



SARS-CoV-2 İzinin Sürülmesi, İzmir, Türkiye

Tracking SARS-CoV-2, İzmir, Turkey

Özgür Appak¹(ID), İrmak Güzel²(ID), Abdurrahman Gülmez³(ID), Nazlı Arslan²(ID), Murat Duman⁴(ID), Nurşen Belet⁵(ID), Ayça Arzu Sayiner¹(ID)

¹ Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Viroloji Bilim Dalı, İzmir, Türkiye

² Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

³ İstanbul Başakşehir Çam ve Sakura Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye

⁴ Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Acil Bilim Dalı, İzmir, Türkiye

⁵ Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı, İzmir, Türkiye

Makale atfı: Appak Ö, Güzel İ, Gülmez A, Arslan N, Duman M, Belet N ve ark. SARS-CoV-2 izinin sürülmesi, İzmir, Türkiye. J Pediatr Inf 2021;15(4):236-239.

Öz

Giriş: Yeni bir koronavirüs olan SARS-CoV-2'nin dünya çapında hızla yayılmasıyla birlikte, Mart 2020'de Dünya Sağlık Örgütü tarafından bir pandemi ilan edildi. İlk vakalar Mart 2020'de Türkiye'den bildirildi. Hastanemizde ilk pediatrik vaka 2 Nisan 2020 tarihinde tespit edildi. Ancak bu virüsün bölgemizde bulunup bulunmadığına dair bu tarihten önce herhangi bir veri bulunmamaktadır. Çalışmamızın amacı, pediatrik hastalar için SARS-CoV-2 virüsünün bölgemize ilk girişini belirlemektir.

Gereç ve Yöntemler: SARS-CoV-2 pozitifliği, 1 Ekim 2019 ile 31 Mart 2020 tarihleri arasında alınan pediatrik solunum yolu örneklerinde RT-qPCR yöntemi ile retrospektif olarak araştırıldı. Örneklerde, SARS-CoV-2 RNA, gerçek-zamanlı PCR tabanlı "COVID-19 RT-qPCR Tespit Kiti" kullanılarak çalışıldı.

Bulgular: Çalışmaya 886 örnek dahil edildi. Solunum yolu örneklerinin %97.1'i nazofaringeal sürüntü, %2.8'i bronkoalveolar lavajdı. En sık rinovirüs (%28.6), influenza A alt tipi H1N1 (pandemik H1N1) (%18.5) ve influenza B (%16) tespit edildi. Rinovirüs ve enterovirüs birlikte görülen en sık çift etkenlerdi. İncelenen solunum yolu örneklerinde SARS-CoV-2 pozitifliği tespit edilmemiştir.

Sonuç: SARS-CoV-2 PCR testinin, Türkiye'de pandeminin başlangıcında sınırlı sayıda merkezde yapılmış olması ilk vakanın tespitini etkilemiş olabilir. Arşivlenmiş örnekler ile yapılacak çok merkezli çalışmalar, ülkemizde SARS-CoV-2'nin izlenmesinde daha gerçekçi sonuçlar sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: SARS-CoV-2, solunum virüsleri, pediatrik

Abstract

Objective: With the rapid spread of SARS-CoV-2, a new coronavirus, around the world, a pandemic was declared by World Health Organization on March 2020. The first cases were reported in March 2020 from Turkey. In our hospital, the first pediatric case was detected on April 2, 2020. However, there is no data on whether this virus had been present in our region or not before this date. The aim of our study was to determine the first entry of SARS-CoV-2 virus to our region for pediatric patients.

Material and Methods: SARS-CoV-2 positivity was investigated retrospectively with the RT-qPCR method in the pediatric respiratory tract specimens taken between the October 1, 2019 and March 31, 2020. In the specimens, SARS-CoV-2 RNA was studied using real-time PCR based "COVID-19 RT-qPCR Detection Kit".

Results: 886 samples were included in the study. Of the respiratory tract specimens, 97.1% were nasopharyngeal swabs, 2.8% were bronchoalveolar lavage. Most frequently, rhinovirus (28.6%), influenza A subtype H1N1 (pandemic H1N1) (18.5%) and influenza B (16%) were detected. Rhinovirus and enterovirus were the most frequent double agents seen together. No SARS-CoV-2 positivity was detected in the respiratory tract specimens studied.

Conclusion: SARS-CoV-2 PCR test was conducted in a limited number of centers at the beginning of the pandemics may have affected the detection of the first case in Turkey. Multicenter studies of archived samples would enable more realistic results in tracking SARS-CoV-2 in our country.

