaması 12 ay olarak bulunmuş-tur. Yapılan diğer araştırmalarda da hMPV'ye bağlı enfeksiyonların RSV'ye göre daha büyük çocuklarda görüldüğü saptanmıştır (2,13). Günümüzde yapılan bazı seroprevalans çalışmalarında, hMPV enfeksiyonunun 10 yaş altındaki çocuklarda diğer yaş gruplarına göre daha sık görüldüğü, özellikle beş yaş altı çocuklarda sık olmakla birlikte en sık görüldüğü yaş aralığının 6 ay-2 yaş arasında olduğu bildirilmiştir. Benzer çalışmalar, iki yaş üstündeki çocuklarda saptanan antikor titrelerinin, 0-2 yaş aralığındaki çocuklara göre daha yüksek bulunduğu göstermiştir. Antikor titrelerinin iki yaşından büyük çocuklarda daha yüksek olmasını, reenfeksiyonlara bağlamışlardır. On yaş ve üzerindeki tüm çocuklarda ise seropozitiflik saptanmaktadır (2,13).

Hastaneye yatırılan çocuklarda, beyaz ırk siyah ırka, erkeklerin kızlara göre daha çok hMPV ile enfekte olduğu gösterilmiştir (7,13).

d) Mevsimsellik

Her solunum yolu virüsü gibi hMPV'nin de mevsimsel sıklığı değişmektedir. Kuzey Amerika ve Avrupa gibi ılıman iklimlerde kış ve ilkbahar aylarında daha sık rastlanır (25). İlk çalışmalarda hMPV'nin, Hollanda'da sadece kış aylarında pik yaptığı görülmüştür (5). Aralık-Şubat ayları arasında Hong Kong'da yapılan bir araştırmada hMPV'nin ilkbahar-kış aylarında pik yaptığı görülmüştür (26). Kuzey Amerika'da yapılan bir araştırmada Ekim ayından Mayıs ayına kadar hMPV izole edildiği bildirilmiştir (27). Ayrıca RSV'nin en sık görüldüğü ayların hemen ardından Mart-Nisan aylarında en sık tespit edildiği bildirilmiştir (25). Ancak, yapılan araştırmaların çoğu kış aylarında olduğu için henüz virüsün mevsimsel dağılımı tam olarak bilinmemektedir (5).

e) Risk Faktörleri

hMPV ile yapılan çalışmalar genelde retrospektif ve az sayıdaki olguyu kapsamasına rağmen özellikle prematürlerde, konjenital kalp hastalığı, akciğer hastalığı ve bağışık yetmezliği olan hastalarda enfeksiyonun daha ağır seyrettiği gözlenmiştir (3,10).

f) Bağışık Durum

Bağışık yetmezlikli hastalarda, hMPV'nin etken olarak soyutlandığı enfeksiyonlar ciddi seyredebilir. Akciğer transplantasyonu yapılmış 25 hastanın dokuzunda bir yıllık gözlem taramasında hastalarda en az bir defa hMPV pozitifliği saptanmış ve ölümler bildirilmiştir (2).

Hematolojik kök hücre nakli yapılan bir hastada ölümcül alt solunum yolu enfeksiyonu ile hMPV ilişkisi rapor edilmiştir (3).

g) Ko-enfeksiyon

hMPV; RSV, influenza ve parainfluenza virüsleri gibi diğer solunum yolu virüsleri ile birlikte ikili veya üçlü etkenin soyutlandığı enfeksiyonlara neden olabilir (7). Çoklu etken enfeksiyonlarında hMPV'nin saptanma oranı %1-3 kadardır. Greensil ve ark. (28) pediatrik yoğun bakım ünitesinde solunum desteğine bağlı bebeklerin %70'inde hMPV saptamış ve alt solunum yolu enfeksiyonlarının RSV'nin koenfeksiyonu ile tek etken ile oluşan enfeksiyonlardan çok daha ağır seyrettiğini bildirmişlerdir.

