



Solunum Yolu Virüs Enfeksiyonu Nedeni ile Hastaneye Yatan Çocukların Klinik ve Epidemiyolojik Olarak Değerlendirilmesi

Clinical and Epidemiological Evaluation of Hospitalized Children with Respiratory Virus Infections

Gülhadiye Avcu¹ Zümrüt Şahbudak Bal¹, Candan Çiçek², Fadıl Vardar¹

¹ Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı, İzmir, Türkiye

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

Özet

Giriş: Solunum yolu virüsü enfeksiyonları, özellikle bebeklerde ve küçük çocuklarda hastaneye yatışların en sık nedenidir. Multiplex polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile solunum yolu virüslerinin saptanması hasta yönetimini kolaylaştırmış ve yeni virüslerin tanımlanmasına izin vermiştir. Bu çalışmanın amacı, hastanede yatan çocuklardaki viral ajanların insidans ve epidemiyolojik özelliklerini belirlemek ve tek virüs ile çoklu virüs enfeksiyonlarının klinik bulgularını karşılaştırmaktır.

Gereç ve Yöntemler: Solunum yolu enfeksiyonu nedeni ile hastanede yatan çocukların verileri geriye dönük olarak araştırıldı. Hastaların demografik özellikleri, başvurdukları ay/mevsim, klinik ve laboratuvar bulguları, yatış süresi, nazofarengeal sürüntü örnekleri incelendi. Solunum yolu virüsleri için multiplex PCR kullanıldı. Tek virüs enfeksiyonu olan hastalar ile çoklu virüs enfeksiyonu olan hastalar karşılaştırıldı.

Bulgular: Eylül 2014-Nisan 2016 tarihleri arasında hastanede yatan çocuklardan alınan toplam 114 nazal sürüntü örneği multiplex PCR ile değerlendirildi. Hastaların 94 (%83.3)'ünde en az bir solunum patojeni tespit edildi. Hastaların 29 (%30.9)'unda koenfeksiyon tespit edildi. Respiratuar sinsityal virüs (RSV) (%28.7) en sık görülen patojendi ve RSV-rinovirüs en sık görülen birliktelikti (%31, 9/29). Birden fazla virüs enfeksiyonu sıklıkla daha küçük çocuklarda saptandı (p= 0.022). İki grup arasında cinsiyet, erken doğum, mekanik ventilasyon öyküsü, kronik hastalık varlığı, ailede sigara içimi öyküsü, ailede üst solunum yolu en-

Abstract

Objective: Respiratory virus infections are the most common cause of hospitalization particularly in infants and young children. Detection of the respiratory viruses with multiplex PCR has recently facilitated patient management and allowed for the identification of new viruses. The aim of this study was to determine the incidence, epidemiology of viral agents in hospitalized children and to compare the clinical manifestations of single virus versus multiple virus infections.

Material and Methods: Data of hospitalized children with respiratory infections were retrospectively investigated. Demographic characteristics of the patients, the month/season they were admitted, clinical and laboratory findings, duration of hospitalization, nasopharyngeal swab samples were investigated. Multiplex PCR was used for respiratory viruses. Patients with a single virus infection and those with multiple virus infection were compared.

Results: A total of 114 nasal swab samples from hospitalized children during September 2014-April 2016 were evaluated by multiplex PCR. At least one respiratory pathogen was detected in 94 (83.3%) of the patients. Co-infections were identified in 29 (30.9%) of the patients. RSV (28.7%) was the most common single pathogen and RSV-Rhinovirus was the most common co-existence (31%, 9/29). Multiple virus infections were mostly detected in younger children (p= 0.022). There was no difference between children with multiple versus single virus infections in terms of gender, premature birth, mechanical ventilation history, presence of chronic illness, family history of smoking, upper respiratory tract infection in the family, severity of disease (respiratory scoring, oxygen requirement), hospitalization stay, need for hospitalization in the intensive care unit and laboratory findings (p> 0.05).

