

T.C
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**RESPIRATUAR SİNSİTYAL VİRÜS İLE
RESPIRATUAR SİNSİTYAL VİRÜS DIŞI
BRONŞİYOLİT GEÇİREN ÇOCUKLARDA
TEKRARLAYAN HIŞILTI, ATOPİ RİSKİ VE
SERUM İNTERLÖKİN-4, İNTERLÖKİN-13,
İNTERFERON-GAMA DÜZEYLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Burçak TATLI GÜNEŞ

UZMANLIK TEZİ

İZMİR- 2010

T.C
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**RESPIRATUAR SİNSİTYAL VİRÜS İLE
RESPIRATUAR SİNSİTYAL VİRÜS DIŞI
BRONŞİYOLİT GEÇİREN ÇOCUKLARDA
TEKRARLAYAN HIŞILTI, ATOPI RİSKİ VE
SERUM İNTERLÖKİN-4, İNTERLÖKİN-13,
İNTERFERON-GAMA DÜZEYLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Burçak TATLI GÜNEŞ

TEZ DANIŐMANI
Prof. Dr. Özkan KARAMAN

Bu araştırma DEÜ Araştırma Fon Saymanlığı tarafından
desteklenmiőtir

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
İçindekiler	I-II
Tablolar Dizini	III
Şekiller Dizini	IV
Kısaltmalar	V
Teşekkür	VI
Özet	1
Summary	3
1.Giriş ve Amaç	6
2.Genel Bilgiler	8
2.1. Akut bronşiyolit	8
2.1.1. Tanım	8
2.1.2. Etiyoloji ve Epidemiyoloji	8
2.1.3. Patogenez	8
2.1.4. Klinik bulgular ve Tanı	9
2.1.5. Ayırıcı Tanı	9
2.1.6. Prognoz	9
2.1.7. Bronşiyolitli hastanın izleminde genel ilkeler	10
2.1.8. Tedavi	12
2.2. Respiratuar sinsityal virüs	16
2.2.1. Virüsün mikrobiyolojik özellikleri	16
2.2.2. Virüsün dirençliliği	18
2.2.3. Epidemiyoloji	19
2.2.4. Patogenez	19
2.2.5. Klinik	20
2.2.6. Bağışıklık	20
2.2.7. Tanı	21
2.2.8. Tedavi	24
2.2.9. Korunma	24
2.2.10. Komplikasyonlar	25
2.2.11. Prognoz	26
2.3. Allerjik hastalıklarda immunopatogenez	26

2.4. Respiratuar sinsityal virüs ve astım ilişkisi	29
3.Gereç ve Yöntem	32
3.1. Laboratuvar incelemeleri	32
3.2. İstatistiksel analiz	41
4. Bulgular	42
5. Tartışma	53
6. Sonuçlar	60
7. Kaynaklar	61

TABLULAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1: Akut bronşiyolitte sınıflandırma	10
Tablo 2: IL-4 için standartların bilinen konsantrasyonlarına karşı elde edilen absorban değerleri	33
Tablo 3: IL-13 için standartların bilinen konsantrasyonlarına karşı elde edilen absorban değerleri	36
Tablo 4: IFN- gama için standartların bilinen konsantrasyonlarına karşı elde edilen absorban değerleri (I)	38
Tablo 5: IFN- gama için standartların bilinen konsantrasyonlarına karşı elde edilen absorban değerleri (II)	39
Tablo 6: Cinsiyet dağılımı	42
Tablo 7: Doğum şekli ve doğum ağırlıklarının karşılaştırılması	43
Tablo 8: Prenatal sigara temasının karşılaştırılması	43
Tablo 9: Anne sütü alım sürelerinin karşılaştırılması	43
Tablo 10: Annelerin eğitim durumlarının karşılaştırılması	44
Tablo 11: Ortalama aylık gelirlerin karşılaştırılması	45
Tablo 12: Hastaneye başvuru yaşlarının karşılaştırılması	45
Tablo 13: Aile üyelerinin sayılarının ve kardeş sayılarının karşılaştırılması	45
Tablo 14: Kullanılan yatak, yorgan ve yastıkların cinslerinin karşılaştırılması	46
Tablo 15: Ailede allerji öykülerinin karşılaştırılması	47
Tablo 16: Serum IL-13, IL-4 ve IFN-gama düzeylerinin karşılaştırılması	48
Tablo 17: Hışıltı atak sıklıklarının karşılaştırılması	49
Tablo 18: Doğum ağırlığı, doğum şekli, bronşiyolit geçirdiği yaş, annenin eğitim düzeyi, prenatal-postnatal sigara maruziyeti, anne sütü alım süresi ile tekrarlayan hışıltı atak sıklıklarının karşılaştırılması	51
Tablo 19: Serum IL-13, IL-4 , IFN-gama, IgE düzeyleri ve total eozinofil sayısı ile hışıltı atak sıklığının karşılaştırılması	52

SEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1: Akut bronşiyolit tedavi şeması	15
Şekil 2: Hücre kültüründe RSV sinsitya formasyonu	16
Şekil 3: Respiratuar sinsityal virüsün elektron mikroskopik fotoğrafı	17
Şekil 4: Respiratuar sinsityal virüsün şematik şekli	18
Şekil 5: RSV için tipik sitopatik etki gözlenmiş hücre kültürünün görünümü	22
Şekil 6 : Allerjik inflamasyonda Th2 lenfositlerin ve sitokinlerin rolü	27
Şekil 7: Allerjik inflamasyonda sitokinlerin rolü	28
Şekil 8: Th1 ve Th2 farklılaşması	29
Şekil 9: IL-4 standart grafiği	34
Şekil 10: IL-13 standart grafiği	36
Şekil 11: IFN-gama standart grafiği (I)	39
Şekil 12: IFN-gama standart grafiği (II)	40
Şekil 13: RSV (+) ve (-) grupta hışıltı atak sıklığı	50

KISALTMALAR

AB: Akut bronşiyolit

ASYE: Alt sulunum yolu enfeksiyonu

BPD: Bronkopulmoner displazi

CCA: Chimpanzee coryza agent

DFT: Direkt Floresan antikor testi

ECP: Eozinofilik katyonik protein

EIA: Enzym immunoassay

ELISA: Enzym linked immunosorbent assay

FDA: Food and Drug Administration

FiO₂: İnspire edilen havadaki oksijen yüzdesi

HRP: Horse raddish peroxidase

IFN-gama: İnterferon gama

IFT: İndirekt floresan antikor testi

Ig: İmmunglobulin

IL: İnterlökin

LT: Lökotrien

MCP: Monosit kemotaktik protein

NSVY: Normal spontan vajinal yol

PAF: Platelet aktive edici faktör

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu

PG: Prostoglandin

RANTES: Regulated upon activation normal T-cell expressed and secreted

RNA: Ribonükleik asit

RSV: Respiratuar sinsityal virüs

RV: Rhinovirüs

Th: T helper

TEŞEKKÜR

Eğitim s¼rem boyunca yetiŐmemde emeği geçen başta ocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı BaŐkanı Prof. Dr. Hale Ören olmak üzere tüm hocalarıma, tez konumun seçimi ve çalıŐmamın yürüt¼lmesi aŐamalarında katkılarını esirgemeyen tez danıŐmanlarım Prof. Dr. Özkan Karaman ve Prof. Dr. Nevin Uzuner'e, bana her konuda destek olan sevgili ailem ve özellikle eŐime saygı, sevgi ve teŐekkürlerimle.

ÖZET

AMAÇ: Akut bronşiyolit (AB), özellikle iki yaş altı çocuklarda alt solunum yollarının en sık görülen hastalığıdır. Bir yaş altı çocuklarda en sık hastaneye yatış nedenlerinden biridir. Vakalarının %50-90'ından respiratuar sinsityal virüs (RSV) sorumludur. Yapılan çalışmalarda hayatın erken döneminde RSV enfeksiyonu geçiren infantlarda tekrarlayan hışıltı ataklarının görülebildiği ve astım gelişme riskinin arttığı gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı; RSV enfeksiyonu geçiren çocuklarda tekrarlayan hışıltı atakları ile atopi ve serum sitokin [interlökin-4 (IL-4), IL-13, interferon-gama (IFN-gama)] düzeyleri arasındaki ilişkinin saptanması, RSV dışı viral bronşiyolit geçiren hastalarla bu hastaların kıyaslanması ve tekrarlayan hışıltı patogenezinde sitokinlerin rolünün tartışılmasıdır.

HASTALAR VE YÖNTEM: Çalışma Ocak 2006 ile Kasım 2008 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Solunum ve Allerji polikliniği, Acil Servis ve yataklı serviste görülerek ilk kez AB tanısı alan, nazofarengeal yıkama sıvısında RSV antijeni çalışılan (PCR ile) 0-36 ay arası çocuklar çalışmaya alındı. Hastalar altı ayda bir aynı hekim tarafından değerlendirildi. Hastaların cinsiyeti, doğum haftası, doğum ağırlığı, sigara teması, anne sütü alma süresi, annenin eğitim durumu, ailenin gelir durumu, kardeş sayısı, yaşadıkları evin özellikleri, evde tüylü hayvan beslenmesi, ailede astım, allerjik rinit ve atopi öyküsü, ilk bronşiyolit geçirdiği yaş, çocukta allerjik rinit, atopi ve tekrarlayan hışıltı atakları izlem sırasında kaydedildi. Hastalar en az bir yıl izlendikten sonra bir kereye mahsus olmak üzere kan örneği alındı. Total eozinofil sayısı, serum immunglobulin E (IgE), IL-4, IL-13 ve IFN-gama düzeyleri çalışıldı. Atopinin değerlendirilmesi amacıyla her hastaya deri prick test yapıldı.

BULGULAR: 70 hasta çalışmaya alındı. Bu hastaların 40'ı (%57,1) RSV pozitif, 30'u (%42,9) RSV negatif grupta yer almaktadır. Çalışmaya katılan hastaların 29'u (%41,4) kız, 41'i (%58,6) erkektir. Prematüre doğum öyküsü olan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir. Her iki grup arasında doğum şekli, prenatal ve postnatal sigara teması, annelerin eğitim durumu, ailenin ortalama aylık geliri, yaşadıkları evin özellikleri, kreşe gitme, ailede allerjik hastalık öyküsü benzerdir. Respiratuar sinsityal virüs negatif grupta doğum ağırlığı daha düşük saptanmıştır

($p=0,015$). Respiratuar sinsityal virüs pozitif grupta hastaneye başvuru yaşı ortalama 6,4 ay (1-33 ay), RSV negatif grupta 9,5 ay (1-30 ay) olup; RSV negatif grupta başvuru yaşı daha düşük bulunmuştur ($p=0,031$). Respiratuar sinsityal virüs pozitif grupta %35 hastada, RSV negatif grupta %53,3 hastada tekrar hışıltı atağı gözlenmiştir. Her iki grup arasında tekrarlayan hışıltı açısından anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,064$). Total eozinofil sayısı ve serum IgE düzeyi her iki grupta benzerdir. Serum IL-4 düzeyi RSV pozitif grupta ortalama 20,43 pg/mL, RSV negatif grupta 40,77 pg/mL saptanmış olup RSV negatif grupta anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p=0,002$). Serum IL-13 düzeyi RSV pozitif grupta 22,61 pg/mL, RSV negatif grupta 63,68 pg/mL'dir. Her iki grup arasında serum IL-13 düzeyleri benzer saptanmıştır ($p=0,565$). Serum IFN-gama düzeyi ise RSV pozitif grupta ortalama 90,12 pg/mL, RSV negatif grupta 162,57 pg/mL olup RSV negatif grupta daha yüksek saptanmıştır ($p=0,003$). Total eozinofil sayısı, serum IgE, IL-4, IL-13 ve IFN-gama düzeyleri ile tekrarlayan hışıltı atakları açısından anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Her iki grupta birer hastada deri prick test pozitifliği saptanmış ve atopi gelişimi açısından değerlendirme yapılamamıştır. Doğum ağırlığı, doğum şekli, prenatal ve postnatal sigara teması, annenin eğitim durumu, ailenin ortalama aylık geliri, ailede allerji öyküsü, yaşadıkları evin özellikleri, kreşe gitme ile tekrarlayan hışıltı arasında korelasyon saptanmamıştır.

SONUÇ: Respiratuar sinsityal virüs bronşiyoliti ile RSV dışı bronşiyolit arasında tekrarlayan hışıltı atakları açısından bir fark saptanmamıştır. Total eozinofil sayısı, IL-13 ve IgE düzeyleri her iki grupta benzerdir ve tekrarlayan hışıltı atakları bu parametrelerle tek başına anlamlı bulunmamıştır. Serum IL-4 ve IFN-gama düzeyleri RSV negatif grupta daha yüksek bulunmuştur ancak tekrarlayan hışıltı atakları ile anlamlı korelasyon saptanmamıştır. Hışıltı ve astım patogenezi multifaktöriyeldir. Respiratuar sinsityal virüs dışındaki viral enfeksiyonlar da tekrarlayan hışıltıya neden olabilir. Patogenezin daha iyi anlaşılması ve hangi viral etkenin hışıltı patogenezinde daha fazla sorumlu olduğunun bulunması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Respiratuar sinsityal virüs, tekrarlayan hışıltı, atopi, sitokin.

SUMMARY

AIM: Acute bronchiolitis (AB) is the most frequent disorder of lower respiratory tract, particularly in children below 2 years of age. The disease is one of the most common causes of hospitalization in children below 1 year of age. Respiratory syncytial virus (RSV) is responsible from 50-90% of the cases. It has been demonstrated in a number of studies that recurrent wheezing episodes might be encountered and the risk for asthma is increased in infants suffered from RSV infection during their early lives. The aims of this study are (i) to detect the relationship between the recurrent wheezing episodes in children suffered from RSV infection and atopy and serum cytokine [interleukin-4 (IL-4), IL-13, and interferon-gamma (IFN-gamma)] levels, (ii) to compare these children with those suffered from non-RSV viral bronchiolitis, and (iii) to discuss the role of cytokines in the etiopathogenesis of recurrent wheezing.

SUBJECTS AND METHOD: The study was conducted between January 2006 and November 2008 in Department of Pediatrics, Medical Faculty, Dokuz Eylul University. Children aged between 0-36 months who were diagnosed to have AB for the first time following evaluation in Division of Pediatric Pulmonology and Allergy, Division of Pediatric Emergency Medicine or pediatric inpatient unit and nasopharyngeal lavage fluid of whom were analyzed with PCR for RSV antigen were recruited for the study. The patients were evaluated biannually by the same physician. During the follow-up, data regarding gender, gestational age, birth weight, exposure to cigarette smoke, duration of breastfeeding, maternal educational level, family income, the number of siblings, the properties of the house being lived, presence of feathery pet at the home, family history for asthma, allergic rhinitis and atopy, the age at the time of first bronchiolitis, allergic rhinitis, atopy, and recurrent wheezing episodes in the study patient were recorded. A blood sample, only for once, was obtained once the patients were followed for at least one year. Total eosinophil count, serum immunoglobulin E (IgE), IL-4, IL-13, and IFN-gamma levels were measured. Skin prick test was performed in each patient in order to evaluate atopy.

FINDINGS: A total of 70 patients were included in the study. Among them, 40 (57.1%) were in RSV positive group and 30 (42.9%) in RSV negative group. Twenty-nine of the patients (41.4%) were females and 41 (58.6%) males. Premature born children were excluded from the

study. There were no differences between the two groups regarding the type of birth, prenatal and postnatal exposure to cigarette smoke, maternal education level, mean monthly family income, the properties of the house being lived, day care center attendance, and family history for allergic disease. Birth weight was found to be lower in RSV negative group ($p=0.015$). Mean age at admission to hospital was 6.4 months (1-33) in RSV positive group and 9.5 months (1-30) in RSV negative group; the age at admission was found to be lower in RSV negative group ($p=0.031$). Recurrent wheezing episode was observed in 35% of the patients in RSV positive group and in 53.3% of RSV negative group. No significant difference was detected between the two groups regarding recurrent wheezing ($p=0.064$). Total eosinophil count and serum IgE levels were similar in the two groups. Mean serum IL-4 level was detected to be 20.43 pg/mL in RSV positive group and 40.77 pg/mL in RSV negative group, significantly higher in RSV negative group ($p=0.002$). Mean serum IL-13 level was 22.61 pg/mL in RSV positive group and 63.68 pg/mL in RSV negative group. Serum IL-13 levels were comparable between the two groups ($p=0.565$). Mean serum IFN-gamma levels were detected to be 90.12 pg/mL in RSV positive and 162.57 pg/mL in RSV negative group, significantly higher in RSV negative group ($p=0.003$). No significant relation was detected between recurrent wheezing episodes and total eosinophil count, serum IgE, IL-4, IL-13, and IFN-gamma levels. Skin prick test positivity was found in only one patient in each group and evaluation regarding atopy could not be made. No correlation was observed between recurrent wheezing and birth weight, type of birth, prenatal and postnatal exposure to cigarette smoke, maternal education level, mean monthly family income, family history for allergy, properties of the house being lived, and day care center attendance.

CONCLUSION: No difference could be detected between Respiratory syncytial virus and non-RSV bronchiolitis regarding subsequent recurrent wheezing episodes. Total eosinophil count, IL-13, and IgE levels were similar in the two groups and no significant relation of solely these parameters could be detected with recurrent wheezing episodes. Serum IL-4 and IFN-gamma levels were detected higher in RSV negative group, however, significant correlation of these findings was not detected with recurrent wheezing episodes. The pathogenesis of wheezing and asthma is multifactorial. Viruses other than Respiratory syncytial virus might lead to recurrent wheezing. More studies are needed to understand the pathogenesis better and to detect the most responsible viral agent in pathogenesis of wheezing.

Key words: Respiratory syncytial virus, recurrent wheezing, atopy, cytokine.

1. GİRİŞ VE AMAC

Akut bronşiyolit; özellikle iki yaş altı çocuklarda, küçük hava yollarının inflamasyonu sonucu ortaya çıkan alt solunum yollarının en sık görülen hastalığıdır. Görülme sıklığı mevsimlere göre değişir. Özellikle geç sonbahar ve kış aylarında artış gösterir. Bir yaş altındaki çocuklarda hastaneye yatışın en önemli nedenlerinden biridir (1).

Akut bronşiyolit genellikle viral bir hastalıktır. Vakalarının %50-90'ından RSV sorumludur (2-4).

Yapılan bir çok çalışmada hayatın erken döneminde RSV enfeksiyonu geçiren infantlarda tekrarlayan hışıltı ataklarının görülebildiği ve astım gelişme riskinin arttığı gösterilmiştir (5-9). Epidemiyolojik çalışmalarda bronşiyolit öyküsü olan çocuklarda hışıltı ve astımın daha yüksek sıklıkta ortaya çıktığı ve bunun aile öyküsü veya atopi ile açıklanamadığı görülmüştür. Bronşiyolitin daha sonra astıma dönüşecek bir immun yanıtı mı tetiklediği, yoksa bu bebeklerde varolan astım yatkınlığının RSV epizodu ile mi açığa çıktığı henüz tam bilinmemektedir (1). Astımlı hastaların hava yollarında mast hücreleri, aktive eozinofiller ve aktive yardımcı T lenfositlerin sayısı artmıştır. Proinflamatuvar sitokinleri (IL-4, IL-5, IL-13) ve kemokinleri [RANTES (Regulated on activation normal T cell expressed and secreted), Eotaksin] üreten yardımcı T lenfositler bu inflamatuvar sürece aracılık eder (1). Respiratuvar sinsityal virüs enfeksiyonu kompleks bir immun yanıtı tetikler. Eozinofiller granüllerini boşaltır ve hava yolu epiteline sitotoksik etkisi olan eozinofilik katyonik protein (ECP) açığa çıkar. Yapılan bir çalışmada erken infant döneminde RSV enfeksiyonu geçiren ve hayatın geç döneminde tekrarlayan hışıltı atakları olan hastalarda kontrol grubuna göre serum ECP düzeyi yüksek bulunmuştur (10). Başka bir çalışmada; monosit IL-10 düzeyi RSV enfeksiyonu geçiren çocuklarda daha yüksek saptanmıştır (11). Respiratuvar sinsityal virüs ile enfekte bebeklerde IFN-gamanın yüksek seviyede sekresyonu da hava yolunda hışıltıya sebep olmaktadır. Uzuner ve arkadaşları (12) AB geçiren infantlarda serum IL-4, IL-13 ve IFN-gama düzeyleri ile tekrar eden hışıltı epizodlarının ilişkisini araştırmışlar ve serum IL-13 düzeyi ile tekrarlayan hışıltı ataklarının pozitif korelasyon gösterdiğini saptamışlardır. Yüksek serum IL-13 düzeyinin ve ailede atopi öyküsünün AB sonrası gelişen hışıltı ataklarında önemli rol oynayabileceğini vurgulamışlardır.