Klinik

hMPV, tüm yaşlarda üst ve alt solunum yolu enfeksiyonuna neden olur. Hafif üst solunum yolu bulgularına neden olabildiği gibi, bronşiyolit ve pnömoni gibi ağır klinik tablolara da yol açabilir (8). Enfeksiyon bazı hastalarda hastanede yatış, hatta mekanik ventilasyon

gerektirmekte ve mortaliteye neden olabilmektedir (6). Enfeksiyonların çocuklarda üst solunum yolu enfeksiyonlarının %5-10'u hMPV kaynaklı olup diğer solunum virüslerinin sebep olduğu üst solunum yolu enfeksiyonlarından daha azdır. Olguların yarısında otitis media komplikasyon olarak görülebilir. hMPV'nin neden olduğu alt solunum yolu enfeksiyonları sıklıkla hayatın ilk 6-20 ayı arasında görülür ve ağır seyreder. Alt solunum yolu enfeksiyonlarında hMPV yaklaşık %5-15 oranları arasında etken olarak soyutlanır (3,5,7,9). hMPV enfeksiyonunda en sık görülen yakınma ve bulgular; ateş, öksürük, solunum sıkıntısı, rinit/rinore, solunum seslerinde krepitasyon ve raller, nefes darlığı, farenjit, otitis media, konjunktivit ve ses kısıklığıdır. hMPV, febril konvülsiyona, döküntü, ishal ve karaciğer fonksiyon testlerinde bozulmaya neden olabilir. Virüsün neden olduğu enfeksiyonlarda başvuru tanıları en sık olarak bronşiyolit, pnömoni, daha sonra sırasıyla astım alevlenmesi, krup ve *otitis media*'dir (2,5-7). Akciğer grafisinde, bilateral pnömonik infiltrasyonlar ve hiperinflasyon bulguları olguların %39-84'ünde saptanır (5,7).

Yeni doğanlarda RSV enfeksiyonu nedeniyle hastaneye yatma oranları, gelişmiş ülkelerde değişmekte olup 1/100-1/200 arasındadır. Düşük sosyo-ekonomik durumdaki çocuklarda hastaneye yatma oranı daha yüksektir. hMPV ile oluşan enfeksiyonlarda bu oran henüz tam olarak bilinmemektedir. hMPV'nin yaşlılarda yaptığı enfeksiyonlar incelendiğinde, bir yıl içinde kardiyopulmoner bozukluk nedeniyle hastaneye yatan yetişkinlerde yapılan bir araştırmada, hastaların %11'inin hMPV ile enfekte olduğu bildirilmiştir (7,11).

Tanı

Direkt Tanı Yöntemleri

Mikroskopi

Virüs, klinik örnekler incelendiğinde elektron mikroskopunda görülebilir. Tek tabakalı kültürlerde hMPV ile enfekte hücreler ve hücrelerde oluşturduğu sitopatik etki, ışık mikroskobu ile kolaylıkla ayırt edilir. Ancak, çok sayıda hücre pasajını takiben etkenin sitopatik etkisi deneyimli personel tarafından ayırt edilebilir. Virüsün klinik örneklerde tanımlanmasında elektron ve ışık mikroskobu sık kullanılmaz (6).

Antijen Saptanması

DFA Testi

hMPV için direkt floresan antikor testi, ticari olarak mevcut olup ilk olarak *Light Diagnostics* (Chemicon International, Temecula, CA, USA) firması tarafından 2006 yılında üretilmiştir. DFA ile RT-PCR testi uygulanarak yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda DFA'nın duyarlılığı %85.4, özgüllüğü %99.4, pozitif prediktif değeri %97.6, negatif prediktif değeri %95.7 oranında bulunmuştur (29). Reverz transkriptaz polimeraz zincir

yöntemi daha çok referans laboratuvarlarda kullanılırken, daha küçük laboratuvarlarda DFA testi kullanılmaktadır. Yöntem, RT-PCR ve hücre kültürü yöntemine göre daha kısa sürede (2-4 saat) sonuçlandığı, daha ucuz olduğu ve daha az teknik eleman gerektirdiği için klinik viroloji laboratuvarlarında kullanımı yaygınlaşmaktadır (30). Günümüzde birçok viroloji laboratuvarında hızlı saptama yöntemi olarak kullanılmaktadır.

Hücre Kültürü

hMPV Vero ve A-549 hücrelerinde zayıf, MDCK ve MRC-5 hücrelerinde zor, LLC-MK2 ve HEp-2 hücrelerinde iyi ürer. Virüs, ilk olarak Hollanda'da tMK hücre dizisinde izole edilmiştir. Diğer hücre dizilerinin duyarlılıkları düşük olduğu için hMPV tanısında kullanılmamaktadır. Virüsün izolasyonu, hücre kültürü büyüme ve idame ortamlarına tripsinin eklenmesi ile kolaylaştırılır. Hücre dizilerinde, sitopatik etki ve virüsün hücre kültüründe izole edilmesinin duyarlılığı ve özgüllüğü kullanılan hücre dizisine göre değişmektedir (11).

