

# Türkiye’de 2003-2004 ve 2004-2005 Yıllarında Grip Sürveyansı ve İzole Edilen İnfluenzavirus Suşlarının Tiplendirimi

Atilla Önal, Seyhan Aslan, Emel Bozkaya, Selim Badur

**Özet:** 2000’li yıllara girdiğimizde Dünya Sağlık Örgütü’nün grip sitesi olan Flunet’de ([www.who.int/flunet](http://www.who.int/flunet)), ülkemize ait herhangi bir veri yer almıyordu. Ayrıca her yıl içeriği değişen grip aşularının, ülkemizde dolaşımdaki influenzavirus suşları ile örtüşüp örtüşmediği sorusu yanıtız kalmakta idi. İşte bu iki neden bizi influenza virusları ile çalışmaya itti. Bu makalede geçtiğimiz son iki grip mevsiminde ülkemizde gerçekleştirilen bir pilot sürveyans çalışmasının sonuçları ile, aynı yıllarda izole edilen influenzavirus suşlarının tiplendirme bulguları tartışılmıştır.

**Anahtar Sözcükler:** Grip, influenza, sürveyans, tiplendirme.

**Summary:** Influenza surveillance in Turkey during 2003-2004 and 2004-2005 years and typing of influenzavirus strains isolated. There was no data available at the flu website ([www.who.int/flunet](http://www.who.int/flunet)) of World Health Organization concerning flu in Turkey until the beginning of 2000. In addition, there was no information available whether the available vaccines, whose content change every year, were compatible with the influenzavirus strains that are in circulation in Turkey. These facts triggered our current study. In this article, results of a pilot surveillance study, completed in the past two flu seasons in Turkey, and typing of isolated influenza virus strains has been discussed.

**Key Words:** Flu, influenza, surveillance, typing.

## Giriş

Grip üzerinde çok tartışılan; bazı kesimlerin gereksiz yere abartıldığını söyledikleri, aksi düşüncede olanların ise yakın bir gelecekte ölümcül pandemilere yol açacağını ileri sürdükleri, toplumda hızla yayılan akut solunum yolu infeksiyonudur. Pandemiler arası dönemlerde, her yıl ortalama olarak dünya nüfusunun %5-30’unu tutan gripin neden olduğu komplikasyonların ve bazı özel gruplardaki yüksek mortalite oranlarının yanı sıra; ülkeleri ciddi boyutlarda etkileyecek şekilde ekonomik kayıplara neden olduğu bilinmektedir. 1930’lu yıllara dek etyolojisi bilinmeyen grip tablosundan, influenza viruslarının sorumlu olduklarının saptanması, bu yıllarda Smith ve arkadaşları (1)’nin etkeni izole etmeleri ile gerçekleşmiştir. Sonraki dönemde influenza viruslarının A, B ve C harfleri ile gösterilen üç tipi belirlenmiş; üretim için uygun hücre kültürü sistemleri geliştirilmiş ve nihayet etkenin hemaglutinasyon özelliği belirlenerek serolojik çalışmalar mümkün kılınmıştır (2). Bugün gelinen noktada grip olgusu, sosyal ve ekonomik boyutları olan, özellikle sanayileşmiş toplumlarda ülke ekonomisine getirdiği yüklerin hesaplandığı bir gerçek olarak karşımızdadır (3).

Ülkemizde bildiri zorunlu hastalıklar arasında yer almasına, yazılı ve görsel basında her yıl bol miktarda spekülasyonlara yol açmasına karşın, boyutu ve etkeni konusunda çok faz-

la çalışmanın yapılmadığı bu önemli infeksiyon hastalığı ile iki nedenden ötürü ilgilenmeye karar verdik. Bunlardan birincisi, 2003 yılına dek Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)’nün grip konusundaki web sitesinde ([www.who.int/flunet](http://www.who.int/flunet)) Türkiye’ye ait hiçbir verinin yer almaması; ikinci neden ise, her yıl sonbahar aylarında gündeme yoğun biçimde damgasını vuran grip aşılama konusuna hekimlerimizin kuşkulu yaklaşımlarıydı. Nitekim her yıl içeriği değişen grip aşularının formülünde yer alan antijenlerin, ülkemizde dolaşımdaki virus suşları ile örtüşüp örtüşmediği tartışılmakta ve bu soruya bilimsel yanıt bulunana dek kuramsal düzeydeki fikir ayrılıklarının süreceği görülmekte idi.

Ancak ülkemizde gripin önemini, boyutunu ve nelere yol açtığını belirleyecek bir sürveyans sistemi bulunmamaktadır. Bu sebeple sorunun yanıtı için Türkiye’nin çeşitli bölgeleri ile ilgili gerekli verilere ulaşmamızı sağlayacak bir pilot çalışma yapılması düşünülmüş; bu amaçla a) sağlık kurumlarına başvuran haftalık toplam hasta sayıları ve influenza benzeri hastalık (İBH) tanısı alan olgulara ait veriler toplanarak, toplumdaki grip aktivitesi belirlenmeye çalışılmış; b) gönderilen örneklerden influenza viruslarının izolasyonu ve elde edilen suşların tip ve alt tip tayinleri gerçekleştirilerek dolaşımdaki virusların belirlenmesi hedeflenmiştir.

Bu çalışma, ülkemizdeki influenza suşlarının tip ve alt tiplerinin belirlenmesi konusunda gerçekleştirilen ilk araştırma olması nedeniyle, yukarıdaki soruların yanıtlanmasına katkıda bulunacağından önem taşımaktadır.

## Yöntemler

Çalışmamızın ilk bölümünde, ülkemizdeki grip salgılarının zamanı ve etkilerini saptamak için istatistiki verilerin toplanması öngörülmüş; bu amaçla 2003 yılı 44. haftası ile, 2004

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Viroloji ve Temel İmmünoloji Bilim Dalı, Çapa-İstanbul

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projelerince desteklenmiştir. Proje No: T298/18062003.

yılı 8. haftaları arasında, Marmara, Ege, Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde yer alan toplam 12 sağlık kurumundan, haftalık olarak bu kurumlara ayaktan başvuran hastaların sayıları ile, İBH tanısı konanların sayıları alınmış; çalışmanın standardizasyonu açısından hekimlerden İBH tanısında ortak kriterlere (ani başlayan 38°C üzerinde ateş vb.) uyulması istenmiştir. Aynı çalışma 2004-2005 sezonunda, 2004 yılının 41, 2005 yılının ise 16. haftaları arasında ve yine 12 sağlık kurumunda, ancak 2003-2004 sezonundan farklı bir merkezin dahil olmasıyla Marmara, Karadeniz, Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde gerçekleştirilmiştir. Her iki dönemde verilerini gönderen kurumların isimleri şunlardır: Ege Üniversitesi Mediko Sosyal Merkezi (İzmir), Gültepe Ana Çocuk Sağlığı ve Aile Planlaması (AÇSAP) Merkezi (İstanbul), Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi (İstanbul), Adana SASA Dupont SA Sağlık Merkezi (Adana), Gaziantep Özel Konukoğlu Hastanesi (Gaziantep), Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi (İstanbul), Andeva (Antalya), Ortaköy AÇSAP Merkezi (İstanbul), Dr. Sadık Ahmet Hastanesi (İstanbul), Tepeüstü AÇSAP Merkezi (İstanbul), Aviva Sigorta (İstanbul), Türk Pirelli Sağlık Merkezi (Kocaeli) ve SSK Samsun Hastanesi (Samsun).