Çalışmanın gerekçesi/ amacı:

1. Respiratur sinsityal virüs bronşiyoliti geçiren çocuklarda tekrarlayan hışıltı atakları ile atopi ve serum sitokin (IL-4, IL-13, IFN-gama) düzeyleri arasındaki ilişkinin saptanması
2. Respiratur sinsityal virüs dışı viral bronşiyolit geçiren hastalarla bu hastaların klinik ve laboratuvar özelliklerinin karşılaştırılması
3. Respiratur sinsityal virüs bronşiyoliti sonrasında tekrarlayan hışıltı patogenezinde sitokinlerin rolünün araştırılması

2.GENEL BİLGİLER

2.1 AKUT BRONŞİYOLİT

2.1.1. Tanım

Akut bronşiyolit; iki yaşından küçük çocuklarda sıklıkla viral etkenlerin neden olduğu, hışıltı (wheezing), öksürük, hızlı solunum, göğüsde çekilmeler ve ekspiryumda uzama ile karakterize bronşiyollerin inflamasyonu ile seyreden bir hastalıktır. İki yaş altındaki çocukların %10-20'sinde görülebilir (13-15).

2.1.2. Etyoloji ve Epidemiyoloji

Akut bronşiyolit sıklıkla kış aylarında epidemilere yol açar. Daha çok bir yaş altında olmak üzere özellikle düşük sosyo-ekonomik seviyesi olan ailelerde, kalabalık yaşam koşulları olan, sigara dumanına maruz kalan ve anne sütü alamayan bebeklerde daha sık görülür. En sık etken RSV olup, geç sonbahar ve kış aylarında epidemilere yol açar. Daha az sıklıkla parainfluenza virüs, influenzavirüs, adenovirüs ve human metapnömovirüs de hastalığa neden olmaktadır. Mycoplasma, Chlamydia, Ureaplasma ve Pneumocystis türleri de nadiren bronşiyolite yol açan etkenlerdir (13,14,16).

2.1.3. Patogenez

Bronş epiteli, etkenin hedef dokusudur. Epitelin virüsler tarafından invazyonundan sonra inflamasyon ve epitel nekrozu oluşur. Dejenere olan siliyalı epitelin sekresyonları atma fonksiyonunun bozulması nedeni ile lümen içinde birikir. Submukoza ve adventisya oldukça ödemlidir, aşırı mukus sekresyonu vardır. Solunum yolunda ödem, nekrotik döküntüler, siliyaların kaybı ve artmış müküs yapımının hepsi bronşiyol lümeninde tıkanmaya neden olur. Kısmi solunum yolu obstrüksiyonu küçük akciğer ünitelerinde 'check-valve' mekanizması ile havalanma fazlalığına neden olurken, tam tıkanmalar atelektazi ile sonuçlanır.

Viral enfeksiyonun solunum yollarındaki lokal tıkaçıcı etkileri ve küçük çocukların periferik solunum yollarının darlığı yanında bir çok anatomik faktör de bronşiyolitli bebekte hava yollarının daralmasına katkıda bulunur (13).

2.1.4. Klinik bulgular ve Tanı

İlk bulgular burun akıntısı, öksürük ve hafif ateş gibi üst solunum yolu enfeksiyonu bulguları şeklindedir. Bir-iki gün içerisinde bunu hışıltılı solunum, öksürük, solunum sayısında artış ve göğüsde retraksiyonlar izler. Huzursuzluk, beslenme güçlüğü ve kusma gözlenebilir. Fizik muayenede solunum sayısı artmıştır, taşikardi vardır. Vücut ısısı normal olabileceği gibi yüksek ateş de görülebilir. Konjonktivit, otit ve farenjit de bazı hastalarda eşlik edebilir. Dinlemekle akciğerlerde sibilan ronküs ve raller duyulabilir. Ağır vakalarda siyanoz ve apne görülebilir. Karaciğer kosta kenarını geçebilir, bu bulgu akciğerlerdeki aşırı havalanmaya ya da kalp yetmezliğine bağlı olabilir (13).

Kan lökosit sayısı genellikle normal ya da hafif yüksek olup, periferik yaymada lenfosit hakimiyeti dikkati çeker. Radyolojik olarak her iki akciğerde havalanma fazlalığı, peribronşiyal infiltrasyonlar ve atelektaziler görülebilir. İkincil bakteriyel enfeksiyona bağlı olarak yama tarzında dansite artışı (konsolidasyon) gelişebilir (13,15).

Akut bronşiyolit tanısı öykü ve fizik muayene bulgularıyla konulur, ağır vakalar dışında radyolojik tetkikler ve etkenin gösterilmesi için laboratuvar incelemelerinin yapılmasına gerek yoktur (14,17).

2.1.5. Ayırıcı tanı

Bronşiyolit; başta astım, yabancı cisim aspirasyonu ve kistik fibrozis olmak üzere hışıltı ile birlikte seyreden pek çok hastalıkla karışabilir. İyi alınmış bir öykü ve dikkatli bir fizik inceleme ile birlikte yapılan laboratuvar testleriyle tanıya büyük ölçüde ulaşılabilir (13).

2.1.6. Prognoz

Genellikle hastalık hafif veya orta şiddette geçirilir. Hastalık semptomları iki-üç gün içinde giderek artar, yedi-on gün içerisinde azalır, öksürük siliyaların rejenerasyonuna kadar haftalarca devam edebilir. Altı haftadan küçük bebeklerde, altta yatan kardiyopulmoner hastalığı olanlarda (kistik fibroz, bronkopulmoner displazi (BPD), konjenital kalp hastalıkları), prematür bebeklerde, bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda daha ağır seyreder ve hayatı tehdit edici olabilir. Bu hastalar daha fazla yoğun bakım izlemi ve mekanik ventilasyon gereksinimi gösterirler. Akut bronşiyolitinin komplikasyonları solunum yetmezliği, hipoksi ve hiperkapniye bağlı santral sinir

sistemi bulguları, uygunsuz ADH salınımı, myokardit ve bronşiyolitis obliteranstır. Ölüm AB'li bebeklerin %1'inden az görülmektedir (13).

Akut bronşiyolit sonrası tekrarlayan hışıltı atakları görülebilir. Bu ataklar, AB'nin immun yanıtı değiştirerek astım ortaya çıkmasını kolaylaştırması ya da zaten astımı var olan çocukların tekrarlayan AB atakları geçirmeleri sonucu ortaya çıkabilir. Çocukta ve ailede atopi ve allerji öyküsü, çocuğun solunum yollarının doğuştan dar olması ve pasif sigara içiciliği tekrarlayan hışıltı atakları gelişmesi için risk faktörleridir. Bu tür hastalar astım yönünden de değerlendirilmelidir (13).

2.1.7. Bronşiyolitli hastanın izleminde genel ilkeler

Hastalığın derecelendirilmesi: Hastalık şiddetinin değerlendirilmesi için hastanın genel durumu, dakikadaki solunum ve nabız sayısı ve göğüste çekilmelerin varlığına göre bir sınıflandırma kullanılır (Tablo 1) (13).

Tablo 1: Akut bronşiyolitte sınıflandırma *

	Hafif	Orta	Ağır
Apne	Yok	Yok	Var
Solunum sayısı/dakika	<50	50-70	>70
Nabız/dakika	<140	140-160	>160
Retraksiyonlar	Hafif	Orta	Ağır
SaO2	>%93	%86-92	<%85
Siyanoz	Yok	Yok	Var
SaO2>%93 tutabilmek için gerekli FiO2	-	%21-40	>%40

FiO2: İnspire edilen havadaki oksijen yüzdesi

* Hasta, saptanan en ağır kriterin uyduğu ağırlık derecesinde kabul edilmelidir. (Solunum sayısı 48/dk olan bir bebeğin apnesi de oluyorsa ağır bronşiyolit, oksijen saturasyonu %90 ise orta dereceli bronşiyolit olarak değerlendirilmelidir.)

Hastaneye sevk kriterleri: Akut bronşiyolitli hastada aşağıdaki bulgulardan birinin olması, hastaneye sevkini gerektirir (13,17,18):

- Üç aydan küçük bebekler
- Gestasyonel yaşı 34 haftadan küçük, bir yaşın altında olanlar
- Orta-ağır dereceli bronşiyolitler

Hastaneye yatış kriterleri:

- Ağır bronşiyolitler
- Toksik görünümlü bebekler
- Takipnesi olan, beslenemeyen bebekler
- Oral alımı yetersiz olanlar (Olağan günlük oral alımının en az %50 azalması)
- Altta yatan kardiyopulmoner hastalık, immun yetmezlik
- Akciğer grafisinde atelektazi, konsolidasyon varlığı
- Sosyal endikasyon

35 haftadan küçük doğanlar veya üç aydan küçük bebeklerde hastalık hızlı ilerleyeceği ve daha ağır seyredeceğinden, bu bebeklerin hastaneye yatış endikasyonlarında daha dikkatli olunmalıdır.

Beslenme: Bebeğin hidrasyonunun sağlanması ve beslenmesinin devamı çok önemlidir.

Hastanede izlenen hastalarda:

- Solunum sayısı 60/dakikanın üzerinde devam ediyorsa,
- Persistan kusma varsa,
- Oksijen tedavisine karşın, beslenme sırasında oksijen saturasyonu %90'ın altına düşüyorsa,
- Emme, yutma ve nefes alma eşgüdümlü yapılamıyor, solunum sıkıntısı artıyorsa

aspirasyon riski nedeniyle ağızdan beslenmeye ara verilir. Bu bulgular düzeline en kısa sürede yeniden ağızdan beslenmeye başlanmalıdır (13,17).

2.1.8. Tedavi

Akut bronşiyolitın tedavisi destekleyici olup, hastanın hidrasyonunun ve oksijenasyonunun düzenlenmesi ve komplikasyonlar açısından yakından izlenmesini içerir. Buhar tedavisi ve öksürük şuruplarının tedavide yeri yoktur (13) (Şekil 1).

Ø Oksijen tedavisi:

Hastalığın ağırlığının belirlenmesinde ve izleminde oksijen saturasyonunun takibi gerekmektedir. İzlem, ülkemizde de pek çok yerde yaygın olarak kullanılan nabız oksimetresi ile yapılabilir. Oksijen saturasyonunun %93'ün üzerinde tutulması önerilmektedir. Böylece doku hipoksisi, kalp yetmezliği ve solunum sıkıntısının artması önlenmiş olur. Bu amaçla nemlendirilmiş oksijen nazal kanülle (maksimum akım hızı 2L/dakika) ya da maske ile (minimum akım hızı 4L/dakika) verilebilir. Beslenmesi de iyi olan bir bebekte oksijen saturasyonunun oda havasında %93'ün üzerinde seyretmesi taburcu olması için yeterlidir (13,18).

Ø Beslenme ve sıvı tedavisi:

Bebekler tolere edebildiği sürece beslenmeye devam edilir. Özellikle anne sütünün devamı çok önemlidir, ancak orta ve ağır bronşiyolitli hastalarda beslenmeyle solunum sıkıntısının artması ve aspirasyon riski nedeniyle intravenöz sıvı tercih edilmelidir. Bu bebekler kalp yetmezliği, dehidratasyon ve uygunsuz antidiüretik hormon sendromu açısından takip edilmelidir (13).

Ø Bronkodilatör tedavi:

Akut bronşiyolitte semptomlar astıma benzediği için tedavide ilk kullanılan ajan bronkodilatörler olmuştur, ancak inhale salbutamolün hafif ve orta ağırlıktaki bronşiyolitlerde kinik skoru düzeltmede kısa süreli orta derecede etkili olduğu, fakat oksijen saturasyonunu düzeltme, hastaneye yatışı engellemede ve hastaneden çıkmayı kolaylaştırmada iyileştirici etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Çünkü mukozal ödem, sekresyonların artışı, intraluminal inflamatuvar hücreler gibi faktörlerinin tümünün AB'de bronş obstrüksiyonuna neden olduğu bilinmektedir (13). İn hale salbutamol tedavisinin bazen hipoksiyi ve solunum sıkıntısını arttırıcı etkisi de olduğu bilindiğinden hışıltısı olan hastalarda tek doz denenebilir, fayda görmüyorsa

tekrarlanmamalıdır (13,14,17). İpratropium bromidin de AB’de iyileştirici etkisinin olmadığı bilinmektedir (19).

Ø İnhale epinefrin tedavisi:

Rasemik epinefrin alfa adrenerjik etkisiyle bronşiyol duvarında vazokonstriksiyon yaparak ödem ve mukus oluşumunu azaltır. Bu etkilerinden dolayı AB tedavisinde inhale olarak denenmeye başlanmış, ilk çalışmalarda etkisi olumlu bulunurken, daha sonraki daha geniş kapsamlı çalışmalarda inhale rasemik epinefrinin sadece kısa süreli iyileştirici etkisinin olduğu, acil servisten daha çabuk taburcu edilmesine katkı sağladığı, ancak daha sonraki klinik skor, oksijen durumu, hastaneye yatış gereksinimi, hastanede yatış süresi, relaps oranı üzerine plasebo ya da albuterol tedavisinden daha etkin olmadığı gösterilmiştir (13,20).

Bu çalışmalar sonucunda, AB tedavisinde inhale epinefrinin rutin kullanımı önerilmemektedir. Ancak kısa süreli olumlu etkilerinden dolayı, acil servise başvuran veya yatırılan orta-ağır bronşiyolitli vakalarda inhale salbutamol tedavisine alternatif olarak denenebilir. Ülkemizde rasemik epinefrin bulunmamaktadır, yerine adrenalin (L-epinefrin, 1/1000’lik adrenalin ampul, 1mg/1mL) taşikardi, aritmi ve hipertansiyon yapıcı etkilerine dikkat edilerek nebulizatörle verilebilir.

ØKortikosteroid tedavisi:

Akut bronşiyolitte bronşiyal inflamasyonun semptomlara yol açtığı bilindiğinden kortikosteroid tedavisi de denenmiştir. Çalışmalarda, AB tedavisinde sistemik veya inhale kortikosteroidlerin kısa ve uzun dönemli sonuçlar üzerine iyileştirici etkisinin olmadığı saptanmıştır (13,21).

ØAntibiyotik tedavisi:

Antibiyotikler antiviral etkisi olmadığı bilinmesine rağmen AB’de sık kullanılan ilaçlardır. Etkenin virüslere bağlı olduğu bilinen AB’de tedavi edici etkisi olmadığı gibi, sonradan gelişebilecek bakteriyel enfeksiyonların gelişiminde de koruyucu etkisi saptanmamıştır (13).

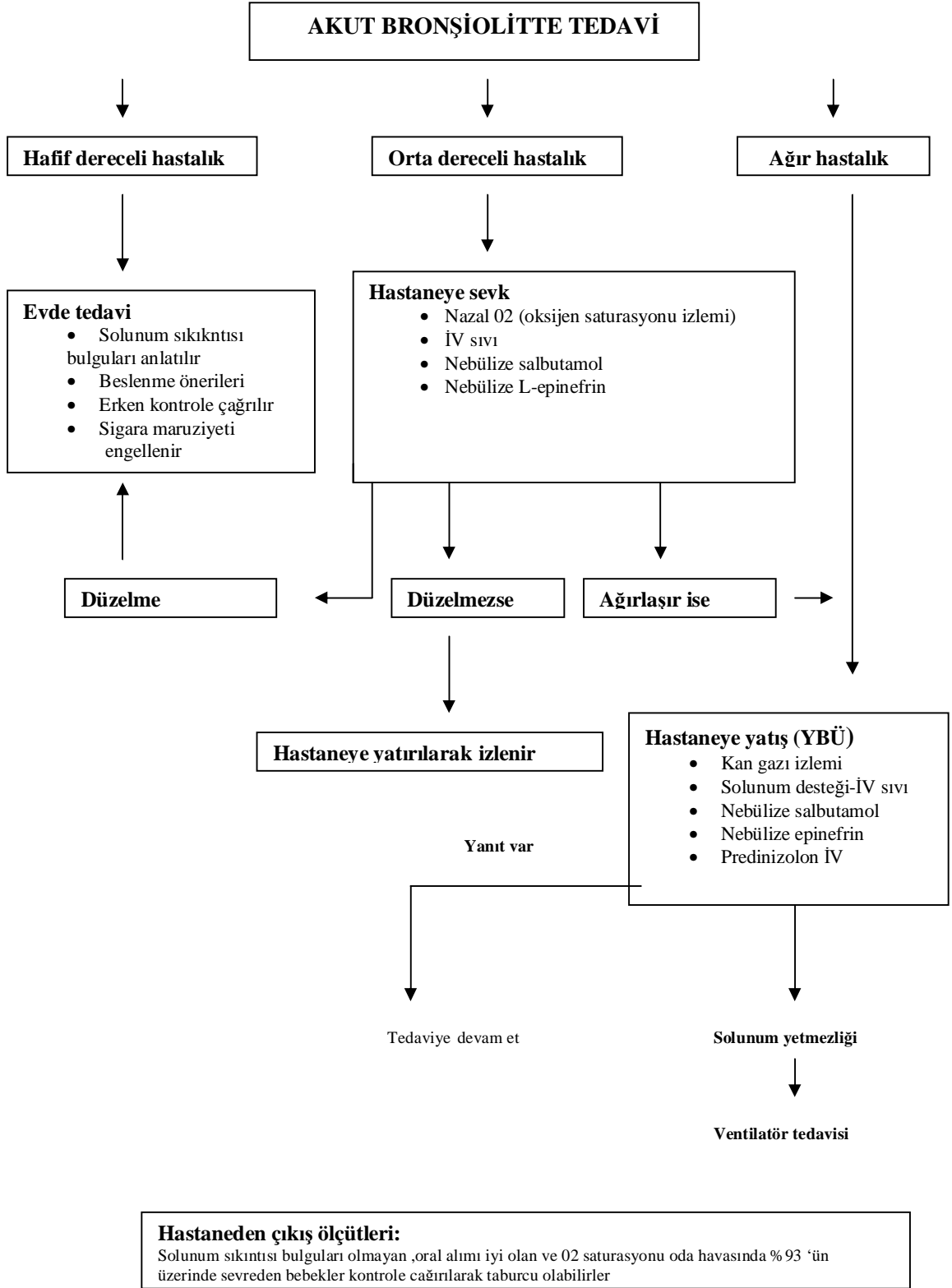
ØYeni tedaviler:

Akut bronşiyolitte bronkodilatör ve immunmodülatör olan nitrik oksitin, solunum yolu epitelinin rejenerasyonunu hızlandıran vitamin A'nın, immunmodülatör etkili IFN-alfa'nın, intravenöz Ig'nin ve rekombinant human DNase'nin tedavide etkili olmadığı gösterilmiştir (22,23).

Montelukast ve klaritromisin kullanımıyla ilgili az sayıda hasta grubunda yapılmış birer çalışma mevcut olup, günümüzde etkili olduğunu gösteren yeterli veri yoktur (24,25).

Helyum ve oksijen gazlarının karışımıyla elde edilen inhale Heliox tedavisi ile yapılan randomize kontrollü çalışmalarda entübe olmayan ağır bronşiyolitli hastalarda bu karışımın yoğun bakımda yatış süresini kısalttığı, klinik skorda düzelmeye yol açtığı saptanmıştır (26). Heliox ülkemizde bulunmamaktadır.

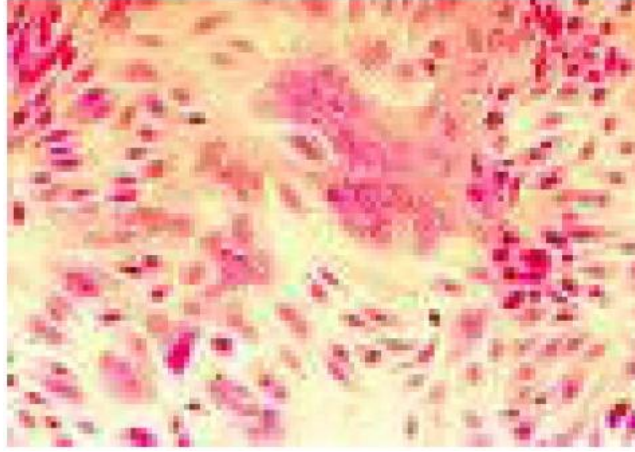
Mekanik ventilatör ihtiyacı olan AB'li hastalarda sürfaktan miktarının ve fonksiyonunun azaldığı bilinmektedir. Respiratuar sinsityal virüs için opsonizasyon görevi de gören sürfaktanın replasmanı ventilatör ve yoğun bakımda kalış süresini kısaltmıştır (27).