Reverz transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu ile yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda;2029 hasta örneği hücre kültüründe 120 saat inkübe edilmiş LLC-MK2 duyarlılığı %100.0, HEp-2 %68.7, Vero %21.8, MDCK %3.1, MRC-5 %0 olarak saptanmıştır. İnkübasyon süresi 72 saate indirildiğinde duyarlılık hücre dizilerinde daha düşük bulunmuştur (31). Chan ve ark. (32) yaptığı hücre kültürü ve rRT-PCR testi karşılaştırmalı çalışmasında 48 hastadan alınan nazofarengeal sürüntü örneği LLC-MK2, HEp-2, MDCK, Vero, BGMK hücrelerine ekilmiş ve örneklerle eş zamanlı rRT-PCR testi uygulanmıştır. Realtime RT-PCR testi ile 25 hastada hMPV pozitif saptanırken, HEp-2 hücre dizisinde 22, LLC-MK2 hücre dizisinde altı, MDCK hücre dizisinde iki örnek pozitif saptanmıştır. En yüksek duyarlılık rRT-PCR yöntemi ile elde edilirken, hücre dizileri içinde en yüksek duyarlılık HEp-2 hücresinde gözlenmiştir (31). Hücre kültürü tekniklerinde, tüp yöntemi yanında *shell vial* hücre kültürü yöntemi de kullanılmaktadır. Bu yöntemin avantajı, etkenin hücre dizisinde sitopatik etkisini beklemeden, saptamada monoklonal antikor kullanarak erken dönemde hMPV'nin izole edilebilmesidir (7,32).

Nükleik Asit Testi

Geçmişte hızlı antijenik tanı yöntemlerinin olmaması ve virüsün hücre kültüründe yavaş üremesi nedeniyle hMPV tanısı yaklaşık 2-3 hafta sürmekteydi. Daha sonra hMPV tanısında daha hızlı, etkin ve duyarlı bir yöntem olan RT-PCR testi geliştirilmiştir ve altın standart test olarak kabul edilmektedir (7). Bugüne kadar moleküler yöntemlerde hMPV'nin N, P, F, M, L gibi birçok viral geni, gen amplifikasyonunda primer hedef olarak kullanılmıştır. RT-PCR'ın kullanıldığı ilk çalışmaların çoğunda hedef bölge primerleri L genini hedef almıştır. Daha sonra, N genini hedef alan rRT-PCR testleri kullanıldığında özgüllük ve duyarlılığın arttığı gözlen-

miştir (6,33). P genini hedef alan primerlerle yapılan bir çalışmada RT-PCR yöntemiyle hMPV subgrupları tanımlanmıştır. Ayrıca, günümüzde virüsün M genini hedef alan NASBA yöntemi deneme aşamasındadır (6, 7). Daha sonra yapılan çalışmalarda, testlerde genellikle hMPV'nin N genini hedef alan primer ve probler geliştirilmiştir (6, 7). Tanısal RT-PCR testi; pahalı, teknik açıdan zor ve sadece moleküler tanı yöntemleri olan laboratuvarlar tarafından uygulanabilmektedir. hMPV tanısında, RT-PCR testi duyarlılık, özgüllük ve uygulama süresi açısından viral kültürden daha üstün görünmektedir (7,34).

İndirekt Tanı Yöntemleri

Serolojik Yöntemler

hMPV'e karşı konakta özgül olarak oluşan serum antikorları immünofloresan yöntemlerle ve enzimli immünolojik testlerle (EIA) saptanabilir. Yapılan bir çalışmada, beş yaş altındaki çocukların tümü immünofloresan testle seropozitif olarak bulunmuştur (5). Ancak immünofloresan testler günümüzde henüz standardize edilmediği için rutin uygulamada kullanımı önerilmemektedir. Enzimli immün testlerde, viral antijen olarak virüsle enfekte hücre lizatları kullanılmaktadır. Serolojik yöntemlerde, hMPV için geliştirilmiş farklı EIA kitleri bulunmaktadır. Bu yöntem, immünofloresan yöntemle göre uygulanması ve standardizasyonu daha kolay olup, günümüzde çok sayıda örnek içeren serolojik araştırmalar için kullanılmaktadır (35). Leung ve ark. (19), EIA ile beş yaşın altındaki çocuklarda seropozitiflik oranını %65.0 olarak bulmuşlardır. Genel olarak serolojik yöntemlerin duyarlılığı %95.0 ve üzerinde, özgüllüğü %60.0-95.0 arasında değişmektedir. Özgüllük daha çok kullanılan kite ve hedef popülasyona göre değişiklikler göstermektedir (16).