Çalışmanın ikinci bölümünde, yurdumuzun yukarıda belirtilen bölgelerinden toplam 23 merkezde görev yapan pratisyen hekimler ve çocuk sağlığı ve hastalıkları uzmanları ile işbirliği yapılmış; belirli semptomları taşıyan hastalardan, onayları alındıktan sonra burun sürüntüsü, farinks sürüntüsü veya nazofaringeal aspirat örnekleri alınarak, transport besiyerleri içinde, + 4°C'de ve en fazla 72 saatte laboratuvarımıza göndermeleri sağlanmıştır. Bu koşullarda, 2003-2004 sezonunda 204; 2004-2005 sezonunda ise 458 örnek inceleme için İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Viroloji ve Temel İmmünoloji Bilim Dalı, İnfluenza Laboratuvarı'na ulaştırılmıştır.

Laboratuvarımızda izolasyon ve tiplendirme çalışmalarında, işbirliği yaptığımız: Kuzey Fransa için referans laboratuvarı olan Paris-Pasteur Enstitüsü Solunum Virusları Moleküler Genetik Ünitesi (Institut Pasteur-Unité Génétique Moléculaire des Virus Respiratoires, Paris, France) ve Güney Fransa için referans laboratuvarı olan Claude Bernard Üniversitesi Viroloji Laboratuvarı (Laboratoire de virologie-Université Claude Bernard, Lyon, France) yöntemleri ve tip/alt tiplerin saptanması için bu merkezlerden sağlanan reaktifler kullanılmıştır.

Laboratuvarımıza uygun koşullarda ulaşan örnekler homojenizasyon ve santrifüjde çevirme işlemine tabi tutulmuş; elde edilen hücre çökeltisi, "respiratory syncytial virus" (RSV) araştırılması için direkt immünofluoresan antikor (IFA) yönteminde; üst sıvı ise RSV'nin izolasyonu ve influenza virusunun izolasyonu ve tiplendirilmesi amacıyla hücre kültüründe kullanılmıştır. IFA yönteminde hücre çökeltisi pH 7.2 olan fosfat tamponlu suda (PBS) üç kere yıkandıktan sonra lam üzerine yerleştirilmiş; RSV'ye spesifik fluorescein isothiocyanate (FITC) ile işaretli monoklonal antikorlar (BIO-RAD, Monofluorescein, France) kullanılarak RSV'lerin varlığı aranmıştır. Hücre kültürü yönteminde üst sıvının 100 µl'si, influenza virusu izolasyonu amacıyla serumsuz besiyeri ile yıkanmış tam tabaka halindeki Madine-Darby Canine Kidney (MDCK) hücrelerine ekilmiş; plaklar 2700 devir/dakika hızda 34°C'de 30 dakika santrifüjde çevrilmiş; çukurlara tripsin-TPCK içeren MEM besiyeri eklenmiş ve plaklar %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda

34°C'de üç gün bekletilmiştir. Ekimden 72 saat sonra kültür üst sıvısında influenza virusu üremesinin varlığını tespit etmek için hemagglütinasyon (HA) deneyi, virusu tespit ve A/B tip ayırımını yapmak için ise immün yakalama esaslı ELISA (Immuncapture ELISA; IC-ELISA) yöntemi uygulanmıştır. Üreme tespit edilmeyen kültür üst sıvıları tam tabaka halindeki MDCK hücrelerine ekilmiş ve üç günlük inkübasyondan sonra HA ve IC-ELISA deneyleri tekrarlanmıştır. Materyalden ayrılan üst sıvının 100 µl'si ise RSV izolasyonu için HEp2 hücrelerine ekilmiş ve sitopatik etki için her gün incelenerek iki hafta %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda 34°C'de inkübe edilmiştir.

IC-ELISA testinde, plaklar anti-influenza A ve B spesifik monoklonal antikorları ile (T17C2 ve 8F10E10, Ulusal İnfluenza Merkezi, Lyon, Fransa) kaplanmış; doyurma işlemi takiben, çukurlara % 5'lik triton (10 µl) ve muayene maddesi (90 µl) eklenmiş; 37°C'de iki saat inkübasyonu ve yıkamayı takiben, önce tavşanda hazırlanmış anti-influenza A (H3N2) ve (H1N1) ile anti-influenza B poliklonal antikorları (sırayla, L748, L750 ve L755-Ulusal İnfluenza Merkezi, Lyon-Fransa) ilave edilmiş; daha sonra keçide hazırlanmış peroksidaz işaretli anti-tavşan antikorları (Biosource Int., Camarillo, ABD) ve spesifik substratı (ABTS- Roche Diagnostics) eklenerek, oluşan renklenmenin şiddeti 630 nm dalga boyundaki absorbans değerinin ölçümü ile saptanmıştır.

IC-ELISA ile influenza A veya B için pozitif sonuç veren örnekler, virusun tiplendirilmesi için çoğaltılmıştır. Virusların titresini belirlemek amacıyla, kültür üst sıvısından % 0.8'lik kobay eritrositleri ile HA deneyi yapılmış; virus titresi 16 HA ünitesinin üzerinde ise hemagglütinasyon inhibisyon deneyi (HAI) ile influenza viruslarının alt tiplendirilmesine geçilmiştir.

Çalışmamızda uygulanan HAI testinde Paris'teki Pasteur Enstitüsü'nden sağlanan; anti-A/Panama/2007/99 (H3N2), anti-A/Sydney/5/97 (H3N2), anti-A/Moscow/10/99 (H3N2), anti-A/New Caledonia/20/99 (H1N1), anti-A/Bayern/7/95 (H1N1), anti-A/Chile/6416/01 (H1N1), anti-B/Hong Kong/330/01 gelincik serumları kullanılmıştır. Virus süşunun 4 HA ünitelik sulandırılmaları, gelincik serumları ile ayrı ayrı muamele edilmiş; oda ısısında bir saat bekletildikten sonra tüm kuyulara % 0.8'lik kobay eritrositi süspanasyonu eklenip, bir saat sonunda gözlenen HA inhibisyonu kaydedilmiştir (4).