Şekil 1: Akut bronşiolit tedavi şeması

2.2. RESPIRATUAR SİNSİTYAL VİRÜS

İlk kez 1956 yılında Morris ve arkadaşları tarafından; halsizlik, burun akıntısı ve nezle şeklinde solunum yolu hastalığı bulguları olan şempanzelerden birinde RSV izole edilmiş ve bu ajan şempanze koriza ajanı [(chimpanzee coryza agent (CCA)] olarak adlandırılmıştır. Virüsle enfekte hücre kültürlerinde yaygın sinsisyumların geliştiğinin görülmesiyle de virüse 'Solunum Sinsisyal Virüs' ismi verilmiştir (4) (Şekil 2)

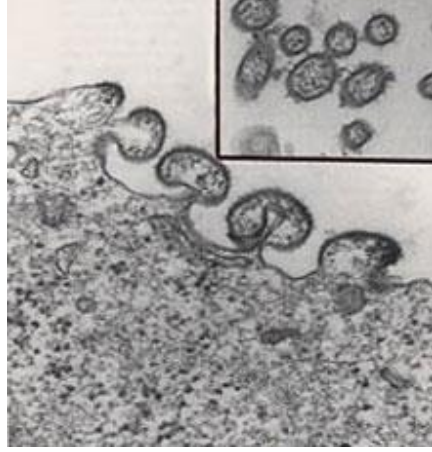


Şekil 2: Hücre kültüründe RSV sinsitya formasyonu

2.2.1. Virüsün Mikrobiyolojik Özellikleri

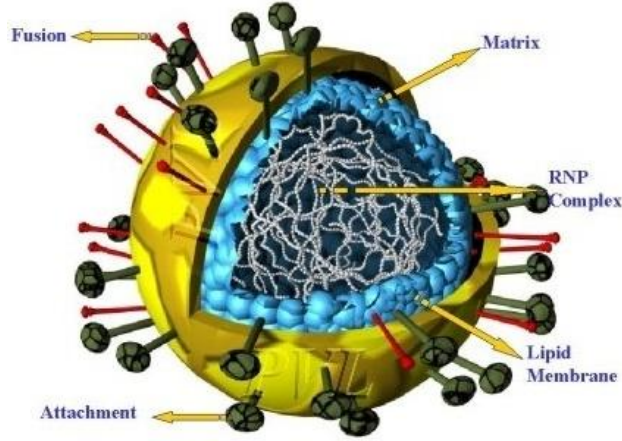
Respiratuar sinsityal virüs, Paramyxoviridae ailesinden pneumovirüs cinsi içinde yer alan segmentsiz, tek zincirli, negatif polariteli bir ribonükleik asit (RNA) virüsüdür. Paramyxoviridae ailesinde yer alan Paramyxovirüs (parainfluenza virüs Tip 1, 2, 3, kabakulak virüsü) ve Morbillivirüsden viral heliksin çapı, gen sayısı ve yüzey glikoproteinlerinin yapılarındaki farklılıklarla ayrılır.

Respiratuar sinsityal virüs, bazı paramiksovirüslerde bulunan hemaglutinasyon ve nörominidaz aktivitelerine sahip değildir (4) (Şekil 3).



Şekil 3: Respiratuar sinsityal virüsün elektron mikroskopik fotoğrafı

Respiratuar sinsityal virüs genomu 10 viral protein kodlar. Bu proteinlerin sekiz tanesi yapısal proteindir, hem infekte hücrede, hem de virionda bulunur. G (tutunma proteini) ve F (füzyon proteini) proteini yüzey proteini olup major antijenik determinantı oluşturur. Ayrıca bu iki protein virüsün enfektivitesi ve patogenezinde rol oynar. G proteini viral tutunmayı sağlar, F proteini ise virüsün penetrasyonunu ve sinsisyum formasyonu oluşumunu sağlar. Küçük hidrofobik protein (SH), matrix protein (M) ve M2 protein zarfla ilişkili proteinlerdir. Nükleoprotein (N), fosfoprotein (P) ve büyük nükleoprotein (L) ise RSV nükleokapsidinde yer alır. NS1 ve NS2 yapısal olmayan proteinlerdir ve sadece enfekte hücrelerde bulunur, virionda bulunmaz. Bu yapısal olmayan proteinlerin fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir. RNA sentezinin regülasyonunda rolleri olabileceği ileri sürülmektedir (4).



Şekil 4: Respiratuar sinsityal virüsün şematik şekli

G proteini; glikoprotein yapısında olup virüsün hücreye bağlanmasından sorumludur. Nötralizan antikorların oluşumuna yol açar. Respiratuar sinsityal virüsün G proteinine karşı oluşan antikorlar, virüsün hücreye tutunmasını önler (4).

Günümüzde RSV'nin yapısal proteinlerine karşı monoklonal antikorlar kullanılarak virüsün iki major antijenik alt grubu tanımlanmıştır: Subtip A ve subtip B olarak adlandırılan bu alt tipler aşı gelişi ve tanıda monoklonal antikorların kullanımı açısından önemlidir. Subtip A ve B arasında özellikle glikoprotein G bakımından antijenik farklılık saptanmıştır (4).

2.2.2. Virüsün Dirençliliği

Respiratuar sinsityal virüs sıcaklık ve pH değışikliklerine çok hassastır. Enfektivitesi 55 °C'de beş dakikada %10'a düşerken, 37°C'de bir saat kadar stabil kalır. Asit pH virüsü olumsuz etkiler. Optimal pH 7,5'tir. Virüs eter, kloroform ve çeşitli deterjanlarla (%0,1'lik sodyum deoksikolat, sodyum dodesil sülfat ve triton X-100) çabuk inaktive olur.

Respiratuar sinsityal virüsün canlılığı kısmen ortamın nemine de bağlı olup hastanın solunum yolu salgılarında, oda sıcaklığında gözeneksiz yüzeylerde (masa, stetoskop vs) 3-30 saat

canlılığını sürdürebilir. Gözenekli yüzeylerde (giysi veya kağıt gibi) ise canlı kalma süresi bir saatten azdır (28).

2.2.3. Epidemiyoloji

Respiratuar sinsityal virüs tüm dünyada yılda üç-beş milyon kişide hastalık yapar. Her yıl sonbahar sonu ve kış aylarında salgın yapan bir virüsdür. Salgınlar genellikle sonbahar sonu- ilkbahar başı arasında dört ay sürer. Bu dönem RSV mevsimi diye adlandırılır. İnfluenza salgınları ile kıyaslandığında daha tedrici olarak başlar ve azalır (14).

Amerika Birleşik Devletleri'ndeki süt çocuklarının en az %50'si ilk yıllarında, geri kalanları da ikinci yıllarının sonunda RSV ile enfekte olur. Anneden geçen antikorlar nedeniyle ilk iki ayda enfeksiyon nadirdir (29,30).

2.2.4. Patogenez

Respiratuar sinsityal virüs için inkübasyon dönemi genellikle iki-yedi gün kadardır. Virüs solunum yolu sekresyonlarına direk temas ile veya damlacık yolu ile bulaşır. Virüsün burun veya göze bulaşması, ağız yoluyla alımından daha etkilidir. Virüs atılımı, semptomların başlamasından birkaç gün önce başlar ve genellikle iki-yedi gün sürer (29).

Virüs nazofarenksde replike olur ve solunum yolu epitelinin tümü boyunca yayılır. Virüsün üst solunum yolundan alt solunum yoluna yayılma mekanizması net değildir. Virüs sitoplazmalar arasında kurulan köprülerle hücreden hücreye geçebilmektedir. Ancak bu yolun in vivo ana mekanizma olmadığı düşünülmektedir. Başka olası bir mekanizma da enfeksiyonun alt solunum yoluna makrofajların göçü yoluyla taşınmasıdır. Alt solunum yoluna yayılan virüs bronşiyolit ve pnömoniye yol açar.

Alt solunum yolu enfeksiyonu (ASYE) belirtileri, burun akıntısını takiben bir-üç gün içinde başlar. Bu dönemde virüs bronş ve bronşiyollere yayılır. Alt solunum yolunda virüs titresi bilinmemektedir. Otopsi çalışmalarında fatal RSV pnömonisinde alt solunum yollarında antijenin titresinin RSV bronşiyolit olgularına kıyasla daha fazla olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada antijenin derin tabakalara penetre olmadığı ve respiratuar epitelin yüzeyel tabakalarına sınırlı kaldığı gösterilmiştir. Bağışıklık yetersizliği olan bebek ve erişkinlerde fatal RSV enfeksiyonları tanımlanmıştır. Bu olgularda virüsün solunum yolunun dışına da yayıldığı; böbrek, karaciğer, miyokard gibi organların da tutulduğu gözlenmiştir (31).

2.2.5. Klinik

Respiratuar sinsityal virüs; iki yaşından küçük çocuklarda akut bronşiyolit, pnömoni ve üst solunum yolu enfeksiyonu gibi birkaç farklı klinik duruma neden olabilir. Enfeksiyonun şiddeti hafif hastalıktan, yaşamı tehdit eden ciddi hastalığa kadar değişir (4).

Respiratuar sinsityal virüs bronşiyolitinde klinik, akut bronşiyolit kliniğinde anlatıldığı gibidir. Diğer viral enfeksiyonlardan klinik olarak ayırmak zordur.

Altı haftalıktan küçük bebeklerde alt solunum sistemi belirtileri hafif veya şiddetli olabilir, fakat sistemik belirtiler hakimdir ve apne görülebilir. Bu bebeklerin çoğu hafif ateş, iritabilite, letarji, emmeme gibi belirtilerle bronşiyolit veya pnömoni tanısından çok sepsis ön tanısı ile yatırılırlar. Respiratuar sinsityal virüs; bebeklerin %10-20'sinde, yenidoğanların %35'inde apneye neden olur. Özellikle uyku apnesi süresini ve sıklığını artırır (4,14).

Respiratuar sinsityal virüs enfeksiyonu bronşiyolit ve bronkopnömoni dışında farenjit, konjonktivit, laringotrakeit ve akut otitis media tablosuna da neden olabilir. Yetişkin ve büyük çocuklarda görülen enfeksiyonlar genellikle tekrarlayan karakterde olup üst solunum yolu enfeksiyonu ve bazen de trakeobronşit şeklindedir (4).

Respiratuar sinsityal virüs nadiren santral sinir sistemi hastalığı ile ilişkilidir, ancak bu hastalıklardaki patogenezi net değildir. Menenjit ve myelit nedeniyle tedavi gören bazı çocukların beyin omurilik sıvısında RSV spesifik antikor saptanmıştır. Virüs bazen miyokardit ve tam kalp bloğu gelişimine neden olabilir (32).

2.2.6. Bağışıklık

Respiratuar sinsityal virüs enfeksiyonuna karşı doğal olarak kazanılan immünite tam değildir. Rekürren enfeksiyonlar sıktır. Fakat primer enfeksiyondan sonra şiddetli ASYE nadiren oluşur (32). Yetişkinler RSV enfeksiyonuna karşı tam bağışıklığa sahip değildirler. Klinik genellikle soğuk algınlığı şeklindedir. Primer enfeksiyon sırasında oluşan nötralizan antikorların titresi ile reenfeksiyon arasında ilişki yoktur. Bu antikorlar kısa süreli olmaları nedeni ile reenfeksiyona karşı koruma sağlamazlar (4).

Ancak geçen antikorlar enfeksiyona karşı tam koruma sağlamazlar. Ancak bu antikorların bebekleri; ciddi RSV enfeksiyonlarına karşı koruduğu düşünülmektedir (14).

Respiratuar sinsityal virüs spesifik IgM düzeyi primer enfeksiyondan sonra beş-on gün içinde artar ve bir-üç ay kadar serumda saptanabilir düzeyde kalır. Altı ayın altındaki çocuklarda

IgM antikor titresi daha düşüktür. Respiratuar sinsityal virüs spesifik IgG antikorunu ise semptomların başlangıcından itibaren 20-30 gün içinde maksimum seviyeye ulaşır ve daha uzun süre pozitif kalır. Primer enfeksiyondan bir yıl sonra IgG düzeyi azalmaya başlar (4).

2.2.7. Tanı

Klinik tanı

Virüslerin çoğu benzer klinik belirtilere yol açtığından sadece fizik muayene ile RSV enfeksiyonu tanısının konulması imkansızdır. İki yaş altında çocuklarda en sık bronşiyolite neden olan virüs RSV'dir (14).

Laboratuvar tanı

Respiratuar sinsityal virüse bağlı ASYE olan çocuklarda tanı; klinik ve epidemiyolojik bulgular temel alınarak konur. Ancak kesin tanı, hastaların solunum yollarından alınan örneklerden hücre kültüründe virüsün izolasyonu ile veya direkt floresan test (DFT) ve enzim-linked immunosorbent assay (ELISA) gibi hızlı tanı testleri kullanılarak viral antijenin gösterilmesi ile konabilir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile RSV genomu saptanabilir. Ayrıca ELISA ve indirekt floresan test (IFT) gibi serolojik testlerle RSV antijenlerine karşı oluşan antikor yanıtı gösterilebilir.

Tanı için; burun, boğaz ya da nazofarengeal sürüntü örnekleri veya yüksek oranda virüs içeren burun yıkama sıvısı alınmalıdır.

Ø Hücre kültürü

Hücre kültüründe izolasyon, viral enfeksiyonların tanısında 'altın standart' olarak tanımlanan, en duyarlı ve en özgül yöntemdir. Ancak zaman alıcıdır. Bu nedenle daha hızlı sonuç veren kültür yöntemleri geliştirilmiştir. Santrifüj kültür yöntemi ile özellikle yavaş üreyen virüslerin tanısı mümkün olabilmektedir



Şekil 5 : RSV için tipik sitopatik etki gözlenmiş hücre kültürünün görünümü

Santrifüj ile kültür (Shell-Vial yöntemi)

İçinde RSV'nin de yer aldığı bazı virüslerin tanısında kullanılan bir çeşit hızlı hücre kültürü yöntemidir. Konvansiyonel hücre kültürü kadar sensitif olması nedeniyle daha avantajlıdır (33).

Ø Viral antijen tayini

Viral antijen tayini ile canlı olmayan virüsler saptanabilir, kültüre göre daha hızlı sonuç alınır ve maliyet/etkinlik oranı daha düşüktür. Hızlı tanı, hastane enfeksiyonlarının ve gereksiz antibiyotik kullanımının önlenmesi, spesifik antiviral tedavi kullanımına rehberlik etmesi açısından önemlidir. Ayrıca aşı çalışmaları için de epidemiyolojik bilgi toplanmasını sağlar (34).

Viral antijen tayininin en önemli avantajı hızlı oluşudur. Sonuç 30 dk ile üç saat içinde çıkar. Antijen tayini için virüsün izolasyonu gerekli değildir. Bu nedenle uzun inkübasyona gerek yoktur. Yöntem virüsün çoğaltılmasına dayanmadığı için örneğin transportu ve işleme alınması kültür yöntemindeki kadar zor değildir.

Viral antijen testlerinin en önemli dezavantajı, bu yöntemlerin virüs izolasyonu kadar duyarlı olmayışıdır. Kültür ile karşılaştırıldığında sensitivitesi %53-96 arasında değişmektedir.

Viral antijen tayininde kullanılan testler:

- ✓ ***İndirekt floresan antikor ve direkt floresan antikor testi:*** Bu testler respiratuar sekresyon örneklerinin bir lama yayılıp tespit edildikten sonra indirekt veya direkt floresan antikor boyalarıyla boyanıp floresan mikroskopla değerlendirilmesine dayanır. İndirekt floresan

antikor testi 1974 yılından bu yana kullanılmaktadır. 1985'den beri monoklonal anti-RSV antikorlarının kullanımı ile de DFT hızlı tanıda standart test haline gelmiştir. Respiratuar sinsityal virüs ile enfekte epitel hücrelerinin sitoplazmalarında büyük, inklüzyon benzeri cisimciklerin görülmesi pozitif sonuç olarak değerlendirilir (35-37).

- ▼ Enzim immun assay (EIA) yöntemi: Respiratuar sinsityal virüs antijeninin saptanmasında son yıllarda EIA teknikleri immun floresan antikör boyama tekniklerinin yerini almaktadır. Kantitatif solid faz ya da kalitatif membran EIA kitleri kullanılır. Solid faz EIA, anti-RSV antikoru ile kaplı solid bir desteğin RSV antijenini yakalaması esasına dayanır ve sonuçlar spektrofotometre ile kantitatif olarak okunur. Membran EIA ise hasta başı test olarak geliştirilen daha basit ve spektrofotometre gerektirmeyen bir yöntemdir. Respiratuar sekresyon örneği bir membrandan geçirildikten sonra üzerine anti-RSV antikoru eklenir. Örnekte RSV antijeni var ise renk değişikliği olur ve bu pozitif sonuç olarak değerlendirilir. Solid faz EIA'larda sonuçlar objektif spektrofotometre ile okunur, DFT gibi hem canlı hem cansız virüsün antijenini saptayabilir (36,37).
- ▼ İmmünokromatografik yöntem: Bu yöntem, nazofarengeal aspirasyon veya sürüntü örneklerinde RSV füzyon proteininin kalitatif olarak saptanmasında kullanılır. Bu testin duyarlılığı %85-95, özgünlüğü %95-99 arasında değişmektedir (38).
- ▼ Polimeraz zincir reaksiyonu : Viral nükleik asit dizinlerinin amplifikasyonuna dayanan bir yöntemdir. Respiratuar sinsityal virüs genomunun, F glikoproteininin F1 subünitesini kodlayan bölgesine özgü oligonükleotid primerleri kullanılarak geliştirilmiş olan bu tekniğin duyarlılığının ve özgünlüğünün yüksek bulunduğunu bildiren çalışmaların yanında, duyarlılığının yüksek olduğunu fakat özgünlüğünün düşük olduğunu bildiren farklı çalışmalar da vardır (39).

Ø Serolojik testler:

Akut ve konvelasan dönemde alınan serum örneklerinde antikör artışına dayanan serolojik tanı zaman alıcı olduğu için kullanışlı değildir. Ayrıca küçük çocuklarda serolojik yanıt zayıf olabilir. Altı ayın altındaki çocukları kapsayan bir çalışmada serolojik yöntemlerin RSV ile

enfekte bebeklerin sadece %41'ini saptadığı bildirilmiştir. Serolojik tanıda EIA sıklıkla kullanılan yöntemdir (40).

Enfeksiyonların serolojik tanısı; klasik olarak spesifik IgG ve IgM cinsi antikorların tayinine dayanır. Yeni bir antijenle karşılaşma, IgM cinsi antikorların oluşmasına yol açar ve spesifik IgM cinsi antikorların varlığı primer enfeksiyon olarak değerlendirilir. İmmunglobulin M'nin olmadığı IgG pozitifliği ise geçirilmiş enfeksiyonun göstergesi olarak kabul edilir (4).

2.2.8. Tedavi

Akut bronşiyolit tedavisinde anlatılmış olan genel tedavi prensipleri doğrultusunda yapılır. Tedavi destekleyicidir. Hastanın oksijenasyonunun ve hidrasyonunun düzenlenmesi esasına dayanır. Bronkodilatör, inhale epinefrin ve sistemik steroid tedavisi denenebilir. Seçilmiş olgularda ribavirin kullanılabilir.

Ribavirin, RSV'ye karşı geliştirilen virostatik bir antiviral ajandır. Viral mRNA ekspresyonunu bozarak viral protein sentezini inhibe eder. İnhalasyonla kullanılır ve bronşiyollere ulaşabilmesi için 1µm çaplı partiküllere ayrılması gerektiğinden kullanımı için özel nebulizatöre ihtiyaç vardır. Tedavi 6 g/gün, üç-yedi gün boyunca, günde 12-18 saat yapılır. Çevredeki hamile sağlık personeli için teratojeniktir (13). Uygulama problemleri ve çok pahalı oluşu nedeniyle kullanımı kısıtlanmıştır. Yapılan randomize kontrollü çalışmalarda RSV bronşiyolitli entübe bebeklerde ventilatörde kalış süresini kısalttığı, ancak mortalite üzerine etkili olmadığı gösterilmiştir (27,41,42).