Keywords: SARS-CoV-2, respiratory viruses, pediatric

Yazışma Adresi/Correspondence Address

Özgür Appak

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
Tıbbi Viroloji Bilim Dalı,
İzmir-Türkiye

E-mail: ozgur.appak@deu.edu.tr

Geliş Tarihi: 11.05.2021

Kabul Tarihi: 05.08.2021

Çevrimiçi Yayın Tarihi: 29.12.2021

©Telif Hakkı 2021 Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları ve Bağışıklama Derneği.
Makale metnine www.cocukenfeksiyon.org web sayfasından ulaşılabilir.

Giriş

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) Çin Ofisi, Çin'in Hubei eyaleti Wuhan şehrinde 31 Aralık 2019 tarihinde etiyolojisi bilinmeyen pnömoni olguları bildirdi. Bu vakaların sebebi 7 Ocak 2020 tarihinde insanlarda daha önce görülmemiş olan yeni bir koronavirüs (2019-nCoV) olarak tanımlandı. Virüs, SARS CoV benzerliği sebebiyle SARS-CoV-2 olarak adlandırıldı ve hastalık COVID-19 olarak kayıtlara geçti (1).

Koronavirüsler, tek zincirli, pozitif iplikçik, zarflı RNA (+ss-RNA) virüsleri olup 80-220 nm çapındadır. Koronavirüsler, *Nidovirales* dizisi, *Coronaviridae* ailesi, *Coronavirinae* alt ailesi üyesidir. Bu alt aile, alfa-koronavirüs (Alpha CoV), betakoronavirüs (beta-CoV), gammakoronavirüs ve deltakoronavirüs olmak üzere dört türe ayrılır. Günümüzde insanlarda hastalık yarattığı bilinen yedi koronavirüs bulunmaktadır [Alpha CoV; (HCoV)-NL63, 229E, beta-CoV; (HCoV)-OC43, HKU1, SARS-CoV, MERS-CoV ve SARS-CoV-2]. Genel olarak Alpha CoV ve beta-CoVlar insanlarda solunum yolu hastalıklarına, hayvanlarda ise gastroenterite sebep olurken gamma ve deltakoronavirüsleri kuşlarda enfeksiyona sebep olmaktadır (2,3).

Hastalık, hava ve damlacık yoluyla yayılır. Ayrıca, bu hastalık, hasta kişiler öksürerek veya hapşırarak damlacık saçıklarında ve diğer kişiler elleriyle bu damlacıklara temas edip sonrasında ağız, burun ve göz mukozalarına dokunduklarında yayılır. Enfeksiyonun en yaygın belirtileri ateş, öksürük ve dispnedir. Daha ağır olgularda, pnömoni, ağır akut solunum yolu enfeksiyonu ve böbrek yetmezliği gelişip ölümlerle sonuçlanabilir (4). Ülkemizde ilk COVID-19 olgusu 11 Mart 2020 tarihinde tespit edildi. Hastanemizde ise ilk yetişkin olgu 18 Mart 2020 tarihinde, ilk çocuk olgu ise 2 Nisan 2020 tarihinde bildirildi. Ancak, bu tarih öncesinde virüsün bölgemizde var olup olmadığı hakkında herhangi bir veri bulunmamaktadır.

Çalışmamızda, solunum yolu enfeksiyonu bulguları olan ve hastanemize başvuran çocuk hastaları geriye dönük olarak değerlendirmeyi, arşivimizdeki solunum yolu örneklerinden SARS-CoV-2 RNA'sını taramayı ve pozitiflik durumunda sekans analizi yapmayı planladık. Çalışmamız, virüsün bölgemize ne zaman girdiği hususunda veri ortaya çıkarıp pandemilerin dinamiklerini anlama konusunda da katkı sağlayacaktır.

Gereç ve Yöntemler

-70 °C'de muhafaza edilen ve viral solunum yolu enfeksiyonu sebeplerinin araştırılması için 1 Ekim 2019 ve 31 Mart 2020 tarihlerinde Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi (DEÜ) Hastanesinde ayakta ve yatan çocuk hastalardan alınıp merkez laboratuvara gönderilen 886 solunum yolu örneği çalışmaya dahil edildi. Üst ve alt solunum yoluna ait (nazofarenks sürüntü, nazofarenks aspirat ve bronkoalveolar lavaj) bu örneklerde gerçek zamanlı PCR tabanlı Fast Track Diagnostics/Respiratory Pathogens 21 (FTD-21) [Junjlinster, Luksemburg] kiti kullanılarak solunum enfeksiyonuna sebep olan virüsler çalışıldı.