Tedavi ve Korunma

hMPV enfeksiyonlarında, profilaksi ya da tedavide kullanılabilecek *Food and Drug Administration* (FDA) tarafından onay verilmiş herhangi bir ilaç bulunmamaktadır. Poliklonal intravenöz immünooglobulin ve ribavirin, RSV belirtilerini veya yeni doğanlarda RSV'nin sebep olduğu hastalıkların tedavisinde profilaktik olarak kullanım lisansı almıştır. Ayrıca, sülfatlanmış bir sialil lipidi olan NMSO₃, RSV'ye karşı potansiyel antiviral aktiviteye sahiptir ve hMPV'nin replikasyonunu *in vitro* olarak inhibe etmiştir. Henüz etkene karşı geliştirilmiş bir aşı mevcut değildir. Aşı geliştirilmesi için çok çeşitli stratejiler bulunmaktadır. Bunların etkileri ve güvenilirlikleri araştırılmaktadır (2,3,5).

Sonuç

Özellikle iki yaş altı çocuklarda virüslerin neden olduğu solunum yolu enfeksiyonlarında klasik solunum virüslerinin yanında yeni keşfedilen virüsler de etken

olarak soyutlanmaktadır. hMPV, aslında geçmiş yıllarda da enfeksiyonlara neden olan ancak yeni keşfedilmiş bir solunum virüsü olarak bir dekadını tamamlamış ve etkene yönelik çok sayıda tanı testleri geliştirilmiştir. Etken, hücre kültüründe en iyi maymun böbrek ve HEp-2 hücre dizilerinde izole edilebilmektedir. Ancak, "shell vial" hücre kültürü tekniği kullanılsa bile en iyi sonuçlar beş günlük inkübasyon süresi sonrasında alınabilmektedir. Bu yüzden, klinik viroloji pratiğinde RT-PCR testlerinin kullanılması daha akılcı görülmektedir. RT-

PCR tekniğinin uygulandığı testler etken ilk kez 2001 yılında saptandığında *in-house* olarak geliştirilmiş, daha sonra duyarlılık ve özgüllüğü daha yüksek olan *real-time* PCR tekniğine uygun kitler üretilmiştir. hMPV, klinik bulguları, enfeksiyona neden olduğu yaş grubu ve mevsimsel özellikleri ile solunum virüsleri içinde en fazla RSV'ye benzemektedir. Günümüzde hMPV, akut bronşiyolit ve pnömoni tanısı alan çocuklarda RSV izole edilmediği durumlarda ilk düşünülen patojen olarak viral etiyojide yerini almıştır.