2.2.9. Korunma

Respiratuar sinsityal virüse bağlı ASYE'lerin tedavisi aslında sadece destekleyici tedavidir. Bu nedenle hastalığın kontrolünde korunma önem kazanmaktadır. El hijyenine dikkat edilmesi, ellerin antiseptik solüsyonlarla yıkanması, kontamine yüzeylerin ve oyuncakların temizlenmesi gibi genel temizlik kurallarının uygulanması hastalıktan korunmada büyük önem taşımaktadır. Ayrıca kalabalık, sigara içilen ortamlardan uzak durma enfeksiyondan korunmada önem taşır. Anne sütü alımı özellikle ilk aylarda ciddi RSV enfeksiyonuna karşı koruyucu etki sağlar (14).

Korunma için etkili bir aşı mevcut değildir. 1960'lı yıllarda formalinle inaktive alum-presipite aşı üretilmiştir. Bu aşı ile immunize edilenlerde F glikoproteinine karşı yüksek titrede antikor gelişmesine rağmen bu antikorlar düşük düzeyde nötralizan aktivite göstermiştir.

Günümüzde F-G glikoprotein kombine aşısı ile cotton ratlarda yapılan çalışmalar ümit vericidir. Halen hayvan modelleri üzerinde aşı geliştirme çalışmaları devam etmektedir (43).

Anne sütünde bulunan özgül anti-RSV IgA'ların yenidoğanlarda RSV'ye karşı tam bir bağışıklık sağlamadığı bilinmektedir. Özellikle prematüre bebeklerde, kronik akciğer ve kalp hastalığı olan çocuklarda uygulanmak üzere yeni immunoterapötik ajanlar bulunmuştur. Bunlardan biri, saflaştırılmış insan kaynaklı IgG olan RespiGAM'dır. Respiratuar sinsityal virüse karşı koruyucu antikör içerir ve intravenöz olarak uygulanır. Hastalığın şiddetli formlarının oluşumunu azalttığı yolunda çalışmalar vardır. Bu nedenle yüksek risk grubundaki hastalara uygulanması önerilmektedir. RespiGAM'ın dezavantajları arasında; uygulama yönteminin güç olması ve uygulamanın uzun sürmesi, uygulama sonrası canlı aşı yapımının gecikmesi ve kan kaynaklı enfeksiyöz patojenleri bulaştırma riski sayılabilir (44). Bu uygulama; yerini 1998 yılında Food and Drug Administration (FDA) tarafından onaylanan RSV monoklonal antikörün intramusküler formu olan Palivizumaba (Synagis®) bırakmıştır. Respiratuar sinsityal virüsün F proteininin A epitopuna karşı geliştirilmiş insan kaynaklı monoklonal bir antikördür. F glikoproteinine bağlanarak virüsün diğer epitel hücrelerini enfekte etmesini önler. Uygulanışı RespiGAM'dan daha kolay ve yan etkileri daha azdır (45). Respiratuar sinsityal virüs sezonu başlangıcından sonuna kadar beş ay boyunca 15 mg/kg/doz yapılması önerilir. Yüksek riskli bebeklerde uygulanması ile RSV nedeniyle hastaneye yatış oranını %55 azaltmıştır ancak mekanik ventilatör gereksinimi, hastanede kalış süresi ve mortaliteye etkisi olmadığı gösterilmiştir (22).

RSV profilaksi endikasyonları (13)

Ü İki yaşın altında, medikal tedaviye ihtiyaç gösteren BPD'si olan bebeklere bir ya da iki RSV sezonu boyunca profilaksi uygulanması önerilir

Ü Bronkopulmoner displazisi olmayan bebeklerden;

§ 28 hafta ya da daha erken doğanlar, RSV sezonu başında ilk bir yaş içinde ise

§ 29-32 haftalık doğanlara, RSV sezonu başında altı aydan küçük ise önerilebilir.

2.2.10. Komplikasyonlar

Alt solunum yolu enfeksiyonu sonrası sekonder bakteriyel enfeksiyon nadir karşılaşılan bir komplikasyondur. Respiratuar sinsityal virüse bağlı ASYE nedeni ile hastaneye yatırılan bebekler

ve çocuklar arasında mortalite %0,5-1,5 arasında değişmektedir. Oysa solunumsal, nörolojik veya kardiyolojik problemi olan ya da immun yetmezliği olanlarda %37 gibi daha yüksek oranlarda mortalite bildirilmiştir (46).

Respiratuar sinsityal virüs ile enfekte bebeklerde apne %16-20 oranında bildirilmiştir. Apne özellikle prematüre bebeklerde görülmektedir (14). Ayrıca RSV'ye bağlı ASYE olan küçük bebekler, aspirasyon yönünden artmış risk altındadır (47).

Hayatın erken döneminde geçirilen RSV ile ASYE'nin belki de en sık karşılaşılan komplikasyonu tekrarlayan hışıltı ataklarıdır. Bazı çalışmalarda tekrarlayan hışıltı ataklarının sıklığı %50 olarak bildirilmektedir (5,48).

Çalışmalarda ayrıca, RSV enfeksiyonunun in vivo ve in vitro olarak transkripsiyon faktörlerini aktive ettiği ve bunun sonucunda IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-11 gibi proinflamatuvar sitokinlerin ve IL-8, RANTES, makrofaj inflamatuvar protein-1 α gibi kemokinlerin salındığı gösterilmiştir (49). Reaktif hava yolu hastalığı ile RSV enfeksiyonu arasındaki bağın bu inflamatuvar sitokinlerle ilgili olduğu düşünülmektedir.

Santral sinir sistemi bozuklukları (menenjit, myelit, ataksi, hemipleji) ve kardiyak patolojiler (myokardit, aritmiler) de nadiren bildirilmiştir (50).

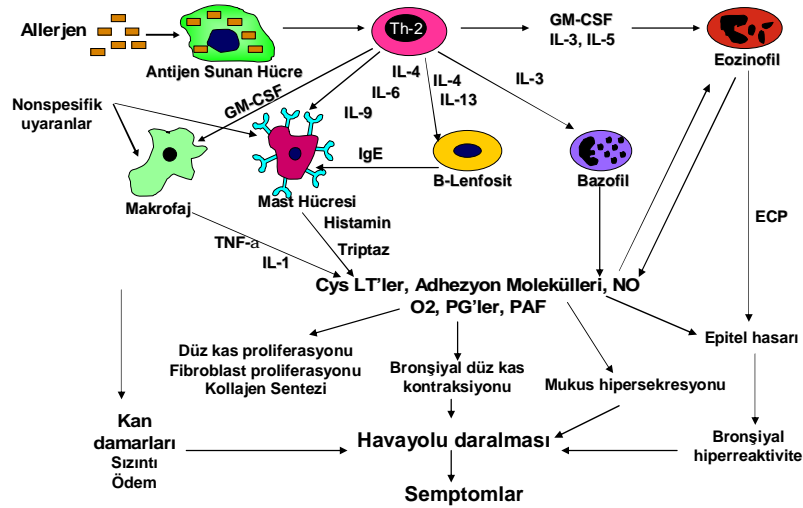
2.2.11. Prognoz

Respiratuar sinsityal virüs, tüm dünyada yaygın bir enfeksiyon olup tüm yaş gruplarında hastalık oluşturabilir. Büyük çocuk ve yetişkinlerde hastalık hafif seyrederek ve çoğunlukla komplikasyonsuz olarak iyileşir. Oysa bebeklerde hastanede bakım gerektirecek ağırlıkta akut ASYE'ye sebep olabilmektedir. Yaşın yanında cinsiyet ve sosyoekonomik faktörler de RSV'ye bağlı hastalığın ortaya çıkışında etkili faktörlerdir (51).

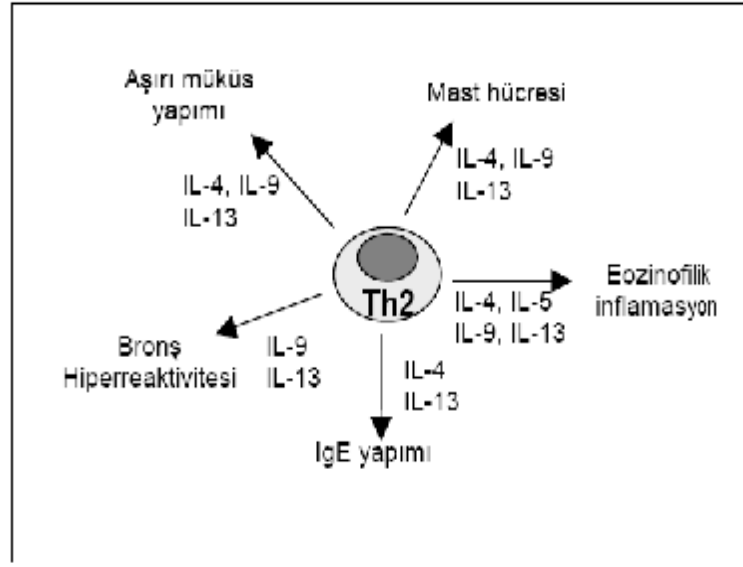
Kardiyopulmoner hastalık ve immun yetmezlik gibi altta yatan hastalığı olan bebeklerde, prematürelere RSV enfeksiyonu daha ağır seyretmektedir. Bu nedenle RSV enfeksiyonunda ölüm daha çok altta yatan hastalıkla ilişkilidir (14).

2.3. Allerjik hastalıklarda immunopatogenez

Allerjik inflamasyon antijen uyarımı sonucu mast hücreleri ve bazofillerin IgE aracılığıyla aktivasyonu ve eozinofillerden sitokin salınımı ile başlar. CD4+ Th lenfositlerin alt grubu olan Th1 ve Th2, immunolojik olarak zıt etkiye sahiptir. Allerjenik yanıtta temel olay Th2 tipi lenfositlerin aktivitesinin artışı sonucu IL-4, IL-5, IL9, ve IL-13 üretiminin artmasıdır. İnterlökin-4 ve IL-6 antijen sunan hücrelerin; Th0 hücreleri aktive ederek Th2 hücrelerine farklılaşmasına ve dolayısıyla B lenfositlerden IgE yapımının artmasına neden olur. İnterlökin-5 ise eozinofilleri aktive ederek kemoatraktanların eotaksin, monosit kemotaktik protein-1 (MCP) ve MCP-5'in etkisi ile inflamasyon alanına taşınmasını sağlar. İmmunglobulin E mast hücresi ve bazofiller üzerindeki yüksek affiniteli reseptörün (FcRI) Fc bölgesine ve B hücreleri üzerinde düşük affiniteli reseptöre bağlanır (52). İmmunglobulin E aracılı erken reaksiyon histamin, triptaz, bradikinin, lökotrienler (LTC4, LTD4 ve LTE4), prostaglandinler (PGF2α ve PGD2) ve platelet aktive edici faktör (PAF) gibi lipid mediyatörlerin salınımıyla karakterizedir. Sonuçta özellikle solunum yollarında vazodilatasyon, vasküler permeabilite artışı, mukozal ödem, mukus sekresyonunun artışı ve düz kas kontraksiyonu gelişir (Şekil 6,7).

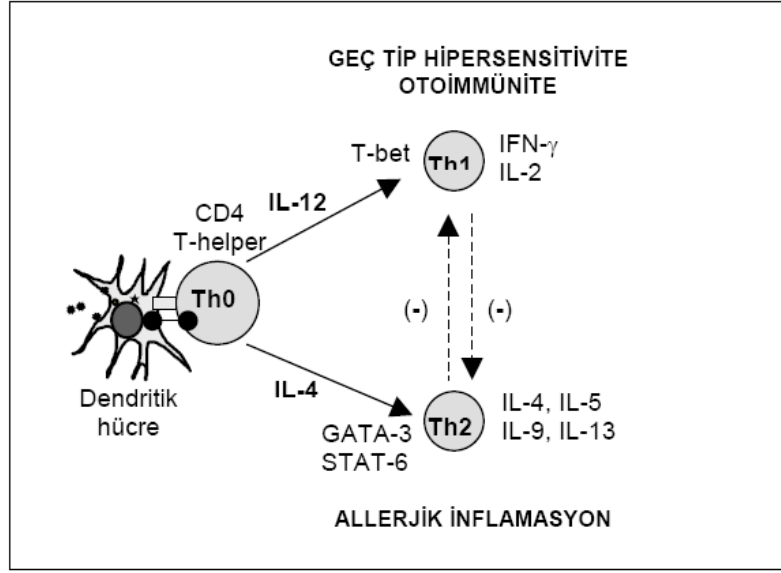


Şekil 6: Allerjik inflamasyonda Th2 lenfositlerin ve sitokinlerin rolü



Şekil 7 : Allerjik inflamasyonda sitokinlerin rolü

Allerjiye karşı koruyucu olan Th1 ağırlıklı immunitenin gelişmesinde yaşamın ilk yıllarında karşılaşılan mikroorganizma yoğunluğu önemli rol oynar. Çok değişik mikroorganizmalar ve endotoksinlerle karşılaşan makrofajlar ve dendritik hücreler bunları ortamdan uzaklaştırmak için IL-12 üretirler. Ayrıca mikroorganizmalarla karşılaşan natural killer hücrelerden IFN-gama salınır. İnterlökin-12 ve IFN-gama immun sistemin allerjiye karşı koruyucu olan Th1 yönündeki farklılaşmasını, diğer bir deyişle immun deviasyonu sağlar (Şekil 8). Bu nedenle azalmış enfeksiyonlar , antibiyotiklerin yaygın kullanılması, aşılama nedeni ile eradike edilmiş çocukluk çağı enfeksiyonları, mikroorganizmalardan ve endotoksinlerden kısmen arınmış hijyenik bir ortamda yaşamak astım ve allerjik hastalıkların daha sık görülmesine neden olur. Enfeksiyonların sık görüldüğü gelişmekte olan toplumlarda, kalabalık ailelerde, endotoksin maruziyetinin erken dönemlerde olduğu hijyenik olmayan ortamlarda, kırsal bölgelerde ve çiftliklerde yaşayanlarda Th1 lenfosit ağırlıklı immun sistemin sık ve tekrarlayan uyarılmaları sonucu astım daha az görülmektedir (52).



Şekil 8: Th1 ve Th2 farklılaşması

Hijyen hipotezine göre batılı ülkelerde Th1 uyarılarının olmaması nedeni ile immun deviasyonun tamamlanamadığı, böylece Th2 ağırlıklı immun yanıtın ortaya çıktığı varsayılmaktadır. Ancak kronik parazit enfestasyonlarının yaygın olduğu bölgelerde allerjik hastalıkların daha az görülmesi hijyen hipotezi ile açıklanamamaktadır. Parazit enfestasyonu Th2 tipinde immun yanıtın ortaya çıkmasına neden olmasına karşın astım ve allerji daha az görülmektedir. Parazitlerle kronik karşılaşma anti-allerjik özelliği olan IL-10 yapımının artmasına neden olmakta, bu da allerjiye karşı korumaktadır. Batılı gelişmiş ülkelerde astım prevalansındaki artışla birlikte Th1 lenfosit ağırlıklı immun mekanizmaların rol oynadığı diabet gibi otoimmun hastalıkların artması da hijyen hipotezine uymamaktadır. Dolayısıyla allerjik hastalıkların ve otoimmun hastalıkların artışı immun deviasyondaki aksamalarla değil, genel Th1 ve Th2 immun yanıtı baskılayan uyarıların azalması ile açıklanabilmektedir (52).

2.4. Respiratuar sinsityal virüs ve astım ilişkisi

Yapılan çalışmalarda hayatın erken döneminde RSV enfeksiyonu geçiren infantlarda tekrarlayan hışıltı ataklarının görülebildiği ve astım gelişme riskinin arttığı gösterilmiştir (5-9).

Akut bronşiyolitlerin %50'sinde hışıltı tekrarlamaktadır. Epidemiyolojik çalışmalarda bronşiyolit öyküsü olan çocuklarda hışıltı ve astımın daha sık görüldüğü ve bunun aile öyküsü veya atopi ile açıklanamadığı görülmüştür. Bronşiyolit daha sonra astıma dönüşebilecek bir immün yanıtı mı tetiklediği yoksa bu bebeklerde zaten varolan astım yatkınlığının RSV epizodu ile mi açığa çıktığı tartışılmaktadır (1). Astımlı hastaların hava yollarında mast hücreleri, aktive eozinofiller ve aktive yardımcı T lenfositlerin sayısı artmıştır. Proinflamatuvar sitokinler (IL-4, IL-5, IL-13) ve kemokinler (RANTES, Eotaksin) üreten yardımcı T lenfositler bu inflamatuvar sürece aracılık eder (1). Respiratuar sinsityal virüs enfeksiyonu kompleks bir immün cevabı tetiklemektedir. Respiratuar sinsityal virüs enfeksiyonu sonrasında Th1 ve Th2 arasındaki dengenin Th2 yönünde kaydığı ve astım immunopatogenezinde rol oynayan sitokinlerin ortaya çıkması ile allerjik inflamasyonun başladığı ileri sürülmektedir (53).

3. GEREK VE YÖNTEM

Çalışma Ocak 2006 ile Kasım 2008 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Çalışma "Hasta Hakları Yönetmeliği"ne ve etik kurallara uygun olarak yapılmış olup Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul'undan onay alındı. Çalışma giderleri Dokuz Eylül Üniversitesi Rektörlük Bilimsel Araştırma Fon Saymanlığı tarafından karşılandı. Çalışmaya başlamadan önce hastaların ebeveynlerinden yazılı olarak bilgilendirilmiş onam alındı.

Belirtilen tarihler arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Solunum ve Allerji polikliniği, Acil Servis ve yataklı serviste görülerek ilk kez akut bronşiyolit tanısı alan, nazofarengeal yıkama sıvısında RSV antijeni çalışılan (PCR ile) 0-36 ay arası çocuklar çalışmaya alındı. Respiratuar sinsityal virüs (+) ve (-) çıkan tüm hastalar altı ayda bir aynı hekim tarafından değerlendirildi ve yakınmaları kaydedildi.

Çalışmadan dışlanma kriterleri:

- ✓ Daha önce bronşiyolit atağı geçirmiş olmak
- ✓ Prematüre doğum öyküsü
- ✓ Eşlik eden kronik hastalık (astım, kronik akciğer hastalığı, kistik fibrozis, konjenital kalp hastalığı vb)

Çalışmaya alınan hastalar bir-üç yıl izlendi. Hastaların cinsiyeti, doğum haftası, doğum ağırlığı, sigara maruziyeti, anne sütü alma süresi, annenin eğitim durumu, ailenin gelir düzeyi, kardeş sayısı, yaşadıkları evin özellikleri, evde tüylü hayvan beslenmesi, ailede astım, allerjik rinit ve atopi öyküsü, bronşiyolit geçirdiği yaş, çocukta allerjik rinit, atopi ve tekrarlayan hışıltı atakları izlem sırasında kaydedildi.

Hastalar en az bir yıl izlendikten sonra kan örneği alındı. Tam kan sayımı ve serum IgE düzeyi Hastanemiz Merkez Laboratuvarında çalışıldı. İnterlökin-4, IL-13 ve IFN-gama düzeyleri için alınan kan örnekleri 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve serum örnekleri -80 °C'de saklandı. Daha sonra ELISA yöntemi ile IL-4, IL-13 ve IFN –gama düzeyleri çalışıldı. Atopinin değerlendirilmesi amacıyla da her hastaya allerji prick test yapıldı.

3.1. Laboratuvar İncelemeleri

Ø Serum immunglobulin E düzeyi:

Chemiluminescence immunoassay metodu ile çalışıldı.

Ø Total eozinofil sayısı:

Hastaların tam kan sayımlarındaki eozinofil yüzdesinden hesaplandı.

Ø Serum interlökin-4 düzeyi:

Serumda IL-4 düzeyleri ELISA yöntemi ile çalışılmıştır. İnsan IL-4 ELISA kiti insan serum, plazma ve hücre kültür süpernatantlarında IL-4 düzeylerinin kantitatif ölçümü için özel olarak hazırlanmış EIA kitidir. Bu ölçüm yöntemi iki taraflı kantitatif “sandwich” enzim immunoassay tekniğine dayanır. Analizi yapılacak materyal (standartlar, örnekler) daha önceden IL-4 e karşı oluşturulmuş monoklonal antikor ile kaplanmış kuyucuklarda inkübe edilir. Materyal içindeki IL-4 kuyucuklardaki monoklonal antikorlar ile bağlanır; horse raddish peroxidase (HRP) bağlı anti- IL-4 biotinlenmiş poliklonal antikoru ilave edilir ve ilk antikor tarafından tutulmuş olan kuyucuklara bağlı IL-4 ile bağlanır. Kuyucuklara bağlanmayan enzim bağlı anti- IL-4 yıkama ile uzaklaştırılır ve HRP ile reaksiyona giren substrat solüsyonu kuyucuklara ilave edilir. Örnekteki IL-4 miktarı ile orantılı olarak renkli bir ürün oluşur. Reaksiyon asit ilavesi ile durdurulur ve 450 nm de absorbans ölçümü yapılır. Standart eğrisi IL-4 standartının seri dilüsyonları kullanılarak hazırlanır ve örnek konsantrasyonu belirlenir.