Örneklere SARS-CoV-2 RNA'sı gerçek zamanlı PCR tabanlı "COVID-19 RT-qPCR Tespit Kiti" (Bio-speedy, Ankara, Türkiye) kullanılarak çalışıldı. Kit içindeki viral hedef bölge SARS-CoV-2 RNA'ya-bağlı RNA polimeraz (RbRp) gen parçacığıydı ve insan ribonükleaz P (RNase P) gen parçacığı da iç kontrol olarak kullanıldı. <40 döngü eşiği (ct) olan örnekler pozitif değerlendirildi. Ekstraksiyon işlemi, "Viral Nükleik Asit İzolasyon Kit"i (Bio-speedy, Ankara, Türkiye) ile üreticinin kullanım talimatı uyarınca yürütüldü. Çalışmanın sonuçları nitel olarak değerlendirildi. Nükleik asit ekstraksiyonu EZ1 Virüs Mini Kit'1 V 2.0 (QIAGEN, Almanya) kullanılarak yapılan ilk testte reaksiyon tespit edilen örneklerde PCR testi tekrar edildi. EZ1 Advanced XL (QIAGEN) cihazıyla yürütülen ekstraksiyon işlemi üreticinin talimatları doğrultusunda uygulandı.

Çalışmamız, DEÜ Hastanesi İnvazif Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'nun 15 Haziran 2020 tarihli ve 2020/13-27 sayılı kararı ile alınan onay ile yürütüldü. Çalışma için gerekli olan izinler, T.C. Sağlık Bakanlığı, Sağlık Hizmetleri Müdürlüğü <https://bilimselarastirma.saglik.gov.tr/> adresinden ve DEÜ Araştırma ve Uygulama Hastanesi Başhekimliğinden (tarih: 14 Mayıs, 2020 ve sayı: 72292585-00.99-E.41313) alındı.

Bulgular

Çalışmaya dahil edilen 886 örneğin ait olduğu hastaların ortalama yaşı 61.4 ay (minimum 0.2 - maksimum 246.2 ay), %45.7'si (405/886) kız ve %54.3'ü erkek olarak bulundu. Hastaların %53.6'sı ayakta hastayken %46.4'ü yatan hasta idi.

Solunum yolu örnekleri içerisinde %97.1'i (861/886) nazofarenks sürüntü örnekleri, %2.8'i ise bronkoalveolar lavaj örnekleri idi. Bu örneklerin %70.4'ünde (624/886) FTD-21 kiti ile sorumlu etkenler bulundu. Bunların %83.3'ü (520/624) tek etken, %16.7'si (104/624) iki veya daha fazla etkenliydi. En yaygın olarak rinovirüs (%28.6), influenza A alt tür H1N1 (pandemi H1N1) (%18.5) ve influenza B (%16) tespit edildi (Tablo 1). Ko-enfeksiyonlar içerisinde iki etken %88.5'inde (92/104), üç etken %8.6'sında (9/104) ve dört etken %2.9'unda (3/104) bulundu. Rinovirüs ve enterovirüs birlikte en sık görülen etkenlerdi.

Sekiz örnekte 35 ve 40 arasında bir Ct değerinde Bio-speedy COVID-19 RT-qPCR testi ile zayıf reaksiyon tespit edildi. Bu hastaların örnekleri EZ-1 ile çıkarıldı, SARS-CoV-2 RT-qPCR testi tekrar edildi ve sonuçlar negatif olarak elde edildi. Bu örneklerin altısında diğer solunum virüsleri pozitif idi (Tablo 2).

Tartışma

Çalışmamızda, epidemiyolojik veri elde etmek ve bölgemizde SARS-CoV-2'nin ne zaman girdiğini tespit etmek için Ekim 2019 ve Mart 2020 tarihleri arasında çocuk hastalardan alınan örnekler tarandı. Örneklere SARS-CoV-2 RNA'sına rastlanmadı. 2019-2020 grip sezonunu kapsayan çalışmamızda en yaygın sorumlu etken %28,6'lık oranla rinovirüs idi. Merkezimizde yürütülen ve çocuk hastalarda solunum yolu virüslerinin 7