### Sonuçlar

Çalışmamızda ülkemizdeki grip aktivitesini belirlemek amacıyla geniş ölçekte uygulanması gereken bir surveyans planının pilot çalışması gerçekleştirilmiş; bu amaçla istatistik bilgilerinin dışında laboratuvar verilerinden de yararlanılması düşünülmüştür.

### İstatistikî Bulgular

**2003-2004 sezonu istatistikî bulguları:** İstatistikî analizler için ülkemizin dört bölgesine dağılmış toplam 12 sağlık kurumundan 37 921 hastaya ait veriler laboratuvarımıza ulaşmış, bunlardan 11 698'ine (% 30.8) İBH tanısı konduğu saptanmıştır. İBH tanısı alan hastaların, toplam hastalara oranı, 52. ve 2. haftalar arasında en yüksek değerlere ulaşmış olup, 52. haftada Marmara, 2. haftada Ege, 3. haftada ise Akdeniz bölgesinde İBH tanısı alan hastalar en yüksek oranlarına ulaşmıştır. İBH tanısı alanların yaş gruplarına göre dağılımlarına bakıldığında 0-4 ve 5-14 yaş gruplarına ait olguların sezonun erken dönemlerinde ilk sırayı aldıkları; bu gruplardaki tanı oranları-

**Tablo 1. İnfluenza A, B ve RSV'nin Farklı Yaş Gruplarında İzolasyon Oranları (2003-2004)**

Yaş Grubu	İnfluenza A		RSV	
	n	(%)	n	(%)
0-14 (n=91)	31	(34.1)	10	(11)
15-59 (n=110)	57	(51.8)	1	(0.9)
>60 (n=3)	3	(100)	0	-
Toplam (n=204)	91		11	

nın azalması ile > 14 yaş grubunun ön plana çıktığı görülmüştür. Grip olgularının ülkemizde ne oranda iş gücü veya okul günü kaybına neden olduğunu saptamak amacıyla yapılan sorulamada, 5 yaş üstünde İBH tanısı konmuş 7 765 kişinin toplam 752 gün rapor aldıkları saptanmıştır (Şekil 1).

**2004-2005 sezonu istatistikî bulguları:** Yine dört bölgeden, ancak Ege bölgesi yerine Karadeniz bölgesindeki bir merkezin yer aldığı 12 sağlık kurumundan laboratuvarımıza istatistikî verisi ulaşan 38 798 hastanın 9 859'una (% 26) İBH tanısı konmuştur. Bu sezonda 42. ve 52. haftalar arasında İBH tanısı alan hastaların toplam hastalara oranı en yüksek değerini bulmuştur. Bölgele göre İBH tanılı hastaların oranı incelendiğinde Marmara bölgesinde 51. haftada, Akdeniz bölgesinde 53. haftada, Karadeniz bölgesinde ise 46. haftada en yüksek orana rastlanmıştır. İBH tanılı hastaların yaş gruplarına olan dağılımları incelendiğinde sezonun erken döneminde 0-4 yaş gruplarına ait İBH tanılı hastaların sayısı yüksek gözükmemekte, bu yaş grubu hasta sayısının düşüşe geçtiği sonraki haftalarda ise diğer yaş grupları hasta sayısının arttığı görülmektedir. İBH tanılı, 5 yaş üstü 4 212 hastanın toplam olarak 233 gün rapor aldıkları belirlenmiştir (Şekil 2).

#### Laboratuvar Bulguları

**2003-2004 sezonu laboratuvar bulguları:** Bu dönemde laboratuvarımıza ülke genelindeki 23 merkezden toplam 204 örnek gönderilmiş olup, 91 örnekte (% 44.6) influenza A suşu izole edilmiştir. Bu sezonda influenza B izole edilmemiştir. Aynı dönemde 11 adet (%5.4) RSV suşu saptanmıştır. Aylara göre en yüksek izolasyon sayısına aralık (% 58.9) ve ocak (% 54.5) aylarında erişilmiştir. Sonuçta ülkemiz genelinde en yüksek influenza virusu izolasyonu 50. ve 3. haftalar arasında belirlenmiş; influenza suşlarının izolasyon oranlarının düşmeye başladığı 3. haftadan itibaren, hem İBH tanısı alan olgularda belirgin bir azalma, hem de RSV saptama oranlarında artış gözlenmiştir (Şekil 1). İnfluenza izolasyonlarının yaş gruplarına dağılımı incelendiğinde en yüksek izolasyonun 15-59 yaş grubunda olduğu (%51.8), RSV'ün ise % 11'lik oranla en çok

**Tablo 2. İnfluenza A, B ve RSV'nin Farklı Yaş Gruplarında İzolasyon Oranları (2004-2005)**

Yaş Grubu	İnfluenza A		İnfluenza B		RSV	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
0-14 (n=313)	78	(24.9)	1	(0.3)	36	(11.5)
15-59 (n=142)	8	(5.6)	10	(7.0)	0	-
>60 (n=3)	0	-	3	(100)	0	-
Toplam (n=458)	86		14		36	

0-14 yaş grubunda saptandığı görülmüştür (Tablo 1).

İzole edilen influenza A suşlarının tiplendirilmesi sonucunda, tamamının A (H3N2) alt tipine ait oldukları belirlenmiş; HAI deney sonuçlarında ise elde referans suşların hiçbirisine yakın olmadıkları saptanmış ve Lyon ve Paris-Fransa'daki Ulusal Merkezlere gönderilen 24 suşun tamamı, elimizde referans serum ve suşu olmadığından deneme olanağı bulamadığımız A/Fujian/411/02 referans virus antijeni ile bağlantılı bulunmuştur.