Analizin uygulanması

1. Tüm reaktifler, standartlar kitin kullanım kılavuzunda önerildiği şekilde hazırlandı.
2. Kör kuyucuklarına 100 µL ölçüm dilüenti, seri dilüsyon ile 4.0, 8.0, 16, 32, 64, 128, 256 pg/mL konsantrasyondaki standartlardan 100 µL, örnek kuyucuklarına önce 100 µL örnek ilave edildi. Kör ve standartlar çift olarak çalışıldı.
3. Oda ısısında 2 saat inkübe edildi.
4. Bütün kuyucuklardaki sıvı aspire edilerek üç kez yıkandı.
5. Tüm kuyucuklara 100 µL poliklonal antikor ilave edildi. Kuyucukların üzeri kapatıldı.
6. Oda ısısında 1 saat süre ile inkübe edildi.
7. Bütün kuyucuklardaki sıvı aspire edilerek üç kez yıkandı.

8. Tüm kuyucuklara 100 µL avidin HRP ilave edildi.
9. Oda ısısında 30 dk süre ile inkübe edildi.
10. Bütün kuyucuklardaki sıvı aspire edilerek üç kez yıkandı.
11. Tüm kuyucuklara 100 µL TMB substrat solüsyonu ilave edildi.
12. Oda ısısında 15 dk süre ile inkübe edildi.
13. Tüm kuyucuklara 100 µL stop solüsyonu ilave edilerek reaksiyon durduruldu.
14. Oluşan renk 450 nm primer dalga boyunda mikroplate okuyucuda (Organon Teknika Mikrowell System Microreader 230 S) köre karşı değerlendirilerek kaydedildi.

Sonuçların hesaplanması

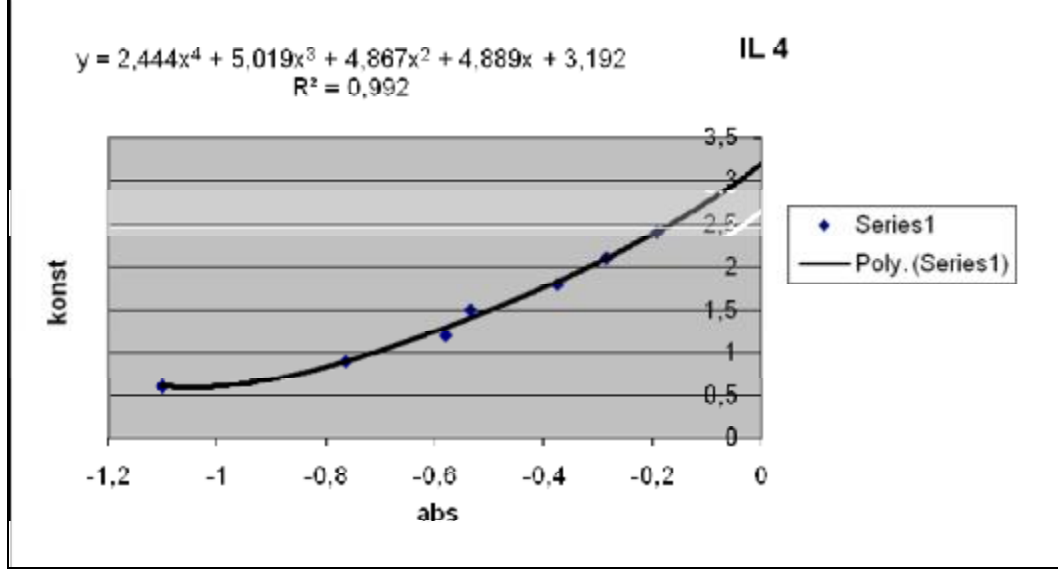
Standart Grafiğinin Hazırlanması ve örnek konsantrasyonlarının hesaplanması:

1. Çift çalışılan standartların ortalama absorbands değeri hesaplandı. Bu değerlerin log 10 dönüşümleri yapılarak IL-4 Standart Grafiği çizildi. Tablo 2’de standartların bilinen konsantrasyonlarına karşı elde edilen absorbands değerleri görülmektedir.

Tablo 2: IL-4 için standartların bilinen konsantrasyonlarına karşı elde edilen absorbands değerleri

Standart	Konsantrasyon (pg/mL)	Absorbans
1	256	0,6455
2	128	0,521
3	64	0,4235
4	32	0,293
5	16	0,2635
6	8	0,1725
7	4	0,079

2. Tablo 2 da yer alan değerler Excell programı kullanılarak Standart grafiği hazırlandı (Şekil 9)



Şekil 9: IL-4 standart grafiği

3. IL-4 standart grafiğinden elde edilen formül;

($y=2,444x^4+5,019x^3+4,867x^2+4,889x+3,192$)’den y değeri hesaplandı. Burada x değeri çalışmada elde edilen absorbans değerlerini temsil etmektedir. Y değerleri tüm bilinmeyen örneklerin IL-4 konsantrasyonlarını yansıtmaktadır.

4. Standart grafiğinden elde edilen formülde x değerleri yerine örneklerin absorbans değerleri yerleştirilerek karşı gelen y değerleri yani IL-4 konsantrasyonları hesaplandı.

Ø Serum interlökin-13 düzeyi:

Serumda IL-13 düzeyleri ELISA yöntemi ile belirlenmiştir. İnsan IL-13 ELISA kiti insan serum, plazma ve hücre kültür süpernatantlarında IL-13 düzeylerinin kantitatif ölçümü için özel olarak hazırlanmış EIA kitidir. Bu ölçüm yöntemi iki taraflı kantitatif “sandwich” enzim immunoassay tekniğine dayanır. Analizi yapılacak materyal (standartlar, örnekler) daha önceden IL-13’e karşı oluşturulmuş monoklonal antikor ile kaplanmış kuyucuklarda inkübe edilir. Materyal içindeki IL-13 kuyucuklardaki monoklonal antikorlar ile bağlanır; HRP bağlı anti- IL-13 biotinlenmiş poliklonal antikor ilave edilir ve ilk antikor tarafından tutulmuş olan kuyucuklara bağlı IL-13 ile bağlanır. Kuyucuklara bağlanmayan enzim bağlı anti- IL-13 yıkama ile uzaklaştırılır ve HRP ile reaksiyona giren substrat solüsyonu kuyucuklara ilave edilir. Örnekteki IL-13 miktarı ile orantılı olarak renkli bir ürün oluşur. Reaksiyon asit ilavesi ile

durdurulur ve 450 nm de absorbans ölçümü yapılır. Standart eğrisi IL-13 standartının seri dilüsyonları kullanılarak hazırlanır ve örnek konsantrasyonu belirlenir.

Analizin uygulanması

1. Tüm reaktifler, standartlar kitin kullanım kılavuzunda önerildiği şekilde hazırlandı.
2. Kör kuyucuklarına 100 µL ölçüm dilüenti, seri dilüsyon ile 1920, 960, 480, 240, 120, 60, 30 pg/mL konsantrasyondaki standartlardan 100 µL, örnek kuyucuklarına önce 100 µL örnek ilave edildi. Kör ve standartlar çift olarak çalışıldı.
3. Oda ısısında 2 saat inkübe edildi.
4. Bütün kuyucuklardaki sıvı aspire edilerek üç kez yıkandı.
5. Tüm kuyucuklara 100 µL poliklonal antikor ilave edildi. Kuyucukların üzeri kapatıldı.
6. Oda ısısında 1 saat süre ile oda ısısında inkübe edildi.
7. Bütün kuyucuklardaki sıvı aspire edilerek üç kez yıkandı.
8. Tüm kuyucuklara 100 µL avidin HRP ilave edildi.
9. Oda ısısında 30 dk süre ile inkübe edildi.
10. Bütün kuyucuklardaki sıvı aspire edilerek üç kez yıkandı.
11. Tüm kuyucuklara 100 µL TMB substrat solüsyonu ilave edildi.
12. Oda ısısında 15 dk süre ile inkübe edildi.
13. Tüm kuyucuklara 100 µL stop solüsyonu ilave edilerek reaksiyon durduruldu.
14. Oluşan renk 450 nm primer dalga boyunda mikroplate okuyucuda köre karşı değerlendirilerek kaydedildi.

Sonuçların hesaplanması

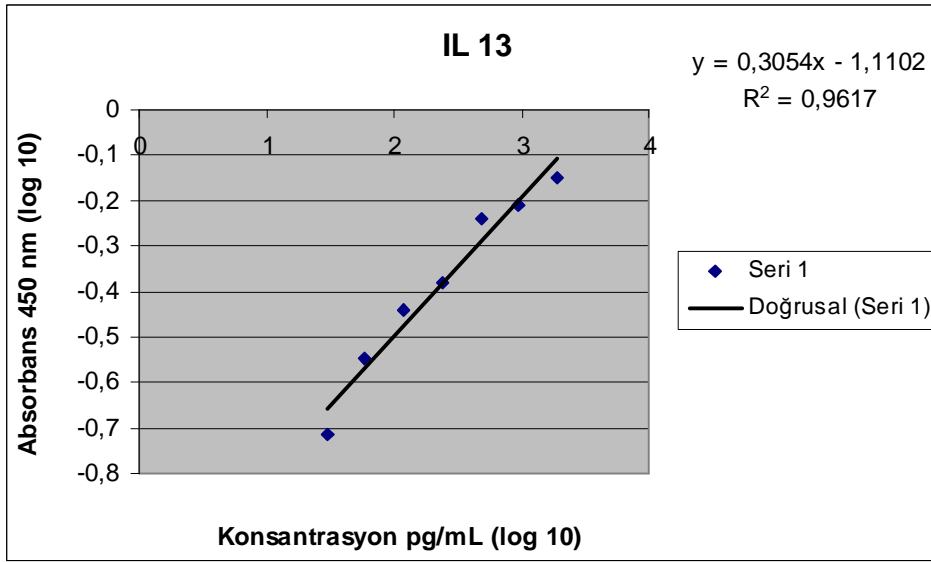
Standart Grafiğinin Hazırlanması ve örnek konsantrasyonlarının hesaplanması

1. Çift çalışılan standartların ortalama absorbans değeri hesaplandı. Bu değerlerin log 10 dönüşümleri yapılarak IL-13 Standart Grafiği çizildi. Tablo 3'de standartların bilinen konsantrasyonlarına karşı elde edilen absorbans değerleri görülmektedir.

Tablo 3:IL-13 için standartların bilinen konsantrasyonlarına karşı elde edilen absorbans değerleri

Standart	Konsantrasyon (pg/mL)	Absorbans
1	1920	0,7065
2	960	0,62
3	480	0,575
4	240	0,415
5	120	0,364
6	60	0,283
7	30	0,1925

2. Tablo 3’de yer alan değerler Excell programı kullanılarak Standart grafiği hazırlandı (Şekil 10)



Şekil 10: IL-13 satandard grafiği

2. IL-13 standart grafiğinden elde edilen formül ($y = 0,3054x - 1,1102$) den x bilinmeyeni çekilerek formül ($x = (y + 1,1102) / 0,3054$) şekline dönüştürüldü. Burada y değeri çalışmada elde edilen absorbans değerlerini temsil etmektedir. X değerleri tüm bilinmeyen örneklerin IL-13 konsantrasyonlarını yansıtmaktadır.

3. Standart grafiğinden elde edilen formülde y değerleri yerine örneklerin absorbans değerleri yerleştirilerek karşı gelen x değerleri yani IL-13 konsantrasyonları hesaplandı.

Ø Serum interferon-gama düzeyi

Serumda IFN-gama düzeyleri ELISA yöntemi ile belirlenmiştir. İnsan IFN-gama ELISA kiti insan serum, plazma ve hücre kültür süpernatanlarında IFN-gama düzeylerinin kantitatif ölçümü için özel olarak hazırlanmış enzim immunoassay kitidir. Bu ölçüm yöntemi iki taraflı kantitatif “sandwich” enzim immunoassay tekniğine dayanır. Analizi yapılacak materyal (standartlar, örnekler) daha önceden IFN-gama’ya karşı oluşturulmuş monoklonal antikor ile kaplanmış kuyucuklarda inkübe edilir. Materyel içindeki IFN-gama kuyucuklardaki monoklonal antikorlar ile bağlanır; HRP bağlı anti- IFN-gama biotinlenmiş poliklonal antikorunu ilave edilir ve ilk antikor tarafından tutulmuş olan kuyucuklara bağlı IFN-gama ile bağlanır. Kuyucuklara bağlanmayan enzim bağlı anti- IFN-gama yıkama ile uzaklaştırılır ve HRP ile reaksiyona giren substrat solüsyonu kuyucuklara ilave edilir. Örnekteki IFN-gama miktarı ile orantılı olarak renkli bir ürün oluşur. Reaksiyon asit ilavesi ile durdurulur ve 450 nm de absorbans ölçümü yapılır. Standart eğrisi IFN-gama standartının seri dilüsyonları kullanılarak hazırlanır ve örnek konsantrasyonu belirlenir.

Analizin uygulanması

1. Tüm reaktifler, standartlar kitin kullanım kılavuzunda önerildiği şekilde hazırlandı.
2. Kör kuyucuklarına 100 µL ölçüm dilüenti, seri dilüsyon ile 10, 20, 40, 80, 160, 320,640 pg/mL konsantrasyondaki standartlardan 100 µL, örnek kuyucuklarına önce 100 µL örnek ilave edildi. Kör ve standartlar çift olarak çalışıldı.
3. Oda ısısında 2 saat inkübe edildi.
4. Bütün kuyucuklardaki sıvı aspire edilerek üç kez yıkandı.
5. Tüm kuyucuklara 100 µL poliklonal antikor ilave edildi. Kuyucukların üzeri kapatıldı.
6. Oda ısısında 1 saat süre ile oda ısısında inkübe edildi.
7. Bütün kuyucuklardaki sıvı aspire edilerek üç kez yıkandı.
8. Tüm kuyucuklara 100 µL avidin HRP ilave edildi.
9. Oda ısısında 30 dk süre ile inkübe edildi.
10. Bütün kuyucuklardaki sıvı aspire edilerek üç kez yıkandı.

11. Tüm kuyucuklara 100 µL TMB substrat solüsyonu ilave edildi.
12. Oda ısısında 15 dk süre ile inkübe edildi.
13. Tüm kuyucuklara 100 µL stop solüsyonu ilave edilerek reaksiyon durduruldu.
14. Oluşan renk 450 nm primer dalga boyunda mikroplate okuyucuda köre karşı değerlendirilerek kaydedildi.

Sonuçların hesaplanması

Standart Grafiğinin Hazırlanması ve örnek konsantrasyonlarının hesaplanması

1. Çift çalışılan standartların ortalama absorbans değeri hesaplandı. Bu değerlerin log 10 dönüşümleri yapılarak IFN-gama Standart Grafiği çizildi. Tablo 4 ve 5’de standartların bilinen konsantrasyonlarına karşı elde edilen absorbans değerleri görülmektedir.

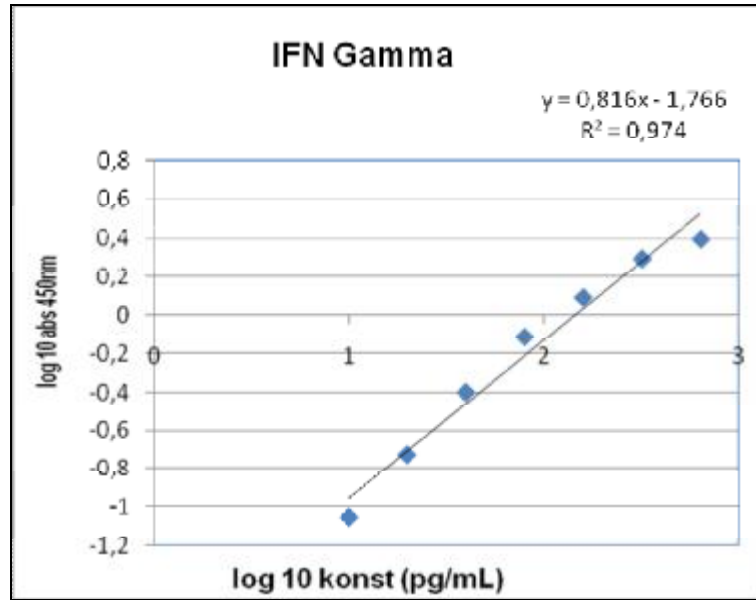
Tablo 4: IFN-gama için standartların bilinen konsantrasyonlarına karşı elde edilen absorbans değerleri (I)

Standart	Konsantrasyon (pg/mL)	Absorbans
1	640	2,5015
2	320	1,982
3	160	1,244
4	80	0,773
5	40	0,4005
6	20	0,189
7	10	0,089

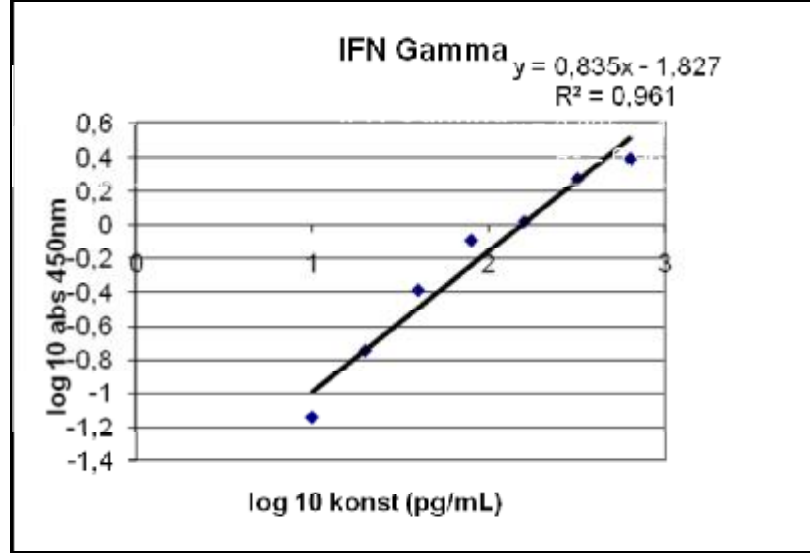
Tablo 5: IFN-gama için standartların bilinen konsantrasyonlarına karşı elde edilen absorbands değerleri (II)

Standart	Konsantrasyon (pg/mL)	Absorbans
1	640	2,4675
2	320	1,8915
3	160	1,0545
4	80	0,813
5	40	0,414
6	20	0,181
7	10	0,0725

2. Tablo 4 ve 5’de yer alan değerler Excell programı kullanılarak Standart grafiği hazırlandı (Şekil 11,12)



Şekil 11: IFN-gama standart grafiği (I)



Şekil 12: IFN-gama standart grafiği (II)

3. İki ayrı IFN-gama standart grafiğinden elde edilen formüller ($y=0,816x-1,766$) ve ($y=0,835x-1,827$) den x bilinmeyeni çekilerek formüller ($x=(y+1,766)/0,816$) ve ($x=(y+1,827)/0,835$) şekline dönüştürüldü. Burada y değeri çalışmada elde edilen absorban değerlerini temsil etmektedir. X değerleri tüm bilinmeyen örneklerin IFN-gama konsantrasyonlarını yansıtmaktadır.

4. Standart grafiğinden elde edilen formülde y değerleri yerine örneklerin absorban değerleri yerleştirilerek karşı gelen x değerleri yani IFN-gama konsantrasyonları hesaplandı.

Ø *Deri prick test*

Allerjenler ön kol iç kısmına aralarında en az üç cm mesafe kalacak şekilde sırasıyla damlatılıp 1 mm uçlu prick lanset ile allerjenin bulunduğu yere çizik atıldı. On beş dakika beklenerek pozitif ve negatif kontrol grubu ile karşılaştırma yapıldı. Hastalarda otlar/tahıllar, mantarlar, turunçgiller, hayvan tüy ve epitelleri, akarlar, muz, kakao, inek sütü, yumurta akı, yumurta sarısı, ton balığı ve hamam böceği allerjisi için standart antijenler ile bu antijenlere karşı oluşan duyarlılık değerlendirildi.