Tablo 1. Solunum paneli sonuçları

Pozitif etkenler	Toplam (n)	Pozitiflik yüzdesi
IFN A	2	0.4
IFN A H1N1 (pandemi H1N1)	96	18.5
IFN B	83	16
Rinovirüs	149	28.6
Cor	17	3.2
Cor 229E	2	-
Cor NL63	5	-
Cor OC43	-	-
Cor HKU-1	10	-
PIV	35	6.7
PIV-1	13	-
PIV-2	3	-
PIV-3	8	-
PIV-4	11	-
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	2	0.4
Bokavirüs	13	2.5
MPV	43	8.3
RSV A/B	57	11
Adenovirüs	19	3.7
Enterovirüs	3	0.5
Parekovirus	1	0.2
Total	520	100

IFN A: influenza A, IFN B: influenza B, Cor: koronavirüs, PIV: Parainfluenza virüsü, MPV: Metapnömovirüs, RSV: Solunum sinsiyal virüs.

Table 2. SARS-CoV-2 pozitiflik şüphelenilen hastalar

Solunum paneli tarihi	Cinsiyet	Örnek türü	Belirtiler	Solunum paneli sonuçları
31.12.2019	K	NS	Ateş	metapnömovirüs
3.01.2020	K	NS	Ateş, öksürük, otalji	influenza B virüs
7.01.2020	E	NS	Ateş, otalji, nazal konjesyon	influenza A (H1N1)
9.01.2020	E	NS	Nazal konjesyon, boğaz ağrısı	Koronavirüs NL63
16.01.2020	E	NS	Ateş, nazal konjesyon	negatif
23.01.2020	E	NS	Ateş, eritema, kaşıntı	negatif
21.02.2020	E	NS	Ateş, burun akıntısı	rinovirüs
25.02.2020	E	NS	Ateş, öksürük, halsizlik	rinovirüs

K: Kız, E: Erkek, NS: Nazofarenks sürüntü.

yıllık dağılımını inceleyen bir başka çalışmada her sene en sık tespit edilen virüsün rinovirüs olduğu bulundu (5).

Bilgimiz dahilinde geriye dönük olarak çocuk hastaların solunum yolu örneklerinde SARS-CoV-2 taranan ve ülkemizden bildirilen başka bir çalışma yoktur. Literatürde ise başka ülkelerden hem yetişkin hem çocuk hastalar üzerinde yürütülen benzer çalışmalar olduğunu söyleyebiliriz. Fransa'da ilk resmi COVID-19 olgusu 24 Ocak 2020 tarihinde bildirilmiş olsa

da geriye dönük yapılan bir çalışmada 27 Aralık 2019 tarihinde pnömoni bulguları olan bir hastanın SARS-CoV-2 RNA testi pozitif bulunmuştur (6,7). Bu hastanın sağlık öyküsünde Çin ya da herhangi başka bir ülkeye seyahat durumu olmaması Fransa'da SARS-CoV-2'nin Aralık 2019 sonlarında dolaşımında olduğunu göstermiştir (7). İlk olgunun 25 Şubat 2020'de tespit edildiği İspanya'da yürütülen bir çalışmada, 1 Ocak 2020 ve 25 Şubat 2020 tarihleri arasındaki 170 hastanın örnekleri

SARS-CoV-2 açısından incelenmiş ve bizim çalışmamıza benzer şekilde SARS-CoV-2 hiçbir örnekte tespit edilmemiştir. Aynı çalışmada diğer solunum yolu virüsleri örneklerin %87'sinde tespit edilmiş ve sıklıkları sırasıyla influenza A, rinovirüs koronavirus ve solunum sinsiyal virüs olarak bulunmuştur (8). İlk olgunun 6 Şubat 2020'de tespit edildiği San Fransisco'da 2019 yılının son iki ayına ait 1700 solunum yolu örneğini inceleyen bir çalışmada tüm örnekler SARS-CoV-2 açısından negatif bulunmuştur (9).

Çalışmamızda sekiz örneğin ilk SARS-CoV-2 RT-qPCR testinde zayıf reaksiyon tespit edildi. Bu örneklerin altısı diğer solunum virüsleri açısından pozitif saptansa da kullanılan test ile iki örnekte pozitiflik bulunmadı. SARS-CoV-2 için rutin olarak kullanılan ekstraksiyon sistemi sadece beş dakika için hücre yıkımına sebep oldu ve nükleik asidi ortaya çıkardı. Kullanılan bu hızlı yöntemin klasik ekstraksiyon yöntemi olmaması sebebiyle şüpheli tepki veren örnekler için testler ekstraksiyon ve nükleik asit konsantrasyonu sağlayan farklı bir yöntem ile tekrar edildi. Bu şekilde çalışılan RT-qPCR ile SARS-CoV-2 tüm örneklerde negatif saptandı. 1 Mart 2020 tarihinde ilk olgu görülmeden önce arşivlenen 174 solunum yolu örneğinde SARS-CoV-2 inceleyen İskoçya'dan bir çalışmada RbRp ve E gen bölgelerini hedefleyen RT-PCR ile 166 örnek negatif saptandı. RbRp açısından sekiz örnek negatif olsa da E geni bölgesinde şüpheli reaksiyon tespit edildiği için test başka bir RT-PCR ticari kiti ile tekrar edilmiş ve çalışmamıza benzer şekilde negatif olarak kayda geçmiştir (10).