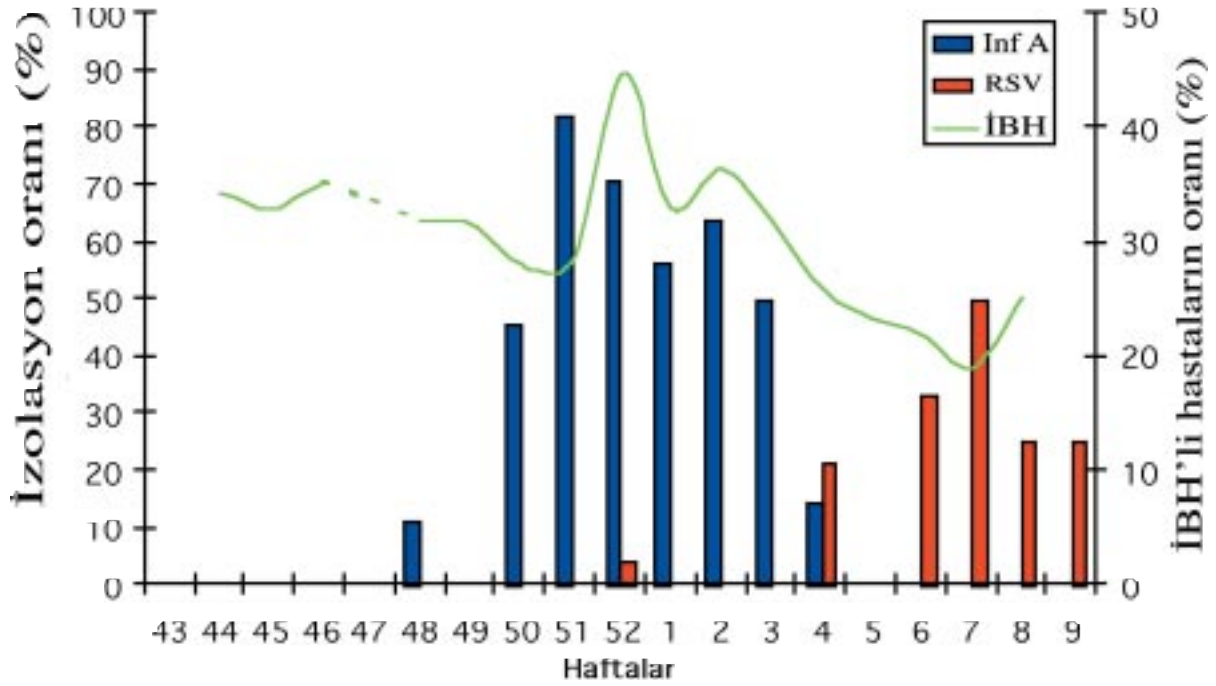
**2004-2005 sezonu laboratuvar bulguları:** Bu dönemde laboratuvarımıza ülke genelindeki 23 merkezden toplam 458 örnek gönderilmiş olup, 86 örnekte (%18.8) influenza A, 14 örnekte (% 3.1) influenza B, 36 örnekte (%7.9) ise RSV saptanmıştır. 2003-2004 sezonundan farklı olarak en yüksek influenza A izolasyonu 0-14 yaş grubunda (%24.9) bulunmuştur. Aylara göre virus izolasyon dağılımı incelendiğinde en yüksek influenza A izolasyonu ocak (%67.4) ve aralık (%22) aylarında, influenza B izolasyonu ise mart ayında (%100) gerçekleşmiştir. Sonuç olarak İBH semptomları bulunan hastaların haftalık sayısının 50. ve 2. haftalar arasında virus izolasyonu ile uyumlu olduğu görülmektedir. RSV saptama oranı influenza virusu izolasyonunun henüz görülmeye başladığı 43. ve 44. haftalarda pik yapmış, influenza izolasyonunun azalmasıyla başladığı 6. haftadan itibaren tekrar artmaya başlamıştır (Şekil 2). Bu sezondaki RSV saptama oranı incelendiğinde influenza A'dakine benzer şekilde en yüksek pozitifliğin 0-14 yaş grubunda olduğu görülmüştür (Tablo 2).

İzole edilen influenza A suşlarından 43'ü tiplendirilmiş; bu suşlardan 27'si (% 62.8) A/New Caledonia/20/99 ile ilişkili olmak üzere toplam 38'inin (% 88.4) H1N1, beşinin ise (% 11.6) H3N2 alt tiplerine ait oldukları belirlenmiştir. Alt tiplendirme işlemini takiben, 2004-2005 sezonunda elimizde bulunmayan referans serum ve suşların devreye girmesi gerektiğinden, elde ettiğimiz ve tiplendirdiğimiz örnekler Londra Referans Merkezine gönderilmiş; 27 H1N1 suşunun tamamının A/New Caledonia/20/99 ve yeni referans virusu A/Netherlands/128/2004 ile, üç H3N2 suşunun ise A/Shantou/1219/2004 ile bağlantılı olduğu bulunmuştur.