3.2. İstatistiksel analiz

Çalışmadan elde edilen veriler "Statistical Package for Social Sciences for Windows 11.0" adlı standart programa kaydedildi. Mann-Whitney test, Chi-square test ve Kruskal-Wallis testi yapılarak sonuçlar değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılığı yansıtan p değeri <0.05 olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Ocak 2006-Aralık 2008 tarihleri arasında bronşiyolit tanısı alan ve RSV antijeni bakılan 212 hastadan tanı kriterlerini tamamlayan ve çalışmaya katılmayı kabul eden 70 hasta çalışmaya alındı.

4.1. Grupların klinik özelliklerinin karşılaştırılması

Çalışmaya katılan hastaların 29'u (%41,4) kız, 41'i (%58,6) erkekti. Bu hastaların 40'ı (%57) RSV pozitif, 30'u (%43) RSV negatif grupta yer aldı. Kız ve erkeklerde RSV oranları tablo 6'da verilmiştir. RSV pozitif ve RSV negatif grupta kız-erkek oranı açısından istatistiksel anlamlı fark yoktu ($p=1,00$).

Tablo 6: Cinsiyet dağılımı

	RSV pozitif n (%)	RSV negatif n (%)	p
Kız	17 (42,5)	12 (40)	1
Erkek	23 (57,5)	18 (60)	
Toplam	40 (100)	30 (100)	

Respiratuar sinsityal virüs pozitif grupta normal spontan vajinal yol (NSVY) ile doğum oranı %27,5 iken sezeryan ile doğum oranı %72,5'di. RSV negatif grupta ise NSVY ile doğum oranı %40, sezeryan ile doğum oranı %60'dı. Her iki grup arasında NSVY ve sezeryan ile doğum açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,311$). Her iki grup doğum kiloları açısından karşılaştırıldığında RSV negatif grupta doğum kilosunun daha düşük olduğu görüldü ve bu istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,015$) (Tablo 7).

Tablo 7: Doğum şekli ve doğum ağırlıklarının karşılaştırılması

	RSV pozitif	RSV negatif	p
Doğum şekli n (%)			
• NSVY	11 (27,5)	12 (40)	0,311
• Sezeryan	29 (72,5)	18 (60)	
Doğum ağırlığı (gr)			
ortanca	3500	3217	0,015
(minimum-maksimum)	(2120-4380)	(2100-4000)	

Annelerin hamilelikte geçirmiş olduğu enfeksiyonlar sorgulandığında her iki grupta da birer annede geçirilmiş idrar yolu enfeksiyonu olduğu öğrenildi. Sayının az olması nedeni ile istatistiksel değerlendirme yapılamadı. Annelerin hamilelikte sigara içimi RSV pozitif grupta %22,5 iken RSV negatif grupta %23,3 saptandı ve her iki grup arasında annenin hamilelikte sigara içimi açısından istatistiksel anlamlı fark bulunmadı ($p=1$) (Tablo 8).

Tablo 8: Prenatal sigara temasının karşılaştırılması

	RSV pozitif n (%)	RSV negatif n (%)	p
Hamilelikte sigara içimi olanlar	9 (22,5)	7 (23,3)	1
Hamilelikte sigara içimi olmayanlar	31 (77,5)	23 (76,7)	
Toplam	40 (100)	30 (100)	

Respiratuar sinsityal virüs pozitif hastaların ortalama anne sütü alımı 11 ay iken RSV negatif saptananlarda ortalama 13 aydı ve her iki grup arasında anne sütü alımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,22$) (Tablo 9)

Tablo 9: Anne sütü alım sürelerinin karşılaştırılması

	Anne sütü alım süresi (ortanca) (minimum-maksimum)
RSV pozitif	12 ay (2-12)
RSV negatif	13 ay (0-13)

Her iki grup arasında annenin eğitim durumu açısından fark saptanmadı ($p=0,868$) (Tablo 10).

Tablo 10: Annelerin eğitim durumlarının karşılaştırılması

	RSV pozitif	RSV negatif	p
	n (%)	n (%)	
İlkokul	10 (25)	9 (30)	0,868
Ortaokul	3 (7,5)	1 (3,3)	
Lise	17 (42,5)	12 (40)	
Üniversite	10 (25)	8 (26,7)	
Toplam	40 (100)	30 (100)	

Ailelerin ortalama aylık gelirleri açlık ve yoksulluk sınırına göre üç gruba (<873 TL, 873-2240 TL, >2240 TL) ayrıldığında ailelerin genellikle orta gelir düzeyine sahip olduğu görüldü, RSV pozitif ve negatif grup arasında gelir düzeyi açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($p=0,461$) (Tablo 11).

Tablo 11: Ortalama aylık gelirlerin karşılaştırılması

	RSV pozitif	RSV negatif
	n (%)	n (%)
<873 TL	11 (27,5)	7 (23,3)
873-2240 TL	27 (67,5)	19 (63,3)
>2240 TL	2 (5)	4 (13,3)
Toplam	40 (100)	30 (100)

Ortalama başvuru yaşı RSV pozitif hastalarda 6,4 ay (1-33 ay) iken RSV negatif hastalarda 9,5 ay (1-30 ay) saptandı. Respiratuar sinsityal virüs pozitif hastalarda ortalama başvuru yaşı RSV negatif hastalara göre daha düşük bulundu ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.031$) (Tablo 12)

Tablo 12: Hastaneye başvuru yaşlarının karşılaştırılması

	RSV pozitif Ortanca (minimum-maksimum)	RSV negatif Ortanca (minimum-maksimum)	p
Başvuru yaşı	3,5 ay (1-33)	7,5 ay (1-30)	0,031

Hastaneye yatarak tedavi alma oranlarına bakıldığında hastaların % 85,7'sinin ($n=60$) hastaneye yatarak tedavi aldığı görüldü. Hastaneye yatarak tedavi alan hastaların %60'ı ($n=36$) RSV pozitif grupta, %40'ı ($n=24$) RSV negatif grupta idi. Her iki grup arasında hastaneye yatma oranı açısından istatistiksel anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,308$).

Tüm hasta grubu içinde sadece bir hastada entübasyon gereksinimi olduğu görüldü. Bu hasta RSV pozitif gruptan olup istatistiksel değerlendirme yapılamadı. Her iki grup aile üyelerinin sayısı ve kardeş sayısı açısından benzer saptandı (sırasıyla $p=0,167$ ve $p=0,441$) (Tablo 13).

Tablo 13: Aile üyelerinin sayılarının ve kardeş sayılarının karşılaştırılması

	RSV pozitif	RSV negatif	p
Aile üyelerinin sayısı (minimum-maksimum)	4 (3-7)	4 (3-11)	0,167
Kardeş sayısı (minimum-maksimum)	1 (0-2)	1 (0-3)	0,441

Gruplar yaşadıkları evlerin özellikleri açısından karşılaştırıldı. Respiratuar sinsityal virüs pozitif grupta %22,5 ailenin evi nemli iken RSV negatif grupta bu oran %26,7 olarak bulundu ve iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,781$). Yaşadıkları evin zemini tahta, taş,

duvardan duvara halı olmak üzere üç gruba ayrılarak değerlendirildi. Respiratuar sinsityal virüs pozitif grupta evin zemininin %50'sinde (n:20) tahta, %45'inde (n:18) taş ve %5'inde (n:2) duvardan duvara halı iken RSV negatif grupta %50 (n:15) tahta, %40 (n:12) taş, %10 (n:3) duvardan duvara halı olduğu öğrenildi. Her iki grup arasında evin zemin özellikleri açısından anlamlı fark saptanmadı (p=0,705).

Hastaların evlerindeki halıların cinsi yün ve sentetik halı olmak üzere iki gruba ayrıldı. Respiratuar sinsityal virüs pozitif grupta %57,5 (n:23) sentetik halı, %42,5 (n:17) yün halı bulunurken RSV negatif grupta %60 (n:18) sentetik halı, %40 (n:12) yün halı olduğu öğrenildi. Her iki grup halıların cinsi açısından benzerdi (p=1).

Kullanılan yatak, yorgan ve yastık cinsleri pamuklu, yünlü ve sentetik olmak üzere üç gruba ayrılarak değerlendirildi (Tablo 14). Her iki grup kullandıkları yatak, yorgan ve yastık cinsi açısından benzerdi (sırasıyla p=0,372, p=0,546, p=0,341).

Tablo 14: Kullanılan yatak, yorgan ve yastıkların cinslerinin karşılaştırılması

	RSV pozitif	RSV negatif	p
	n (%)	n (%)	
Yatak			
Pamuk	13 (32,5)	11 (36,7)	0,372
Yün	14 (35)	6 (20)	
Sentetik	13 (32,5)	13 (43,3)	
Yorgan			
Pamuk	15 (37,5)	11 (36,7)	0,546
Yün	12 (30)	6 (20)	
Sentetik	13 (32,5)	13 (43,3)	
Yastık			
Pamuk	13 (32,5)	14 (46,7)	0,341
Yün	12 (30)	5 (16,7)	
Sentetik	15 (37,5)	11 (36,7)	

Postnatal dönemde sigara temasını değerlendirmek için aile bireylerinin sigara kullanımı sorgulandı. Respiratuar sinsityal virüs pozitif grupta aile bireylerinde sigara içme oranı %65 (n:26) iken, RSV negatif grupta bu oran %63,3'tü (n:19). Her iki grup postnatal sigara maruziyeti açısından benzer özelliklere sahipti (p=1).

Evde tüylü hayvan besleme, tüylü oyuncaklarla uyuma ve kreşe gitme açısından her iki grupta istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (sırasıyla p=1, p=0,630, p=0,573).

Çalışmaya katılan çocukların aileleri allerjik hastalık varlığı açısından sorgulandı. Astım, allerjik rinit veya egzemadan en az birinin aile üyeleri ve/veya akrabalarında olması durumunda ailede allerji öyküsü var kabul edildi. Respiratuar sinsityal virüs pozitif grup ile RSV negatif grup karşılaştırıldığında her iki grup arasında ailede allerji öyküsü açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p=1) (Tablo15).

Tablo 15: Ailede allerji öykülerinin karşılaştırılması

	RSV pozitif n (%)	RSV negatif n (%)	p
Ailede atopi öyküsü olan	27 (67,5)	21 (70)	1
Ailede atopi öyküsü olmayan	13 (32,5)	9 (30)	
Toplam	40 (100)	30 (100)	

4.2. Grupların laboratuvar özelliklerinin karşılaştırılması

4.2.1.Serum IL-13 düzeyi

Serum IL-13 düzeyleri RSV pozitif hasta grubunda ortalama 22,61 pg/mL (1,18-202,82 pg/mL) iken RSV negatif grupta 63,68 pg/mL (0,78-1479,3 pg/mL) saptandı. Respiratuar sinsityal virüs negatif grupta ortalama serum IL-13 düzeyi daha yüksek saptandı ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,565).

4.2.2.Serum IL-4 düzeyi

Serum IL-4 düzeyi RSV pozitif grupta ortalama 20,43 pg/mL (3,84-278,09 pg/mL) iken RSV negatif grupta 40,77 pg/mL (4,08-210,28 pg/mL) saptandı. Serum IL-4 düzeyi RSV negatif grupta daha yüksek saptandı ve bu istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,002).

4.2.3.Serum IFN-gama düzeyi

Serum IFN-gama düzeyi RSV pozitif grupta ortalama 90,12 pg/mL (16,69-284,73 pg/mL) iken RSV negatif grupta 162,57 pg/mL (16,51-308,38 pg/mL) saptandı. Serum IFN-gama düzeyi RSV negatif grupta daha yüksek saptandı ve bu istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,003) (Tablo 16).

Tablo 16: Serum IL-13, IL-4 ve IFN-gama düzeylerinin karşılaştırılması

	RSV pozitif Ortanca (minimum-maksimum)	RSV negatif Ortanca (minimum-maksimum)	p
IL-13 (pg/mL)	13,70 (1,18-202,82)	9,56 (0,78-1479,3)	0,565
IL-4 (pg/mL)	6,04 (3,84-278,09)	12,50 (4,08-210,28)	0,002
IFN-gama (pg/mL)	40,28 (16,69-284,73)	179,44 (16,51-308,38)	0,003

4.2.4. Serum IgE düzeyi

Respiratuar sinsityal virüs pozitif grupta ortalama serum IgE düzeyi 98,80 IU/mL (1-965 IU/mL), RSV negatif grupta ortalama 267,62 IU/mL (1,06-5543 IU/mL) saptandı. Respiratuar sinsityal virüs negatif grupta serum IgE düzeyi daha yüksek bulundu ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,39).

4.2.5. Total eozinofil sayısı

Serum total eozinofil sayısı RSV pozitif grupta ortalama 213,22 /mm³ (0-750) saptanırken RSV negatif grupta 240,4 /mm³ (34-625) saptandı. Her iki grup arasında serum total eozinofil sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0,121).

4.2.6. Deri testi

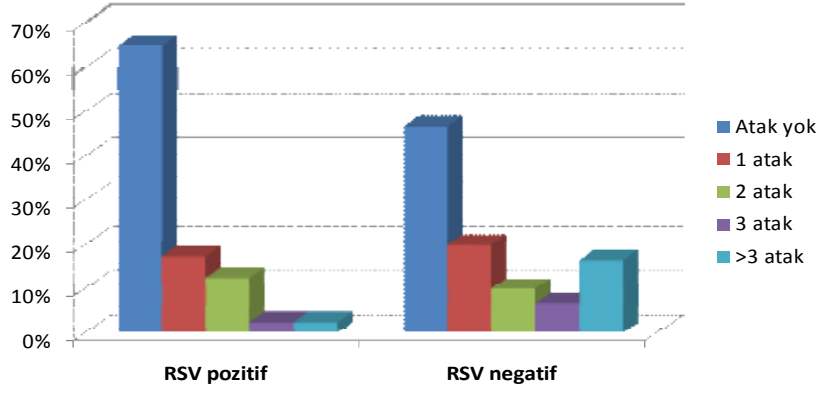
Deri testi açısından bakıldığında RSV pozitif ve negatif gruptan birer hastada deri testi pozitif saptandı. Her iki hastada da otlar-tahıllara karşı (++++) duyarlılık saptandı. Her iki grupta birer hastada deri testi pozitifliği olması nedeniyle istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (p=1).

4.3. Tekrarlayan hışıltı atak sıklıklarının karşılaştırılması

Hastalar allerjik rinit bulguları, egzema açısından değerlendirildi ve tekrar eden hışıltı atakları kaydedildi. Hiçbir hastada egzema saptanmazken RSV pozitif grupta bir hastada allerjik rinit semptomları olduğu görüldü. Respiratuar sinsityal virüs pozitif grupta %65 hastada tekrar hışıltı atağı saptanmazken, %30 hastada <3 atak, %5 hastada üç ve üç ataktan fazla hışıltı gözlemlendi. Respiratuar sinsityal virüs negatif grupta ise %46,7 hiç hışıltı atağı saptanmazken %30 hastada <3 atak, %23,3 hastada üç ve üçten fazla hışıltı atağı olduğu saptandı. İki grup arasında hışıltı tekrarı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (p=0,064) (Tablo 17). Şekil 13’de RSV pozitif ve negatif grupta hışıltı atak sayılarının sıklığı görülmektedir.

Tablo 17: Hışıltı atak sıklıklarının karşılaştırılması

	RSV pozitif	RSV negatif	p
	n (%)	n (%)	
Atak yok	26 (65)	14 (46,7)	0,064
<3 atak	12 (30)	9 (30)	
≥3 atak	2 (5)	7 (23,3)	
Toplam	40 (100)	30 (100)	



Şekil 13: RSV (+) ve (-) grupta hışıltı atak sıklığı

Hastaların doğum ağırlığı, doğum şekli, bronşiyolit geçirdiği yaş, annenin eğitim düzeyi, prenatal-postnatal sigara teması ve anne sütü alım süresi ile tekrarlayan hışıltı atakları açısından anlamlı bir ilişki saptanmadı (Tablo 18).

Tablo 18: Doğum ağırlığı, doğum şekli, bronşiyolit geçirdiği yaş, annenin eğitim düzeyi, prenatal- postnatal sigara maruziyeti, anne sütü alım süresi ile tekrarlayan hişiltı atak sıklıklarının karşılaştırılması

	Atak yok	<3 atak	≥3 atak	p
Cinsiyet n (%)				
• Kız	18 (62,1)	9 (31)	2 (6,9)	0,450
• Erkek	22 (53,7)	12 (29,3)	7 (17,1)	
Doğum ağırlığı ortalama (gr)	3196	3249	3425	0,521
Doğum şekli				
NSVY n (%)	13 (56,5)	6 (26,1)	4 (17,4)	0,696
Sezeryan n (%)	27 (57,4)	15 (31,9)	5 (10,6)	
Bronşiyolit geçirdiği yaş (ay) ortalama	7,0	8,4	9,3	0,628
Annenin eğitim düzeyi n (%)				
• İlkokul	12 (63,2)	4 (21,1)	3 (15,8)	0,941
• Ortaokul	2 (50)	1 (25)	1 (25)	
• Lise	16 (55,2)	10 (34,5)	3 (10,3)	
• Üniversite	10 (55,6)	6 (33,3)	2 (11,1)	
Prenatal sigara teması n (%)				
• Var	11 (68,8)	5 (31,3)	0 (0)	0,205
• yok	29 (53,7)	16 (29,6)	9 (16,7)	
Postnatal sigara teması n (%)				
• var	29 (64,4)	11 (24,4)	5 (11,1)	0,250
• yok	11 (44,0)	10 (40,0)	4 (16,0)	
Anne sütü alım süresi n (%)				
• ≤6 ay	12 (66,7)	5 (27,8)	1 (5,6)	0,489
• >6 ay	28 (53,8)	16 (30,8)	8 (15,4)	

Ailelerin ortalama aylık geliri, yaşadıkları evin zemin özellikleri, kullandıkları yatak, yorgan yastığın cinsi ve kardeş sayısı ile tekrarlayan bronşiyolit atakları arasında ilişki saptanmadı (sırasıyla p=0,988, p=0,326, p=0,290, p=0,095, p=0,378, p=0,416).

Hastalar serum IL-13, IL-4, IFN-gama, IgE ve total eozinofil sayısı ile tekrar eden hışıltı atakları açısından kıyaslandı. Atak sayısı; atak yok, <3 atak ve ≥3 atak şeklinde üç gruba ayrıldı. Buna göre total eozinofil sayısı, serum IL-13, IL4, IFN-gama ve IgE ile hışıltı atak tekrarı açısından fark saptanmadı (Tablo 19). Deri testi her iki gruptan birer hastada pozitif bulundu. Bu hastalardan RSV pozitif olanda tekrar hışıltı atağı olmazken RSV negatif grupta olan hastada iki kere daha hışıltı atağı olduğu öğrenildi. Atak sayısı ile deri testi pozitifliği açısından istatistiksel anlamlı bir fark saptanmadı (p=0,757) (Tablo 19).

Tablo 19: Serum IL-13, IL-4, IFN-gama, IgE ve total eozinofil sayısı ile hışıltı atak sıklığının karşılaştırılması

	Atak yok	<3 atak	≥3 atak	p
IL-13 (pg/mL)	19,70 (0,78-202,82)	17,27 (2,60-78,41)	184,94 (4,52-1479,30)	0,852
IL-4 (pg/mL)	28,45 (3,84-278,09)	26,25 (3,92-142,61)	39,02 (4,92-89,73)	0,168
IFN-gama (pg/mL)	115,98 (16,69-308,38)	111,02 (20,43-274,44)	167,9 (16,51-300,74)	0,539
IgE (IU/mL)	247,4 (1,06-5543)	54,92 (1-595)	103,2 (1,4-358)	0,271
Total eozinofil (mm³)	210,7 (0-750)	209,04 (11-651)	324,77 (126-677)	0,116

5.TARTIŞMA

Akut bronşiyolit; iki yaşından küçük çocuklarda sıklıkla viral etkenlerin neden olduğu, hışıltı, öksürük, hızlı solunum, göğüsde çekilmeler ve ekspiryumda uzama ile karakterize bronşiyollerin inflamasyonu ile seyreden bir hastalıktır. İki yaş altındaki çocukların %10-20'sinde görülebilir (13). Üzerinde en çok durulan konu bu çocukların ileri dönem prognozudur. Hışıltı hastalarda tek bir atak şeklinde başlayıp bitebilir, uzun süreli olabilir veya yineleyen ataklar şeklinde gelişebilir. Bu nedenle hışıltılı çocuk tanımlanırken hışıltının dört haftadan daha uzun sürmesi, persistan hışıltı; üç veya daha fazla atak şeklinde gelişmesi ise yineleyen hışıltı olarak tanımlanmaktadır (54).