Sonuç olarak, çalışmamız bölgemizde SARS-CoV-2'nin sürülmesi açısından önemlidir. Çalışmamızın kısıtlılığı ise tek bir merkezde yürütülmüş olmasıdır. Pandeminin başında sınırlı sayıda merkezde SARS-CoV-2 PCR testinin yapılmış olması Türkiye'deki ilk olgunun tespitinin yapılmasını etkilemiş olabilir. Bu nedenle, çalışmamızda yaptığımız gibi arşivlenen örneklerin çalışılması ve yerel verilerin kamuya açıklanması daha çok sayıda örneğin incelenmesini ve daha gerçekçi sonuçların alınmasını sağlayacaktır.

Etik Komite Onayı: Çalışma için Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Çalışmalar Etik Kurulundan onay alındı (Karar no: 2020/13-27, Tarih: 15.06.2020).

Hasta Onamı: Hasta onamı alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir- Tüm yazarlar; Tasarım- Tüm yazarlar; Denetleme- Tüm yazarlar; Kaynaklar- Tüm yazarlar; Veri toplanması ve işlemesi- Tüm yazarlar; Analiz ve yorum- Tüm yazarlar; Literatür taraması- Tüm yazarlar; Yazıyı yazan- Tüm yazarlar; Eleştirel İnceleme- Tüm yazarlar.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

Kaynaklar

1. World Health Organization (2020). Novel coronavirus (2019-nCoV), situation report-1. Available from: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200121-sitrep-1-2019-ncov.pdf> Accessed date: 21 January 2020. [CrossRef]
2. Yan Y, Chang L, Wang L. Laboratory testing of SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-CoV-2 (2019-nCoV): Current status, challenges, and countermeasures. *Rev Med Virol* 2020;30:e2106. [CrossRef]
3. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* 2019;17:181-192. [CrossRef]
4. T.C. Sağlık Bakanlığı. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü (2020). COVID-19 (Sars-Cov-2 Enfeksiyonu) Rehberi, Bilim Kurulu Çalışması. Available from: <https://hgmstokyonetimdb.saglik.gov.tr/Eklenti/37044/0/covid-19rehberipdf.pdf> Accessed date: 14.04.2020. [CrossRef]
5. Appak Ö, Duman M, Belet N, Sayiner AA. Viral respiratory infections diagnosed by multiplex polymerase chain reaction in pediatric patients. *J Med Virol* 2019;91:731-7. [CrossRef]
6. Lescuré FX, Bouadma L, Nguyen D, Parisey M, Wicky P-H, Behillil S, et al. Clinical and virological data of the first cases of COVID-19 in Europe: a case series. *Lancet Infect Dis* 2020;20:697-706. [CrossRef]
7. Deslandes A, Berti V, Tandjaoui-Lambotte Y, Alloui C, Carbonnelle E, Zahar JL, et al. SARS-CoV-2 was already spreading in France in late December 2019. *Int J Antimicrob Agents* 2020;55:106006. [CrossRef]
8. Blanco-Suárez A, Pérez-Jové P, Escribano-Castillejo N, Ballester-Tellez M. Retrospective search of SARS-CoV-2 in respiratory samples in Vallès Occidental (Barcelona, Spain) before the first case was reported. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2020;38:511-2. [CrossRef]
9. Hogan CA, Garamani N, Sahoo MK, Huang CH, Zenhder J, Pinsky BA. Retrospective Screening for SARS-CoV-2 RNA in California, USA, Late 2019. *Emerg Infect Dis* 2020;26:2487-88. [CrossRef]
10. Tomb RM, MacLean AR, Gunson RN. Retrospective screening for SARS-CoV-2 in Greater Glasgow and Clyde ICUs between December 2019 and February 2020. *J Infect* 2020;81:452-82. [CrossRef]