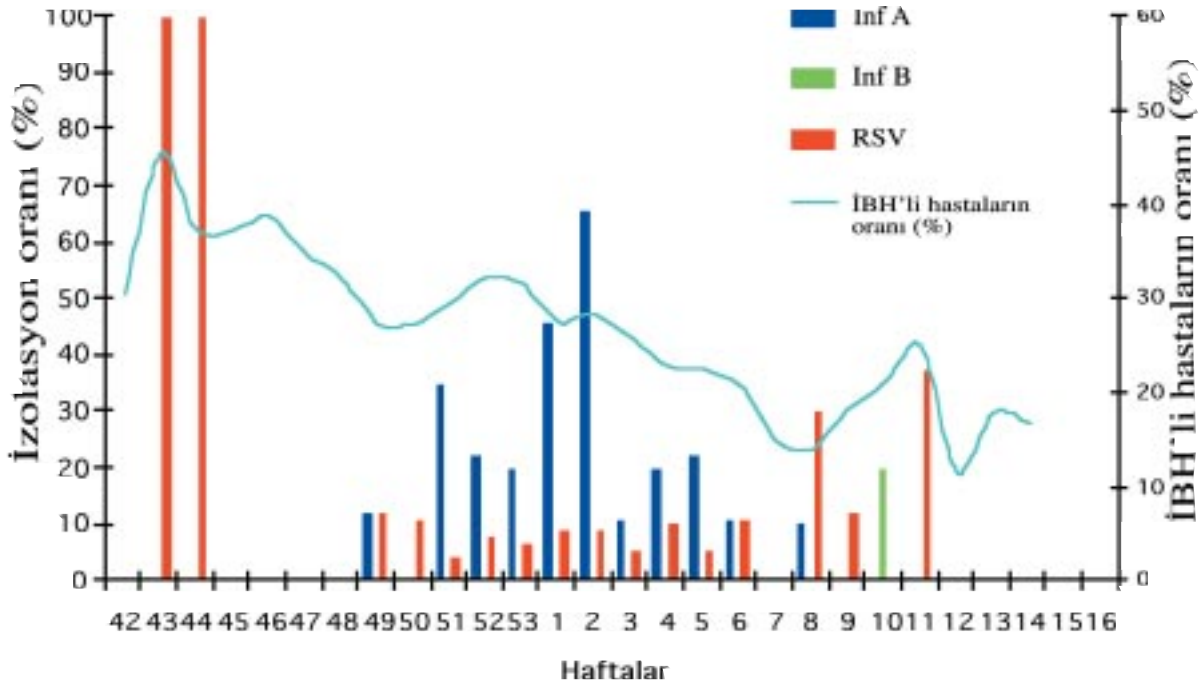
#### İrdeleme

Bir toplumda belirli zaman dilimlerinde söz konusu olan grip aktivitesinin izlenmesi farklı yollardan yapılabilir. Bu amaçla kantitatif göstergeler olarak tanımlanan ve özellikle birinci basamak sağlık hizmetleri düzeyinde gerçekleştirilecek morbidite verilerinin toplanmasında yanında, kantitatif göstergeler olarak isimlendirilen ve daha kısıtlı sayıdaki olguda gerçekleştirilecek laboratuvar bulgularının birlikte değerlendirilmesi gereklidir. Örneğin bir sağlık kurumuna başvuran hasta sayısı ve bunlar arasında İBH tanısı alanların oranını izlemek,

o toplumdaki grip aktivitesi konusunda önemli ipuçları verir. Ancak böyle bir yol izlenecek ise, spesifik semptomları olmayan İBH tablosunun tanımı konusunda ortak ve bilimsel bir yaklaşım sağlanmalıdır. Olgu tanımının için başından itibaren standardize edilmesi, verilerin değerlendirilmesi ve kıyaslanması açılarından önem taşır. DSÖ, grip aktivitesinin hareketlendiği bir toplumda, semptomların ani başlaması ve 38°C'nin üzerinde ateş gibi bulgulara ek olarak, hal-sizlik, boğaz ağrısı, baş ağrısı, myalji vb.



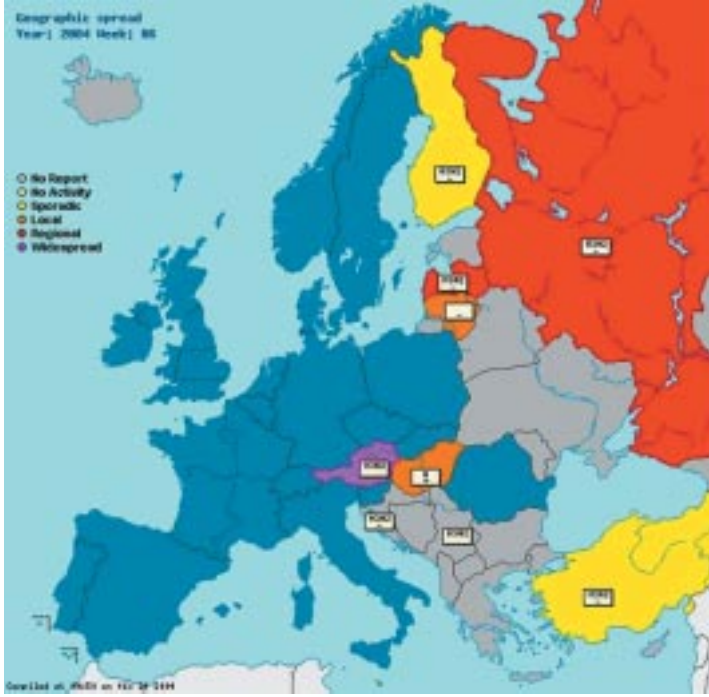
Şekil 1. İBH tanısı ve virus izolasyonu oranlarının haftalara göre dağılımı (2003-2004) (47. hafta tatil dönemine rastladığından yeterli veri toplanamamıştır).



Şekil 2. İBH tanısı ve virus izolasyonu oranlarının haftalara göre dağılımı (2004-2005).

bulguların ikisinin varlığının, gribin %70 oranında doğru biçimde tanımlanması için yeterli olduğunu bildirmektedir (5). Bu arada henüz gribin klinik tanısı için bir standardizasyonun sağlanmadığı; Hollanda gibi bazı ülkelerde İBH tanımlaması-

nın esas alındığı, Almanya gibi başka ülkelerde ise akut solunum yolu infeksiyonu gibi daha genel bir değerlendirilmenin yapıldığı görülmektedir (6). Aktivitenin izlenmesinde ikinci olarak laboratuvar bulgularına gereksinim vardır; ancak izolas-



Şekil 3. www.eurogrog.org sitesinde ülkemize ait verilerin de yer aldığı harita.

yan ve tiplendirme çalışmalarının emek-yoğun özelliği ve pahalı oluşu, her şüpheli olgudan örnek alınıp, izolasyon yapmak yerine, belirli bir örnekleme esasına dayanarak az sayıda muayene maddesi ile çalışılmasını gerekli ve yeterli kılar.

Türkiye’de yapılan ilk influenza sürveys çalışmaları Refik Saydam Hıfzısıhha Enstitüsü tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu konuda 1957-1958 sezonunda başlayan çalışmalar, 1963-1976 yıllarında sürdürülmüştür (7-15). Berke (7) tarafından yürütülen Asya gribinin Türkiye’deki izlemi, epidemi konusunda oldukça ayrıntılı bilgiler vermiştir. Bu incelemeye göre, Türkiye’deki toplam grip olgusu sayısı tam olarak bilinmemekle birlikte, Ağustos 1957 ve Mayıs 1958 tarihleri arasında rapor edilen olgu sayısı 378 330’dur. Aylara göre dağılım incelendiğinde, en fazla grip olgusunun 116 765 ve 125.968 sayıları ile Eylül ve Ekim aylarında ortaya çıktığı saptanmıştır. Ankara Tıp Fakültesinde tedavi edilen 100 olgunun yaş gruplarına bakıldığında, 20-29 yaş grubu (%48) ve 11-19 yaş grubu (%31) ilk sıraları almaktadırlar; bu dönemde gribe bağlı bildirilen ölüm sayısı 32’dir. Bu çalışmada embriyonlu tavuk yumurtasına ekimi yapılan 176 örnekten 41 adet influenza A virusu izole edilmiş; HAI deneyi ile gerçekleştirilen tiplendirme çalışmalarında bu suşların A/Singapore/1/57 referans suşu ile bağlantısı kanıtlanmıştır.