Yapılan değişik çalışmalarda bir yaşından küçük çocukların %10-15'inin, beş yaşından küçüklerin ise %25'inin en az bir kez hışıltı ile birlikte seyreden bir solunum yolu hastalığı geçirdiği gösterilmiştir. Gelişmiş ülkelerde beş yaşından küçük çocuklarda hışıltının kümülatif prevalansı %15-32 arasındadır (55). Türkiye'de 46813 çocuğu kapsayan bir araştırmada hışıltı prevalansı %15,1 bulunmuştur (56). Hışıltının başta bronşiyal astım olmak üzere bir çok başka nedeni olabilir. Her çocuk astım tanısı almaksızın yaşamın herhangi bir döneminde bir veya iki kez hışıltılı bir hastalık geçirebilir. Bu nedenle ilk üç yaşta yineleyen hışıltı atakları olan çocuklarda hışıltı nedenini saptamak çoğu kez güç olmaktadır. Çocukluk döneminin ilk yıllarında geçirilen hışıltılı solunum ile sonradan gelişecek astım arasındaki ilişki günümüzün en fazla araştırılan ama henüz tam olarak çözümlenememiş konularından birisidir.

Çalışmamızda ilk bronşiyolit atağı nedeniyle hastanemizde tedavi gören 70 hasta incelendi. Bu hastaların %41,4'ü kız, %58,6'sı erkekti. Çalışmadaki erkek sayısının fazla olmasına rağmen erkek ve kız cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. Yapılan çalışmalarda hışıltı fenotiplerinin erkek çocuklarda daha fazla olduğu bildirilmiştir. Erkek çocukların hava yollarının çapının, akciğer hacmine oranı kızlara göre daha dardır. Ayrıca akciğer fonksiyonlarının kızlara oranla daha düşük olması erkek çocuklarda hışıltının daha sık görülmesine neden olmaktadır (57,58).

Erken dönemde meydana gelen akciğer hasarı; alt solunum yolu hastalığı ve hışıltı riskini artırır. Prematüre ve düşük doğum ağırlıklı infantlar artmış hışıltı riski taşırlar. Özellikle mekanik ventilasyon gereksinimi olan ve BPD gelişen prematürelerin viral alt solunum yolu enfeksiyonları hayatı tehdit edecek kadar ağır seyredebilir (59). Çalışmamızda RSV'nin tekrarlayan hışıltıya etkisini değerlendirebilmek için prematüre doğan çocuklar çalışmaya dahil edilmemiştir. Kwinta ve arkadaşları yaptıkları prospektif çalışmada 1500 gr

altında doğan çocuklarda hışıltı prevalansının daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (60) . Bir başka prospektif çalışmada ise ≥ 4000 gr doğan çocuklarda hışıltı ve astım riskinin çok daha az görüldüğü saptanmıştır (58). Bizim çalışmamızda hastaların ortalama doğum ağırlığı ile tekrarlayan hışıltı atakları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p=0,521$). Bu; çok düşük doğum ağırlıklı hastaların çalışmaya alınmamış olmasından kaynaklanabilir.

Roduit ve arkadaşlarının (61) 2917 çocuğu doğumdan itibaren sekiz yıl süre ile izlediği çalışmasında sezeryan ile doğumun daha sonra astım gelişimi açısından risk olduğu gösterilmiştir. Bunun nedeni olarak elektif sezeryanın gecikmiş mikrobiyal kolonizasyona neden olduğu belirtilmiştir. Bu konuda 23 çalışmanın sonuçlarının değerlendirildiği bir meta-analizde sezeryan doğumun astım riskini arttırdığı görülmüştür (62). Bizim çalışmamızda ise doğum şekli ile tekrarlayan hışıltı arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0,696$).

Tekrarlayan hışıltı açısından hastaların ilk hışıltı epizodunu geçirdiği yaş da önemlidir. Özellikle bir yaş altında bronşiyolit öyküsü olanlarda artmış hışıltı riski bildirilmektedir (63). Bizim çalışmamızda hastaların bronşiyolit geçirdiği yaş ile hışıltı tekrarı açısından ilişki saptanmadı ($p=0,628$).

Solunum yolu enfeksiyonlarının düşük sosyokültürel ve ekonomik seviyedeki ailelerde daha fazla olduğu ve dolayısıyla hışıltı ataklarının daha sık görüldüğü bildirilmektedir (57). Bizim çalışmamızda annenin eğitim durumu ve ailenin aylık ortalama gelir düzeyi ile tekrarlayan hışıltı atakları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,941$, $p=0,988$).

Kalabalık aile ortamında yaşama, kardeş sayısının fazlalığı, kreş gibi kalabalık ortamlarda bulunma viral ve bakteriyel enfeksiyon sayısını arttırarak tekrarlayan hışıltı ataklarına sebep olmaktadır. Bununla birlikte kalabalık aile, kardeş sayısındaki artışın atopiden koruyucu etkisi olduğunu ileri süren çalışmalar da mevcuttur (64). Artan kardeş sayısı ile birlikte sık geçirilen enfeksiyonların T hücre düzeyindeki farklılaşmayı Th1 yönüne çevirdiği düşünülmektedir (53). Bizim çalışmamızda aile üyelerinin sayısı ve kardeş sayısı ile tekrarlayan hışıltı atakları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,066$, $p=0,416$).

Annenin gebelikte sigara içmesi ve doğum sonrası pasif sigara maruziyetinin hışıltı atak sıklığını arttırdığı ve solunum fonksiyonlarında bozulmaya neden olduğu bilinmektedir (65,66). Annenin hamilelik sırasında sigara içmesinin yenidoğan döneminde antijenlere karşı artmış Th2 sitokin yanıtına ve azalmış IFN-gama düzeyine neden olduğu (67) ve Toll-like reseptör ilişkili cevabın bozulduğu ileri sürülmüştür (68). Prenatal sigara maruziyetinin mi yoksa postnatal sigara maruziyetinin mi tekrarlayan hışıltı ataklarında daha fazla rolünün

olduğu konusu da hala tartışmalıdır. Çünkü gebelikte sigara içen annelerin çoğu postnatal dönemde de sigara içmeye devam etmektedir. Yine de prenatal sigara maruziyetinin hışıltı ve/veya astım ile postnatal sigara maruziyetinden daha çok ilişkili olduğunu düşündüren pek çok çalışma vardır (69,70). Annenin hamilelikte özellikle üçüncü trimesterde pasif sigara içmesinin okul çağındaki çocuklarda astım ve allerji semptomlarıyla ilişkili olduğu da gösterilmiştir (71). Bizim çalışmamızda prenatal ve postnatal sigara maruziyeti ile tekrarlayan hışıltı atakları arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,205$, $p=0,250$).

Anne sütünün özellikle infantı enfeksiyonlardan koruyarak hışıltı gelişimini önlediği bilinmektedir. Temel rolü enfeksiyonu önlemekten çok enfeksiyonun şiddetini azaltma şeklindedir. Kolostrumda RSV nötralizan aktivite saptanmıştır ve bu büyük oranda sekretuar IgA'ya bağlıdır. Bunun yanında anne sütü alan bebeklerin serumunda IFN-alfa düzeylerinin fazla olması nedeni ile RSV'ye karşı oluşan lenfoproliferatif cevap baskılanmaktadır. Anne sütü ile beslenen infantlarda allerjik hastalık insidansının inek sütü ile beslenenlere göre daha az olduğunu belirten birçok çalışma mevcuttur. Oddy ve arkadaşlarının (72) yaptığı çalışmada dört aydan daha az anne sütü alan çocuklarda astım gelişme riskinin arttığı gösterilmiştir. Bazı çalışmalarda altı aydan daha fazla süre anne sütü alımının geçici erken hışıltıya karşı koruyucu olduğu söylenirken geç başlangıçlı hışıltı açısından bir risk faktörü olduğu kabul edilmektedir (73). Bizim çalışmamızda ortalama anne sütü alım süresi ile tekrarlayan hışıltı arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,096$). Bunun nedeni hastaların ortalama anne sütü alım sürelerinin fazla olması olabilir (11,8 ay). Altı ay altında anne sütü alanlar ile altı aydan daha fazla süre anne sütü alanlar kıyaslandığında da tekrarlayan hışıltı atakları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,489$). Yine bu sonuç çalışmadaki hasta grubunda altı ayın altında anne sütü alan hastaların oranının az olması ile açıklanabilir.

Akarlar, evcil hayvanların deri, tüy ve artıkları, hamam böceği ve mantarlar başlıca ev içi inhalan allerjenleri oluşturmaktadırlar. Bunlardan akar, hamam böceği ve mantarlar; nemli, güneş almayan, toz yoğunluğunun fazla olduğu ılık ortamları sever ve çoğalırlar. Bu nedenle nemli, zemini tahta veya duvardan duvara halı olan, güneş görmeyen evler, yünden yapılmış yatak, yorgan, yastık bu allerjenler için iyi birer kaynaktır. Ev içi allerjenlere bebekliğinden itibaren yüksek oranda maruz kalan çocukların ileriki yıllarda bu allerjenlere karşı duyarlılık kazandıkları ve daha erken yaşta allerjik hastalıkların ortaya çıktığı gösterilmiştir (74). Bizim çalışmamızda evin zemin özellikleri, halıların cinsi, kullanılan yatak-yorgan-yastığın özellikleri ile tekrarlayan hışıltı riski açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (sırasıyla $p=0,326$, $p=0,718$, $p=0,290$, $p=0,095$, $p=0,378$).

Ailede allerji öyküsünün olması tekrarlayan hışılı ve astım açısından önemli risk faktörlerinden biridir (12,58,75,76). Özellikle annede varolan astım çocukta gelişebilecek olan allerjik hastalıklar açısından daha önemli bir risk faktörüdür (73). Çalışmamızda ailesinde astım, allerjik rinit ve egzema öykülerinden en az biri bulunan çocuklar ile ailesinde allerjik hastalık olmayan çocuklar karşılaştırıldığında tekrarlayan hışılı ve astım açısından her iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,36$).

İnfant dönemi ve erken çocukluk döneminde geçirilen ASYE'lerin tekrarlayan hışılı ve astım patogeneğinde rolü olduğu düşünülmektedir. Bu konuda solunum yolu virüsleri ve özellikle de RSV ile ilgili pek çok epidemiyolojik çalışma mevcuttur. (5,7,77-80). Kneyber ve arkadaşlarının (9) 1978-1998 yılları arasında yapılan RSV bronşiyoliti ile ilgili izlem çalışmalarının sunulduğu makalede (kriterleri sağlayan altı çalışma incelenmiş) ilk beş yıllık izlemde RSV bronşiyoliti geçiren infantların %40'ında, kontrol grubunda ise %11'inde hışılı tekrarlar ($p<0,001$); 5-10 yıllık izlemde RSV bronşiyoliti geçiren grupta %22, kontrol grubunda %10 oranında hışılı görülmüştür ($p=0,19$). İzlem süresi arttıkça, özellikle beş yılı geçtikten sonra tekrarlayan hışılı insidansının azaldığı ve sağlıklı kontrol grubu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık kalmadığı bildirilmiştir. Bir başka çalışmada hayatın ilk 36 ayında RSV enfeksiyonu geçiren hastalarda astım, bronşiyal hiperreaktivite gelişimini araştıran 12 çalışma incelenmiş, RSV'ye bağlı ASYE geçiren çocuklarda astım, rekürren hışılı gelişme riskinin arttığı ve bu ilişkinin yaş artışıyla azaldığı bildirilmiştir (79).

Henderson ve arkadaşlarının (78) yaptığı kohort çalışmasında 12 ay altındaki RSV bronşiyoliti geçiren çocuklarda RSV'nin hışılı ve astım gelişimi ile ilişkili olduğu bulunurken atopi ile ilişkisi saptanmamıştır. Bizim çalışmamızda RSV pozitif ve RSV negatif bronşiyolitli çocuklarda tekrarlayan hışılı atakları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p=0,209$). Bunun nedeni vaka sayımızın az olması olabilir.

Respiratuar sinsityal virüs enfeksiyonu ile tekrarlayan hışılı / astım arasındaki ilişki yapılan pekçok çalışmaya rağmen hala tam olarak aydınlatılamamıştır. "Respiratuar sinsityal virüs enfeksiyonunun kendisi mi daha sonra astım gelişecek bir yanıtı tetikliyor, yoksa astım yatkınlığı olan çocuklarda atak, RSV enfeksiyonu ile mi ortaya çıkıyor?" sorusu hala yanıtlanmış değildir. Özellikle RSV enfeksiyonu sırasında Th1/Th2 arasındaki dengenin Th2 yönüne doğru kaydığı konusu üzerinde durulmaktadır (53). Bu konuda yapılmış hayvan deney çalışmaları da vardır. Schwarze ve arkadaşları (6) RSV enfeksiyonu geçiren farelerde allerjik inflamasyonun arttığını göstermiştir.

Respiratuar sinsityal virüs enfeksiyonu geçirilen yaşın da hışılı açısından önemli olduğu bazı araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır. Yapılan bir hayvan deneyinde yenidoğan

döneminde RSV ile enfekte olan farelerde daha geç dönemde enfekte olanlara göre hava yollarında IL-13 düzeyleri daha yüksek saptanmış ve fareler RSV ile reenfekte edildiğinde yenidoğan döneminde RSV enfeksiyonu geçirenlerde artmış hava yolu cevabı gözlenmiştir (81).

Biz çalışmamızda serum IL-4 ve IFN-gama düzeylerini RSV negatif bronşiyolit geçiren çocuklarda daha yüksek bulduk ($p=0,002$, $p=0,003$). Serum IL-13 düzeyini RSV negatif bronşiyolit geçirenlerde daha yüksek bulmamıza rağmen her iki grup arasında anlamlı bir farklılık saptamadık ($p=0,565$). Serum IL-13, IL-4 ve IFN -gama düzeyleri ile tekrarlayan hışıltı atakları arasında da anlamlı bir ilişki bulmadık ($p=0,852$, $p=0,168$, $p=0,539$).

Uzuner ve arkadaşları (12) AB geçiren infantlarda serum IL-4, IL-13 ve IFN-gama düzeyleri ile tekrar eden hışıltı epizodlarının ilişkisini araştırmışlar ve serum IL-13 düzeyi ile tekrarlayan hışıltı ataklarının pozitif korelasyon gösterdiğini saptamışlardır. Yüksek serum IL-13 düzeyinin ve ailede atopi öyküsünün hışıltı ataklarında önemli rol oynayabileceğini vurgulamışlardır. Başka bir çalışmada infant döneminde RSV bronşiyoliti geçiren çocukların periferik kan lenfositleri in vitro allerjenler ile karşılaştırıldığında IL-4 cevabının arttığı görülmüştür (82). You ve arkadaşları (83) da RSV enfeksiyonu geçiren farelerde bronkoalveolar lavaj sıvısında IL-13 düzeyini yüksek saptamışlardır.

Pino ve arkadaşlarının (84) yaptığı çalışmada ciddi RSV enfeksiyonu geçiren çocuklarda taburculuktan bir yıl sonra alınan nazofarengeal aspiratta IL-10, IL-6, IFN-gama, IL-7 ve IL-13 düzeyinin yüksek kaldığı gösterilmiştir.

Castro ve arkadaşları (85) yaptıkları çalışmada ağır RSV enfeksiyonu nedeniyle hastaneye yatırılan 206 infantı takip etmiş, RSV enfeksiyonundan hemen sonra, iki, dört ve altı yaşlarında IL-2, IL-4, IL-13 ve IFN-gama düzeyleri değerlendirilmiştir. Hastalar altı yaşına geldiklerinde %48'inde astım ve %48'inde egzema geliştiği görülmüştür. Astım gelişen çocuklarda IL-13 ekspresyonunun daha düşük olduğu bulunmuş ve şimdiye kadar anlatılan çalışmaların aksine RSV enfeksiyonu sonrasında astım, egzema gelişiminde Th2 tipi yanıtın rolü olmadığı vurgulanmıştır.

Başka bir çalışmada RSV bronşiyoliti geçiren çocuklarda akut faz ve konvelasan fazda monosit IL-10 düzeyi sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek saptanmış ve bir yıllık izlem sonrasında tekrarlayan hışıltı ile konvelasan dönemde ölçülen monosit IL-10 düzeyleri arasında ilişki bulunmamıştır. Yine bu çalışmada IL-4 ve IFN-gama düzeyleri ile tekrarlayan hışıltı atakları arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (11)

Pifferi ve arkadaşları (10) hayatın erken döneminde RSV enfeksiyonu geçiren çocuklarda serum ECP düzeyini akut fazda ölçmüşler ve beş yıl sonra çocukları

değerlendirdiklerinde serum ECP düzeyi yüksek saptanmış olan çocuklarda tekrarlayan hışıltı ataklarının daha fazla olduğunu belirtmişlerdir.

Tucson kohort çalışması 1980'de başlatılan, en uzun respiratuar kohort çalışmalarından biridir. Bu çalışmaya 1200'den fazla çocuk alınmış ve doğumdan itibaren izlenmiştir. Bu çalışmaya göre erken çocukluk döneminde başlayan hışıltı üç fenotipe ayrılmıştır. Buna göre bu hastaların %60'ı transient hışıltı (üç yaş altında, sadece respiratuar enfeksiyon döneminde hışıltısı olan hastalar), %40'ı persistan hışıltı (üç-altı yaş arası hışıltı devam ediyor) saptanmıştır. Persistan hışıltısı olanların yarısı okul çağından önce inhalen allerjenlerle sensitize olmuş ve bu çocuklar atopik hışıltı olarak adlandırılırken, allerjik sensitizasyona sahip olmayan persistan hışıltılı çocuklar ise nonatopik hışıltı olarak adlandırılmıştır (86).

Respiratuar sinsityal virüs enfeksiyonunun ciddiyeti ile muhtemel genetik ilişkiyi göstermek amacıyla Choi ve arkadaşları (87) ağır RSV enfeksiyonu geçiren Kore'li çocuklarda IL-4 gen haplotipinin bulunduğunu saptamışlardır. Bu hastalarda IL-4 transkripsiyonunun artışının astım gelişimine predispozisyon yarattığı ileri sürülmüştür. Bir başka çalışmada RSV bronşiyoliti sonrası tekrarlayan hışıltısı olan çocuklarda RANTES gen polimorfizmi ve serum RANTES düzeyi yüksek bulmuştur (88).

Respiratuar sinsityal virüs enfeksiyonu sonrasında ortaya çıkan hışıltı ataklarında sitokinlerin önemli rolü anlaşıldıktan sonra bu proinflamatuvar sitokinlerin oluşumunu azaltmak amacıyla intravenöz dexametazon verilmiş ancak dexametazonun trakeal aspirat sıvısındaki proinflamatuvar sitokinlerin düzeyi üzerine etkisinin olmadığı görülmüştür (89).

Yapılan çalışmalarda RSV enfeksiyonu ile atopi ve deri testi pozitifliği arasında ilişki bulunamamıştır (90). Bizim çalışmamızda sadece iki hastada deri testinin pozitif çıkması nedeniyle böyle bir ilişki kurulamadı. Ayrıca Bont ve arkadaşlarının (91) çalışmasına benzer şekilde hastalarda serum IgE düzeyinde yükseklik saptanmamıştır.

Diğer solunum yolu virüslerinin de RSV'ye benzer şekilde tekrarlayan hışıltı ataklarına neden olabileceği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda özellikle rhinovirüsün (RV) tekrarlayan hışıltı ataklarına neden olduğu ileri sürülmektedir (92). İki yaş altında ilk atak bronşiyolit tanısı alan 416 çocuğu içeren bir çalışmada RSV dışı bronşiyolit geçiren çocukların üç yıllık periyotta RSV bronşiyolitine göre daha sık tekrarlayan hışıltı atakları geçirdikleri belirtilmiştir (93). Ancak bu çalışmadaki en önemli eksiklik çocuklardaki atopi öyküsünün ve çevresel özelliklerin değerlendirilmemiş olmasıdır.