Kaynaklar

1. World Health Organization: The world health report 2000-health systems. Improving performance, World Health Organization, Geneva, 2000.
2. Kahn JS. Epidemiology of human metapneumovirus. Clin Microbiol Rev 2006;19(3):546-47.
3. Devrim İ, Seçmeer G. Yeni tanımlanan solunum yolu virüsü insan metapnömovirüslerine bağlı enfeksiyonlar. Hacettepe Tıp Dergisi 2005; 36(2):163-7.
4. Hamelin ME, Abed Y, Boivin G. Human metapneumovirus: A new player among respiratory viruses. Clin Infect Dis 2004;38(7): 983-90.
5. Somer A. Solunum yolu viral enfeksiyonunda yenilikler. Ankem Derg 2006;20(3):234-9.
6. TangYi- Wei, Crowe JE, (Çeviri ed. Uyar Y). Respiratory syncytial virüs ve human metapneumovirus. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Jorgensen JH, Tenover FC, Tenover FC. 9. baskı. Ankara: Atlas Kitapçılık; 2009;1361-77.
7. Collins PL, Crowe JE. Paramyxoviridae: Respiratory syncytial virus and metapneumovirus. In: Knipe DM, Howley PM, (eds). Fields Virology, 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams &Wilkins; 2007;1602-46.
8. Van den Hoogen BG, de Jong JC, Groen J, et al. A newly discovered human metapneumovirus isolated from young children with respiratory Tract Disease. Nat Med 2001;7(6):719-72.
9. Njenga MK, Lwamba HM, Seal BS. Metapneumoviruses in birds and humans. Virus Res 2003;91(2):163-9.
10. Kahn JS. Human metapneumovirus: A newly emerging respiratory pathogen. Curr Opin Infect Dis 2003;16(3):255-8.
11. James E, Crowe JE. Human metapneumovirus as a major cause of human respiratory tract disease. Pediatr Inf Dis J 2004;23(11 Suppl):215-21.
12. Hamelin ME and Boivin G, MD. Human metapneumovirus a ubiquitous and long standing respiratory pathogen. Pediatr Inf Dis J 2005;24(11 Suppl):203-7.
13. Broor S, Bharaj P, Chahar HS. Human metapneumovirus: A new respiratory pathogen. J Biosci 2008;33(4):483-93.
14. Mejias A, Chavez-Bueno S, Ramilo O, et al. Human metapneumovirus: A not so new virus. Pediatr Inf Dis J 2004;23(1):1-10.
15. Defrasnes C, Hamelin ME, Boivin G. Human metapneumovirus. Semin Respir Crit Care Med 2007;28(2):213-21.
16. Papenburg J, Boivin G. Distinguishing features of human metapneumovirus and respiratory syncytial virus. Rev Med Virol 2010;20(4):245-60.
17. Liu L. Molecular biology of human metapneumovirus (hMPV). Doktora tezi; University of Manitoba Ottawa/Kanada, 2008.
18. Broor S, Bharaj P. Avian and human metapneumovirus. Ann N Y Acad Sci 2007;1102(1):66-85.
19. Leung J, Esper F, Weibel C, Kahn JS. Seroepidemiology of human metapneumovirus (hMPV) on the basis of a novel enzyme-linked immunosorbent assay utilizing HMPV fusion protein expressed in recombinant vesicular stomatitis virus. J Clin Microbiol 2005;43(5):1213-19.
20. Principi N, Bosis S, Esposito S. Human metapneumovirus in paediatric patients. Clin Microbiol Infect 2006;12(4):301-8
21. Hatipoğlu N, Somer A, Badur S, et al. Viral etiology in hospitalized children with acute lower respiratory tract infection. Turk J Pediatr 2011;53(5):508-16.
22. Altındağ M, Kandemir Ö, Kalaycı R ve ark. Metapnömovirüs ve diğer solunumsal virüslerin multiplex PCR ile tanısı. XIII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, 14-18 Mart 2007, Antalya.
23. Gökmen AA, Çiçek C, Saz EU, Özananar Y, Duyu M. Alt solunum yolu enfeksiyonu olan hastalarda insan metapnömovirus prevalansının saptanması. Mikrobiyol Bul 2012;46(4):614-23
24. Bonroy C, Vankeerberghen A, Boel A, De Beenhouwer H. Use of multiplex real-time PCR to study the incidence of human metapneumovirus and human respiratory syncytial virus infections during two winter seasons in a Belgian Paediatric Hospital. Clin Microbiol Infect 2007;13(5):504-9.
25. Parlakay AÖ, Kara A. Yeni solunum virüsleri. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi. 2010; 53(1):59-65.
26. Peiris JS, Tang WH, Chan KH, Khong PL, Guan Y, Lau YL, Chiu SS. Children with respiratory disease associated with metapneumovirus in Hong Kong. Emerg Infect Dis 2003;9(6):628-33.
27. Nissen MD, Siebert DJ, Mackay IM, et al. Evidence of human metapneumovirus in Australian children. Med J Aust 2002;176(4):188.
28. Greensill J, Mc Namara PS, Dove W, Flanagan B, Smyth RL, Hart CA. Human metapneumovirus in severe respiratory syncytial virus bronchiolitis. Emerg Infect Dis 2003;9(3):372-5.
29. Vinh DC, Newby D, Chares H, McDonald J. Evaluation of a commercial direct fluorescent-antibody assay for human metapneumovirus in respiratory specimens. J Clin Microbiol 2008; 46(5):1840-1.
30. Landry L, Cohen S, Ferguson D. Detection of human metapneumovirus in clinical samples by immunofluorescence staining of "shellvial" centrifugation cultures prepared from three different cell lines. J Clin Microbiol 2005; 43(4):1950-52
31. Reina J, Ferrer F, Alcoceba E, Mena A, de Gopegui ER, Figuerola J. Comparison of different cell lines and incubation times in the isolation by the "shell vial" culture of human metapneumovirus from pediatric respiratory samples. J Clin Virol 2007;40(1):46-9.

32. Chan PK, Tam JS, Lam CW et al. Human metapneumovirus detection in patients with severe acute respiratory syndrome. *Emerg Infect Dis* 2003;9(9):1058-62.
33. Çicek C, Bilgiç A. Current approaches to the clinical virologic diagnosis of viral respiratory tract infections. *Mikrobiol Bul* 2003;37(2-3):195-204.
34. Stockton J, Stephenson I, Fleming D, Zambon M. Human metapneumovirus as a cause of community acquired respiratory illness. *Emerg Infect Dis* 2002;8(9):897-901.
35. Fuenzalida L, Fabrega J, Blanco S, et al. Usefulness of two new methods for diagnosing metapneumovirus infections in children. *Clin Microbiol Infect* 2010;16(11):38-56.