Ülkemizde influenza viruslarının izolasyon ve tiplendirilmesinin yanısıra, sürveys çalışmalarına da bir örnek oluşturması amacıyla gerçekleştirilen bizim çalışmamızda, dört farklı bölgede yer alan 12 sağlık kurumundan, poliklinik başvuruları ve aynı tarihlerde İBH tanısı konulan olguların sayısı toplanmış; İBH tanısında bir standardizasyon sağlamak amacıyla ortak kriterler belirlenmiştir. Sonuçta 2003-2004 sezonu için 37

921 olgu içinde 11 698’ine (%30.8) İBH tanısının konduğu saptanmış; bunların 7 765’inin (%66.4) 5-50 yaş grubunda hastalar olduğu belirlenmiştir. İBH tanısı konanların haftalara göre dağılımlarına bakıldığında, en fazla olguya Aralık ayının ikinci yarısında (50. hafta) rastlanıldığı saptanmıştır. Bu bulgu, olguların 4. haftadan sonraki dönemlerde yoğunlaştığını bildiğimiz daha önceki yılların bulguları ile kıyaslandığında, 2003-2004 sezonunda grip aktivitesinin daha erken dönemlere kaydığını göstermektedir. Aynı çalışma 2004-2005 sezonu için de gerçekleştirilmiş ve toplam 38 798 hastanın 9 859’una (%26) İBH tanısı konduğu belirlenmiştir. Bu hastaların 4 212’sinin (% 41.7) beş yaş üstü grupta yer aldıkları; en fazla İBH tanısının ise 42. ve 52. haftalar arasında konulduğu saptanmıştır. İBH tanısı konan yaş gruplarının zamana dağılımı incelendiğinde ise iki sezonda da İBH tanısı konmuş çocuk yaş grubundaki olguların sezonun erken döneminde yoğunlaştığı; bu yaş grubundan hastaların azalmaya başladığı sonraki aylarda ise yetişkin hasta sayısının arttığı görülmektedir. Her iki sezona ait verilerin birlikte değerlendirilmesinde, ülkemizdeki grip olgusunun ekonomiye etkisi konusunda yeterli ve sağlıklı sonuçlara erişilememiştir. Ancak 2003-2004 sezonunda %66.4’ü 5-50 yaş grubunda yer alan İBH olgularına toplam 752 gün; 2004-2005 sezonunda ise %41.7’si benzer yaş diliminde yer alan olgulara toplam 233 gün rapor verildiği saptanmıştır. Konunun ülkemiz ekonomisine etkisini gerçekçi biçimde ortaya koyacak daha kapsamlı araştırmalara gereksinim vardır.

Çalışmanın laboratuvar bulgularına dayanan ikinci bölümünde, 2003-2004 sezonunda seçilmiş olgulardan toplanan 204 örneğin 91’inde (%44,6) influenza A suşu izole edilmiş, influenza B suşuna ise rastlanmamıştır. Gönderilen örneklerde virus saptama oranları, aralık (%58.9) ve ocak (%54.5) aylarında en yüksek düzeylere erişmiştir. Aynı dönemde ABD’de toplam 130 577 örnekteki izolasyon oranı %18.9 (16), Avrupa genelinde ise 18 464 örnekte %26.6 olarak bildirilmiştir (17). Batı ülkelerine kıyasla, çalışmamızdaki yüksek izolasyon oranı (%44 6) laboratuvar ve reaktif olanaklarımızın kısıtlı olması nedeniyle, örnek gönderecek merkezlerden klinik olarak grip olma olasılığı yüksek kişilerden örnek alınmasını istememiz ile ilintili olabilir. Ayrıca kullandığımız yöntemde, klasik hücre kültüründen farklı olarak, örneklerin ekilmesinden sonra hücreleri içeren flasklar santrifüjde çevrilmiş ve birçok araştırmacı bu uygulamanın virus izolasyon oranlarını artırdığını bildirmiştir (18,19).

İnfluenza suşlarının izolasyon oranları yaş gruplarına göre incelendiğinde, en yüksek pozitifliğe (%51.8) 15-59 yaş grubunda rastlanmıştır. Bu durumda okul ve iş hayatında aktif olan bu yaş diliminin, grip salgınlarında en fazla etkilenen yaş grubu olduğu anlaşılmaktadır. Buna karşın RSV saptanması % 90.9’luk bir oranla 0-14 yaş grubunda net olarak çok yüksek bulunmuştur; bu bulgu ülkemizdeki RSV epidemiyolojik verileri ile uyum göstermektedir (20).

Laboratuvarımızın bulguları aylara göre değerlendirildiğinde, en yüksek influenza A izolasyonu 50. ve 3. haftalar arasında gerçekleştirilmiştir ve Aralık-Ocak dönemini kapsayan

bu dönem, kuzey yarımkürede grip sezonunun en aktif olduğu döneme tekabül etmektedir. İzolasyonların zamanlamasına bakıldığında ABD’de de 48.haftada %35.2 ile en yüksek izolasyonun gerçekleştiği görülmektedir (16). Elde ettiğimiz bulgularla uyumlu olarak, Avrupa ülkelerinde de 2003-2004 sezonunda kullanımda olan aşının bileşimindeki influenza A’nın H3N2 antijeni ile tam benzerlik göstermeyen A/Fujian/411/02 tipi bir varyant virüsün baskın olarak dolaşımda bulunduğu görülmektedir; bu suş, Ekim-Kasım döneminde Batı Avrupa ülkelerinde dolaşıma girmiş, zamanla doğuya ilerleyerek, 2004 yılı Ocak ayında ise Litvanya, Slovenya, Letonya ve Polonya gibi ülkelerde yayılmıştır (21). 2003-2004 sezonunda tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de izole edilen ve H3N2 alt tipinden olan influenza A suşları, A/Fujian/411/02 benzeri viruslardır. Antijenik olarak 2003-2004 aşı suşu A/Panama/2007/99’dan farklı olan varyant A/Fujian virüsünün bir sonraki yılın aşı formülüne alındığını biliyoruz (21).

Çalışmamızda bu dönemde (2003-2004) izole ettiğimiz tüm influenza A suşları H3N2 olarak tiplendirilmiş; daha sonra 24 suş ile yapılan altiplendirmeler, bunların tamamının A/Fujian/411/02 standard suşu ile yakınlık gösterdiğini kanıtlamıştır. Nitekim DSÖ’nün 27 Şubat 2004 tarihli haftalık epidemiyolojik raporunda Türkiye’de 2003-2004 sezonunda izole edilen suşların tamamının H3N2 tipinde influenza A virüsü olduğu bilgisi yer almaktadır (21). ABD’de 2003-2004 sezonunda izole edilen influenza A suşlarının 949/1024’ünün influenza A olduğu, bunların % 88.8’inin A/Fujian/411/02 suşu ile yakınlık gösterdiği belirtilmiştir (16). Avrupa genelinde değerlendirme yapıldığında ise ülkemizde hiç izole edilmeyen influenza B suşları, Avrupa ülkelerinde ancak %0.9 oranında saptanmış olup, izole edilen influenza A suşlarının % 98.9’unun H3N2 tipinde olduğu bulunmuş; Avrupa’da H1N1 suşları sadece Ukrayna ve İzlanda’dan bildirilmiştir (21).