Jartti ve arkadaşlarının (94) RSV ile RV enfeksiyonunu karşılaştıran çalışmasında RV enfeksiyonu geçiren çocuklarda tekrarlayan hışıltı ataklarının daha fazla görüldüğü bildirilmiştir. Akut fazda RV grupta IL-13, IL-12, IFN-gama ve IL-5 konsantrasyonları RSV

grubuna göre daha fazla bulunmuştur. İki-üç hafta sonra tetkikler tekrarlandığında RV grubunda IFN-gama, IL-13 ve IL-10 konsantrasyonları RSV grubuna göre daha fazla bulunmuş ve RV'nin RSV'den daha çok hışıltıyı tetikleyebileceği savunulmuştur

Sonuç olarak RSV ve diğer solunum yolu virüsleri genetik ve çevresel özelliklerin etkisiyle tekrarlayan hışıltı ataklarına sebep olabilmektedir. Patogenez ile ilgili çok sayıda ve çelişkili çalışmalar vardır. Patogenezin daha iyi anlaşabilmesi için daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

6.SONUCLAR

1. Doğum şekli ile tekrarlayan hışıltı arasında ilişki saptanmadı.
2. Kalabalık aile ortamında yaşama, düşük sosyoekonomik düzey, kreşe gitme ile tekrarlayan hışıltı arasında ilişki saptanmadı.
3. Prenatal ve postnatal sigara maruziyeti, anne sütü alım süresi ile tekrarlayan hışıltı arasında ilişki saptanmadı.
4. Ailesinde allerji öyküsü olanlarda tekrarlayan hışıltı ve atopide artış saptanmadı.
5. Hastaların yaşadıkları evin özellikleri, kullandıkları yatak, yorgan ve yastığın özellikleri ile tekrarlayan hışıltı arasında ilişki saptanmadı.
6. RSV bronşiyoliti ile RSV dışı bronşiyolit geçiren çocuklarda tekrarlayan hışıltı, atopi gelişimi açısından fark saptanmadı.
7. Serum IL-13 düzeyi RSV pozitif ve negatif grupta benzer iken serum IL-4 ve IFN-gama düzeyi RSV negatif grupta daha yüksek saptandı.
8. Total eozinofil sayısı, serum IgE, IL-4, IL-13 ve IFN-gama düzeyleri ile tekrarlayan hışıltı atakları arasında ilişki saptanmadı.

7. KAYNAKLAR

1. Wats DM, Goodman D. Wheezing, bronchiolitis and bronchitis. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. Nelson Textbook of Pediatrics. 18th edition. 2008: 1773-1777.
2. Yanney M and Vyas H. The treatment of bronchiolitis. Arch Dis Child 2008;93(9):793-798.
3. Peebles RS. Viral infections, atopy and asthma: Is there a casual relationship? J Allergy Clin Immunol 2004;113(1):15-18.
4. Ogra PL. Respiratory syncytial virus: The virus, the disease and the immune response. Paediatr Respir rev 2004; 5:119-126.
5. Wennergren G, Kristjansson S. Relationship between respiratory syncytial virus bronchiolitis and future obstructive airway diseases. Eur Respir J 2001;18:1044-1058.
6. Schwarze J, Hamelmann E, Bradley KL ve ark. Respiratory syncytial virus infection results in airway hyperresponsiveness and enhanced airway sensitization to allergen. J Clin Invest 1997;100:226-233.
7. Openshaw PJM, Dean GS and Culley FJ. Links between respiratory syncytial virus bronchiolitis and childhood asthma: clinical and research approaches. Pediatr Infect Dis J, 2003;22:58-65.
8. Martinez FD. Respiratory syncytial virus bronchiolitis and the pathogenesis of childhood asthma. Pediatr Infect Dis J 2003;22:76-82
9. Kneyber MCJ, Steyerberg EW, R de Groot and HA Moll. Long-term effects of respiratory syncytial virus (RSV) bronchiolitis in infants and young children: a quantitative review. Acta Paediatr 2000;89:654-660
10. Pifferi M, Ragazzo V, Caramella D, Baldini G. Eosinophil cationic protein in infants with respiratory syncytial virus bronchiolitis: Predictive value for subsequent development of persistent wheezing. Pediatr Pulmonol 2001;31(6):419-424.
11. Bont L, Heijnen CJ, Kavelaars A ve ark. Monocyte IL-10 production during respiratory syncytial virus bronchiolitis is associated with recurrent wheezing in a one year follow-up study. Am J Respir Crit Care Med 2000;161:1518-1523.
12. Uzuner N, Gurcu O, Olmez D ve ark. Relation between serum IL-4, IL-13 and IFN- γ levels and recurrence of wheezing episodes in infants with acute bronchiolitis. Pediatr Allergy Immunol 2008;19(7):648-651.
13. Yalçın E, Karadağ B, Uzuner N ve ark. Türk Toraks Derneği Akut Bronşiyolit Tanı ve Tedavi Uzlaşma Raporu. Türk Toraks Dergisi 2009;10:3-7.

14. Wagner T. Bronchiolitis. *Pediatr Rev.* 2009;30(10):386-389.
15. Wohl MEB. Bronchiolit. In: Chernick V, Boat TF, eds. *Kendig's Disorders of the Respiratory Tract in Children*, 7th edition, Philadelphia: W.B Saunders, 2006:423-432.
16. Steiner RWP. Treating acute bronchiolitis associated with RSV. *Am Fam Physician* 2004;69:325-330.
17. Diagnosis and management of bronchiolitis. American Academy of Pediatrics subcommittee on diagnosis and management of bronchiolitis. *Pediatrics* 2006;118(4):1774-1793.
18. Bush A, Thomson AH. Acute bronchiolitis . *BMJ* 2007;335(7628):1037-1041.
19. Karadag B, Ceran O, Guven G, et al. Efficacy of salbutamol and ipratropium bromide in the management of acute bronchiolitis - A clinical trial . *Respiration* 2008;76(3):283-287.
20. Smyth RL, Openshaw PJ. Bronchiolitis. *Lancet.* 2006;368(9532):312-322.
21. Patel H, Platt R, Lozano JM, Wang EE. Glucocorticosteroids for acute viral bronchiolitis in infants and young children. *Cochrane Database Syst Rev.* 2004;3:CD004878.
22. Landau LI. Current pharmacological treatments for bronchiolitis are useless. *Paed Respir Rev* 2006;7(1):101-103.
23. Chipps BE, Sullivan WF, Portnoy JM. Alpha-2a-interferon for treatment of bronchiolitis caused by RSV. *Pediatr Infect Dis J* 1993;12(8):653-658.
24. Bisgaard H. A randomised trial of montelukast in respiratory syncytial virus postbronchiolitis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:379-383.
25. Tahan F, Ozcan A, Koc N. Clarithromycin in the treatment of RSV bronchiolitis: a double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Eur Respir J.* 2007;29:91-97.
26. Hollman G, Shen G, Zeng L, et al. Helium-oxygen improves clinical asthma scores in children with acute bronchiolitis. *Crit Care Med* 1998;26:1731-1736.
27. Davison C, Ventre KM, Luchetti M, et al. Efficacy of interventions for bronchiolitis in critically ill infants: a systematic review and meta-analysis. *Pediatr Crit Care Med* 2004;5:482-489.
28. Hall C, Geiman J, Douglas RG. Possible transmission by fomites of respiratory syncytial virus. *J Infect Dis* 1980;141:98-102.
29. Black CP. Systematic review of the biology and medical management of respiratory syncytial virus infection. *Respir Care* 2003;48(3): 231-233.
30. Mansbach J, Kunz S, Acholonu U ve ark. Evaluation of compliance with palivizumab recommendations in a multicenter study of young children presenting to the emergency department with bronchiolitis. *Pediatr Emerg Care* 2007;23(6):362-367.

- 31.** Welliver RC, Ogra PL. Respiratory syncytial virus In:Gorbach SL, Barlett JG, Blacklow NR (eds). Infectious Diseases, second edition. WB Saunders Company 1998:2148-2150.
- 32.** Hall CB, Mc Carthy CA. Respiratory syncytial virus. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. 4th edition. Churchill Livingstone. 1995:1501-1509.
- 33.** Smith MC, Creutz C, Huang YT. Detection of respiratory syncytial virus in nasopharyngeal secretions by shell vial technique. J Clin Microbiol. 1991;29(3):463-465.
- 34.** Woo PC, Chiu SS, Seto WH, Peiris M. Cost-effectiveness of rapid diagnosis of viral respiratory tract infections in pediatric patients. J Clin Microbiol. 1997;35(6):1579-1581.
- 35.** Halstead DC, Todd S, Fritch G. Evaluation of five methods for respiratory syncytial virus detection. J Clin Microbiol. 1990;28(5):1021-1025.
- 36.** Thomas EE, Book LE. Comparison of two rapid methods for detection of respiratory syncytial virus (RSV) (Testpack RSV and ortho RSV ELISA) with direct immunofluorescence and virus isolation for the diagnosis of pediatric RSV infection. J Clin Microbiol. 1991;29(3):632-635.
- 37.** Johnston SL, Siegel CS. Evaluation of direct immunofluorescence, enzyme immunoassay, centrifugation culture, and conventional culture for the detection of respiratory syncytial virus. J Clin Microbiol. 1990;28(11):2394-2397.
- 38.** Gregson D, Lloyd T, Buchan S,Church D. Comparison of the RSV respi-strip with direct fluorescent-antigen detection for diagnosis of respiratory syncytial virus infection in pediatric patients. J Clin Microbiol. 2005;43(11):5782-5783.
- 39.** Freymuth F, Eugene G, Vabret A ve ark. Detection of respiratory syncytial virus by reverse transcription-PCR and hybridization with a DNA enzyme immunoassay. J Clin Microbiol. 1995;33(12):3352-3355.
- 40.** Brandenburg AH, Groen J, van Steensel-Moll HA ve ark. Respiratory syncytial virus specific serum antibodies in infants under six months of age: limited serological response upon infection. J Med Virol. 1997;52(1):97-104.
- 41.** Law BJ, Wang EE, Mac Donald N, et al. Does ribavirin impact on the hospital course of children with RSV infection? An analysis using the pediatric investigators collaborative network on infections in Canada RSV database. Pediatrics 1997;99:E7.
- 42.** Guerguerian AM, Gauthier M, Lebel MH, et al. Ribavirin in ventilated RSV bronchiolitis. Am J Respir Crit Care Med 1999;160(3):829-834.

43. Murata Y. Respiratory syncytial virus vaccine development. Clin Lab Med 2009;29(4):725-739.
44. Sandritter TL, Kraus DM. Respiratory syncytial virus-immunoglobulin intravenous (RSV-IGIV) for respiratory syncytial viral infections: part I. J Pediatr Health Care 1997;11(6):284-291.
45. Impact RSV Study Group: Palivizumab, a humanized respiratory syncytial virus monoclonal antibody, reduced hospitalization from respiratory syncytial virus infection in high-risk infants. Pediatrics 1998;102:531-537.
46. Levy BT, Graber MA. Respiratory syncytial virus infection in infants and young children. J Fam Pract 1997;45(6):473-481.
47. Hernandez E, Khoshoo V, Thoppil D ve ark. Aspiration: a factor in rapidly deteriorating bronchiolitis in previously healthy infants? Pediatr Pulmonol 2002;33(1):30-31.
48. Piedimonte G. The association between respiratory syncytial virus infection and reactive airway disease. Respir Med 2002 ;96:25-29.
49. Noah T, Henderson F, Wortman I ve ark. Nasal cytokine production in viral acute upper respiratory infection of childhood. J Infect Dis. 1995;171(3):584-592.
50. Millchap JJ, Wainwright MS. Neurological complications of respiratory syncytial virus infection: Case series and review of literature. J Child Neurol. 2009 March. [Epub ahead of print]
51. Holberg CJ, Wright AL, Martinez FD ve ark. Risk factors for respiratory syncytial virus-associated lower respiratory illnesses in the first year of life. Am J Epidemiol. 1991;133(11):1135-1151.
52. Sin BA. Allerjik hastalıklarda immunoterapi. Sağlıkta Birikim Dergisi Cilt:1, Sayı:1. 2006; 155-163.
53. Becker Y. Respiratory syncytial virus (RSV) evades the human adaptive immune system by skewing the Th1/Th2 cytokine balance toward increased levels of Th2 cytokines and IgE, markers of allergy-a review. Virus Genes. 2006;33(2):235-252.
54. Tanaç R. Hışılılı çocukta tanı ve ayırıcı tanı (hangisi astım). Güncel Pediatri Dergisi. 2005;3:12-14.
55. Wilson NM. The significance of early wheezing. Clin Exp Allergy 1994;24:522-529.
56. Türkteş İ, Selçuk ZT, Kalyoncu AF. Prevalance of asthma and wheezing in Turkish children. Eur Respir J 1998;(29):52.
57. Çevik D, Ecevit Ç, Altınöz S ve ark. Hışılılı çocuklarda risk faktörleri ve etiyoloji. Toraks Dergisi 2007;8(3):149-155.

58. Taveras EM, Camargo CA, rifas-Shiman SL ve ark. Association of birth weight with asthma-related outcomes at age 2 years. *Pediatr Pulmonol.* 2006;41(7):643-648.
59. Simoes EA, Groothuis JR, Carbonell-Estrany X ve ark. Palivizumab prophylaxis, respiratory syncytial virus, and subsequent recurrent wheezing. *J Pediatr.* 2007;151(1):34-42.
60. Kwinta P, Tomasik P, Klimek M et al. Wheezing in very low birth weight infants: sequence of early neonatal lung injury or increased susceptibility for allergic reactions? Follow-up study up to age of 5-7 years. *Przegl Lek.* 2007;64(3):118-121.
61. Roduit C, Scholtens S, de Jongste JC ve ark. Asthma at 8 yaers of age in children born by caesarean section. *Thorax* 2009;64:107-113.
62. Thavagnanam S, Fleming J, Bromley A ve ark. A meta-analysis of the association between caesarean section and childhood asthma. *Clin Exp Allergy* 2007;38:629-633.
63. Lehtinen P, Ruohola A, Vanto T ve ark. Prednisolone reduces recurrent wheezing after a first wheezing episode associated with rhinovirus infection or eczema. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;119(3):570-575.
64. Tariq SM, Matthews SM, Hakim EA ve ark. The prevalence of and risk factors for atopy in early childhood: a whole population birth cohort study. *J Allergy Clin Immunol.* 1998;101(5):587-593.
65. Janson C. The effect of passive smoking on respiratory health in children and adults. *Int J Tuberc Lung Dis* 2004;8(5):510-516.
66. Pattenden S, Antova T, Neuberger M ve ark. Parental smoking and children's respiratory health: independent effects of prenatal and postnatal exposure. *Tob Control* 2006;15:294-302.
67. Noakes PS, Holt PG, Prescott SL. Maternal smoking in pregnancy alters neonatal cytokine responses. *Allergy* 2003;58:1053-1058.
68. Noakes PS, Hale J, Thomas R ve ark. Maternal smoking is associated with impaired neonatal toll-like-receptor-mediated immune responses. *Eur Respir J* 2006;28:721-729.
69. Lannero E, Wickman M, Pershagen G ve ark. Maternal smoking during pregnancy increases the risk of recurrent wheezing during the first years of life (BAMSE). *Respir Res* 2006;7:3.
70. Magnusson LL, Olesen AB, Wennborg H ve ark. Wheezing, asthma, hay fever and atopic eczema in childhood following exposure to tobacco smoke in fetal life. *Clin Exp Allergy* 2005;35:1550-1556.
71. Xepapadaki P, Manios Y, Liarigkovinos T ve ark. Association of passive exposure of pregnant women to environmental tobacco smoke with asthma symptoms in children. *Pediatr Allergy Immunol.* 2009;20(5):423-429.

- 72.** Oddy WH, Peat JK, Klerk NH. Maternal asthma, infant feeding, and the risk of asthma in childhood. *J Allergy Clin Immunol.* 2002;110(1):65-67.
- 73.** Rusconi F, Galassi C, Corbo GM ve ark. Risk factors for early, persistent, and late-onset wheezing in young children. SIDRIA Collaborative Group. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999;160:1617-1622.
- 74.** Halkenen S. Prevention of allergic disease in childhood: clinical and epidemiological aspects of primary and secondary allergy prevention. *Pediatr Allergy Immunol* 2004;16(4-5):9-32
- 75.** Karaman Ö, Uğuz A, Uzuner N. Risk factors in wheezing infants. *Pediatr Int* 1999;41:147-150.
- 76.** Han Y-Y, Lee Y-L, Guo YL. Indoor environmental risk factors and seasonal variation of childhood asthma. *Pediatr Allergy Immunol.* 2009;1-9.
- 77.** Kusel MM, Klerk NH, Kebabdzic T ve ark. Early-life respiratory viral infections, atopic sensitization, and risk of subsequent development of persistent asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;119(5):1105-1110.
- 78.** Henderson J, Hilliard TN Sherriff A ve ark. Hospitalization for RSV bronchiolitis before 12 months of age and subsequent asthma, atopy and wheeze: A longitudinal birth cohort. *Pediatr Allergy Immunol* 2005;16:386-392.
- 79.** Pérez-Yarza EG, Moreno A, Lázaro P ve ark. The association between respiratory syncytial virus infection and the development of childhood asthma: a systematic review of the literature. *Pediatr Infect Dis J* 2007;26(8):733-739.
- 80.** Bosis S, Esposito S, Niesters HG ve ark. Role of respiratory pathogens in infants hospitalized for a first episode of wheezing and their impact of recurrences. *Clin Microbiol Infect* 2008;14:677-684.
- 81.** Dakhama A, Park JW, Taube C ve ark. The enhancement or prevention of airway hyperresponsiveness during reinfection with respiratory syncytial virus is critically dependent on the age at first infection and IL-13 production. *J Immunol.* 2005;175(3):1876-1883.
- 82.** Pala P, Bjarnason R, Sigurbergsson F ve ark. Enhanced IL-4 responses in children with a history of respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy. *Eur Respir J* 2002;20:376-382.
- 83.** You D, Becnel D, Wang K ve ark. Exposure of neonates to respiratory syncytial virus is critical in determining subsequent airway response in adults. *Respir Res* 2006;7:107.

- 84.** Pino M, Kelvin DJ, Bermejo-Martin JF ve ark. Nasopharyngeal aspirate cytokine levels 1 yr after severe respiratory syncytial virus infection. *Pediatr Allergy Immunol.* 2009 Feb 28. [Epub ahead of print].
- 85.** Castro M, Schweiger T, Yin-DeClue H ve ark. Cytokine response after severe respiratory syncytial virus bronchiolitis in early life. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;122(4):726-733.
- 86.** Taussig LM, Wright AL, Holberg CJ ve ark. Tucson's children's respiratory study:1980 to present. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:661-675.
- 87.** Choi EH, Lee HJ, Yoo T, Chanock SJ. A common haplotype of interleukin-4 gene IL4 is associated with severe respiratory syncytial virus disease in Korean children. *J Infect Dis* 2002;186(9):1207-1211
- 88.** Tian M, Liu F, Wen G ve ark. Effect of variation in RANTES promoter on serum RANTES levels and risk of recurrent wheezing after RSV bronchiolitis in children from Han, Southern China. *Eur J Pediatr.* 2009;168(8):963-967.
- 89.** Somers CC, Ahmad N, Mejas A ve ark. Effect of dexamethasone on respiratory syncytial virus-induced lung inflammation in children: results of a randomized, placebo controlled clinical trial. *Pediatr Allergy Immunol.* 2009;20(5):477-485.
- 90.** Heymann PW, Carper HT, Murphy DD ve ark. Viral infections in relation to age, atopy, and season of admission among children hospitalized for wheezing. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;114(2):239-247.
- 91.** Bont L, Steijin M, van Aalderen WMC ve ark. Seasonality of long term wheezing following respiratory syncytial virus lower respiratory tract infection. *Thorax.* 2004;59(6):512-516.
- 92.** Kotaniemi-Syrjänen A, Vainionpää R, Reijonen TM ve ark. Rhinovirus-induced wheezing in infancy- the first sign of childhood asthma? *J Allergy Clin Immunol* 2003;111(1):66-71.
- 93.** Valkonen H, Waris M, Ruohola A ve ark. Recurrent wheezing after respiratory syncytial virus or non-respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy: a 3-year follow-up. *Allergy.* 2009;64(9):1359-1365.
- 94.** Jartti T, Anttila MP, Lehtinen P. Systemic T-helper and T-regulatory cell type cytokine responses in rhinovirus vs. respiratory syncytial virus induced early wheezing: an observational study. *Respir Res* 2009;10:85.