İzolasyon ve tiplendirme işlemlerinin 2004-2005 dönemi-ne ait bulgularına bakıldığında, influenza A için en yüksek izolasyon oranlarının Ocak (%67.4) ve Aralık aylarında (%22) elde edilmesine rağmen influenza B izolasyonlarının tümünün Mart ayında (%100) gerçekleştiği görülmektedir. Çalışmamızda bu sezon boyunca influenza virüsünün toplam saptanma oranı (%21.8) olarak bulunmuştur. Aynı dönemde ABD’de incelenen 83 753 örneğin 11 543’ünde (%13.8) influenza virüsünün saptandığı bildirilmiştir (22).

İzolasyonların yaşlara dağılımına bakıldığında hem influenza A için (%24.9) hem de RSV için (%7.9) en yüksek pozitiflik oranı 0-14 yaş grubunda bulunmuştur. Bu oran RSV’nin genel epidemiyolojik özellikleri ile uyum göstermekle beraber, örnek alınan 0-14 yaş grubu hasta sayısının diğer yaş grupları sayısına oranı yüksek olduğundan influenza için bu genelleme-yi yapmak çok anlamlı bulunmamıştır. 2004-2005 sezonu sonuçları zamana göre değerlendirildiğinde, influenza A virüsünün en çok 2. hafta yani Ocak ayı içinde izole edildiği görülmektedir. Amerika’da en yüksek izolasyon 4. ve 5. haftalar arasında elde edilmiştir (22). Kuzey yarımküredeki diğer ülkelerde, ülkemizde ve Amerika’da olduğu gibi bu sezondaki influenza aktivitesi 2003-2004 sezonundan geç başlamış ve genel etkisi de daha düşük olmuştur. Ülkemizde influenza B’lerin tümü 10. haftada saptanmıştır. Bu durum dünyadaki genel izolasyon tablosuna uymaktadır. Sezonda baskın olarak influenza A saptanmış olmakla beraber sezonun geç döneminde influenza B izolasyonu artışı göstermiştir (23).

İzole edilen influenza A suşlarından 43’ü tiplendirilmiş; 38’inin (%88.4) H1N1, beşinin ise (%11.6) H3N2 alt tiplerine ait oldukları belirlenmiştir. İzolatlardan 30’u (27’si H1N1, 3’ü H3N2 olmak üzere), antijenik tiplendirmeye tabi tutulmuş ve H1N1’lerin tümü A/New Caledonia/20/99 benzeri bulunmuştur. Tiplendirilmesi yapılan üç H3N2 ise A/Wellington/1/2004 suşu ile yakın antijenik özellik gösteren A/Shantou/1219/2004 (MDCK hücrelerinde üretilen referans suşu) ile bağlantılı bulunmuştur.

2004-2005 sezonunda ülkemizde izole edilen influenza A suşlarının büyük bölümünün H1N1 alttipinden olmasına rağmen dünyada H3N2 alttipi baskın olarak saptanmıştır. Amerika’da tiplendirilmesi yapılan influenza A’ların %99.6’sı H3N2, %0.4’ü H1N1 olarak bulunmuş; H1N1 izolasyonu sadece sporadik olgularda ve Tunus’ta saptanan bir salgında izole edilmiştir (23). Dünyada izole edilen H1N1’lerin büyük çoğunluğu ülkemizde olduğu gibi A/New Caledonia/20/99 benzeri olarak bulunmuştur. A/New Caledonia/20/99 suşu 2003-2004 ve 2004-2005 sezonlarında olduğu gibi 2005-2006 sezonunun aşı içeriğinde de yer almaktadır. Ülkemizde izole edilen H3N2 suşları diğer ülkelerde geç izole edilen H3N2 suşlarıyla benzer antijenik özellik göstermektedir. Dünyada ilk izole edilen H3N2 virüsleri A/Fujian/411/2002 ve A/Wyoming/3/2003 referans suşlarıyla ilişkili bulunmalarına rağmen, sonraki dönemlerde izole edilen suşlar daha çok A/California/7/2004 ile benzerlik göstermiştir (23). Bu sezonda, 2004-2005 aşı suşu A/Wyoming/3/2003’ten farklı olan A/California/7/2004 virüsünün ortaya çıkışı aşı bileşiminin tekrar gözden geçirilmesini ve muhtemel yeni varyantlar için alarmları olmayı gerekli kılmıştır. Çabuk yayılım göstermeyen, fakat hızlı varyasyon özelliği gösteren A/California/7/2004 suşu DSÖ’nün önerdiği 2005-2006 aşı içeriğinde yer almaktadır (23).

İnfluenza virüsünün izolasyonu, tiplendirilmeleri ve alt tiplendirilmeleri konularında, seçilecek yöntemlere ait henüz uluslararası bir standardizasyon sağlanmamıştır. Avrupa İnfluenza Sürveyans Sisteminde (European Influenza Surveillance Scheme - EISS) farklı ülkelerde, farklı uygulamaların izlendiği görülmektedir: örneğin tiplendirme konusunda Batı Avrupa ülkeleri %60 oranında PCR tekniğini yeğlerken, Doğu Avrupa’da aynı oranda HAI ve ELISA yöntemlerinden yararlanıldığı; alt tiplendirme için ise batı ülkelerinde PCR tekniği yaygınlaşırken, tüm Orta ve Doğu Avrupa ülkelerinde HAI kullanıldığı görülmektedir (24).

İstanbul Tıp Fakültesinde gerçekleştirilen bu çalışmanın sonuçları pratik açıdan iki önemli bulguyu ortaya koymuştur:

1- 2003-2004 sezonunda ülkemizde dolaşımda olan influenza virüsleri dünyadaki virüslerle benzerlik göstermektedir. Buna karşın, söz konusu dönemde influenza suşlarının oldukça homojen dağılım gösterdiği; influenza B suşuna hiç rastlanmazken, influenza A suşlarının tamamının H3N2 alt tipinden olduğu gösterilmiştir. 2004-2005 sezonunda ise, hem izole edilen suşların heterojen biçimde farklı tiplerden oldukları gözlemlenmiş, hem de Batı ülkelerinden farklı olarak influenza A suşlarının çoğunun H1N1 alt tipinde olduğu bulunmuştur. Bu bulgular, özellikle ülkemizde de influenza suşlarının izole edilip, tiplendirildiklerini kanıtlamak ve her sezon tartışılan aşının etkinliği konusuna net bir yanıt getirmek açısından önemlidir.

2- İnfluenza/grip konusunda, uluslararası kuruluşlara şim-diye dek ülkemizden herhangi bir bildirim yapılmamıştır. İstanbul Tıp Fakültesi’nde gerçekleştirilen ve bu yazıda özet-

lenen bulgular doğrultusunda, ülkemize ait “Grip” bulguları, ilk kez www.eurogrog.org adresindeki Avrupa-Grip sürveyans sitesinde yer almıştır (Şekil 3). Kuruluşa üye ülkeler, elde ettikleri laboratuvar bulgularını ve İBH’lı hasta verilerini EuroGROG’a bildirmektedir. Çalışmamızın yürütüldüğü 2003-2004 kış sezonunda elde edilen influenza sürveyansı ve İBH’lı hasta verileri EuroGROG’un internet üzerindeki veri tabanına girilmiş ve sezon boyunca güncellenmiştir.

Elde ettiğimiz bu bulgular sıradan-rutin özelliği olan (olması gereken) bir çalışmanın ürünleridir. Ancak ticari olarak satın alınması mümkün olmayan influenza viruslarına ait tipendirme reaktiflerinin yalnız belirli uluslararası işbirlikleri sonucunda, ortak projeler kapsamında temin edilmesi, bu çalışmaların kısıtlı sayıda örnek ile gerçekleştirilmesinin nedenidir. DSÖ’nün önderliğinde dünya genelinde yapılan influenza sürveyansı ile uyumlu sonuçlar elde edilen yaptığımız bu çalışma, süreklilik gerektiren düzenli bir çalışmanın başlangıç dönemi olarak yerini almıştır. Türkiye genelinde etkili bir influenza sürveyans ağının kurulması ve devamlılığı için, daha fazla sayıda istatistik veri ve hasta örneği gönderilen ve bunları değerlendiren merkeze gereksinim vardır.

#### Kaynaklar

- Smith W, Andrewes CH, Laidlaw PP. A virus obtained from influenza patients. *Lancet* 1936; 2: 66-8
- Tyrell D. Discovery of influenza viruses. In: Nicholson KG, Webster RG, Hay AJ, eds. *Textbook of Influenza*. Oxford: Blackwell Scientific, 1998: 19-34
- Szucs TD. Medical economics in the fields of influenza. Past, present and future. *Virus Res* 2004; 103: 25-30
- Zambon M. Laboratory diagnosis of influenza. In: Nicholson KG, Webster RG, Hay AJ, eds. *Textbook of Influenza*. Oxford: Blackwell Scientific, 1998: 291-314
- Uphoff H, Cohen JM. Some aspects regarding the interpretation of influenza surveillance data. *Med Microbiol Immunol* 2002; 191: 145-9
- Uphoff H, Stalleicken I, Bartelds A, Phiesel B, Kistemann BT. Are influenza surveillance data useful for mapping presentations? *Virus Res* 2004; 103: 35-46
- Berke Z. The Asian influenza pandemic in Turkey, 1957-58. *Bull WHO* 1959; 20: 494-8
- Özliarda E. 1963-1964 mevsiminde dünyada ve Türkiye’de influenza ve diğer akut solunum sistemi enfeksiyonları durumu ve bu konudaki laboratuvar bulgularımız. *Türk Hij Tecr Biyol Derg* 1964; 24: 306-26
- Özliarda E. 1964-1965 mevsiminde dünyada ve Türkiye’de influenza ve influenzaya benzer hastalıklar durumu ve laboratuvar bulgularımız. *Türk Hij Tecr Biyol Derg* 1966; 26: 110-29
- Özliarda E. 1965-1966 mevsiminde dünyada ve Türkiye’de influenza ve influenzaya benzer hastalıklar durumu ve laboratuvar bulgularımız. *Türk Hij Tecr Biyol Derg* 1974; 34: 24-47
- Özliarda E. 1969-1970 influenza epidemisi ve laboratuvar bulgularımız. *Türk Hij Tecr Biyol Derg* 1970; 30: 110-21
- Tezok ÖF, Sağlam M, Gürer İ, Gümrükçü E. 1972 Ankara influenza epidemisi. *Türk Hij Tecr Biyol Derg* 1972; 32: 192-7
- Özliarda E, Artuk Ç. 1973-1974 influenza mevsimi ve laboratuvar bulgularımız. *Türk Hij Tecr Biyol Derg* 1974; 34: 24-47
- Özliarda E, Artuk Ç, Atalay Ş. 1974-1975 influenza mevsimi ve laboratuvar bulgularımız. *Türk Hij Tecr Biyol Derg* 1975; 35: 107-23
- Özliarda E, Artuk Ç, Atalay Ş, Karar M. 1975-1976 influenza mevsimi ve laboratuvar bulgularımız. *Türk Hij Tecr Biyol Derg* 1976; 36: 298-313
- CDC. Update: influenza activity - United States and worldwide, 2003-04 season, and composition of the 2004-05 influenza vaccine. *MMWR* 2004; 53: 547-52
- Annual report. 2003-2004 influenza season. European Influenza Surveillance Scheme, Utrecht, 2005
- Mills RD, Cain KJ, Woods GL. Detection of influenza virus by centrifugal inoculation of MDCK cells and staining with monoclonal antibodies. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 2505-8
- Seno M, Kanamoto Y, Takao S, Takei N, Fukuda S, Umisa H. Enhancing effect of centrifugation on isolation of influenza virus from clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 1669-70
- Yılmaz G, Uzel N, Işık N, Uğur S, Aslan S, Badur S. Akut alt solunum yolu enfeksiyonu olan çocuklarda viral etkenler ve respiratuar syncytial virus alt grupları. *İnfeksi Derg* 2000; 14: 157-64
- WHO. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2004-2005 influenza season. *Weekly Epidemiol Rec* 2004; 79: 88-92
- CDC. Update: Influenza activity - United States and worldwide, 2004-2005 season, and composition of the 2005-2006 influenza vaccine. *MMWR* 2005; 54: 193-6
- WHO. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2005-2006 influenza season. *Weekly Epidemiol Rec* 2005; 80: 71-6
- Meerhoff T J, Paget W J, Aguilera J-F, van der Velden J. Harmonising the virological surveillance of influenza in Europe: results of an 18-country survey. *Virus Res* 2004; 103: 31-3