Yazışma Adresi / Correspondence Address

Gülhadiye Avcu

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı, İzmir-Türkiye

E-mail: gul_akbas@yahoo.com.tr

©Telif Hakkı 2017

Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Derneği -Makale metnine www.cocukenfeksiyon.org web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2017 by Pediatric Infectious Diseases Society -Available online at www.cocukenfeksiyon.org

feksiyonu varlığı, hastalığın ciddiyeti (solunum skorlaması, oksijen gereksinimi) hastanede kalış süresi, yoğun bakım ihtiyacı ve laboratuvar bulguları açısından anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$).

Sonuç: Hastaların %83.3'ünde en az bir solunum yolu virüsü ve hastaların üçte birinde birden fazla solunum yolu virüsü tespit edildi. RSV hem tek hem de çoklu virüs enfeksiyonlarında en sık rastlanan patojendi. Hastalığın şiddeti açısından tek virüs ve çoklu virüs enfeksiyonları arasında bir ilişki saptanmadı.

Anahtar Kelimeler: Akut solunum yolu enfeksiyonları, solunum yolu virüsleri, çocuk, PCR

Giriş

Solunum enfeksiyonları tüm dünyada en yaygın görülen enfeksiyon hastalıklarıdır ve önemli düzeyde morbidite ve mortaliteye neden olur (1). Çocuklarda solunum enfeksiyonlarının en yaygın nedeni virüslerdir. Solunum yolu virüsleri çok farklı klinik işaretlere neden olabilir; bunlar asemptomatik üst solunum yolu enfeksiyonlarından çok sayıda organda yetmezliğe neden olabilen şiddetli enfeksiyonlara değişebilir; ancak çoğu kez kendini sınırlayan, daha hafif enfeksiyonlar olarak görülürler (1). Viral solunum enfeksiyonları tüm yaş gruplarını etkilese de çoğu kez daha küçük yaş gruplarında bir yıl içinde tekrarlayan enfeksiyonlara neden olur. Son yıllarda geliştirilmiş olan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi yeni moleküler yöntemlerle, birçok virüsün etyolojisi hızlı ve kolay bir şekilde ortaya çıkarılabilmektedir. Yakın zamanlarda neden olan ajanlar olarak tanımlanmış olan respiratuar sinsityal virüs (RSV), rinovirüs (RV), influenza, influenza B, korona virüsleri (CoV), parainfluenza virüsleri (PIV), adenovirüsler (AV), insan metapnömovirüsü (HMPV) ve insan bovavirüsü (HBoV) en yaygın virüslerdir (2,3).

Genç yaş gruplarında hastaneye yatıştan sorumlu en yaygın ajanlar RSV ve influenza virüsleridir. Son yıllarda hafif enfeksiyonlara neden olduğuna inanılan fakat hem üst hem de alt solunum yollarında enfeksiyona, bronşite ve pnömoneye neden olan RV tüm dünyada çocuklardaki, özellikle 5 yaşın altındaki hastaların gittikçe artan bir oranında solunum yolu enfeksiyonlarının en yaygın nedenidir (4-6).

Bu çalışmada, 2014 ile 2016 yılları arasında alt solunum yolu enfeksiyonu nedeniyle hastaneye yatırılan hastaların klinik özellikleri ve nazofarengeal sürüntü örneklerince saptanan solunum yolu virüslerinin epidemiyolojisi incelenmiştir. Tek virüs enfeksiyonu olan çocuklarla çoklu virüs enfeksiyonu olan çocuklarda klinik karakteristikler karşılaştırılmıştır.

Gereç ve Yöntemler

Eylül 2014 ile Nisan 2016 tarihleri arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Bölümünde alt solunum yolu tanısıyla hastaneye yatırılmış, 0 ile 18 yaş arasında

Conclusion: In 83.3% of the patients, at least one respiratory virus and in the one third of the patients more than one respiratory virus were detected. RSV was the most common pathogen in both single and multiple virus infections. There was no relationship between the single and multiple virus infections for the disease severity.

Keywords: Acute respiratory tract infections, respiratory tract viruses, children, PCR

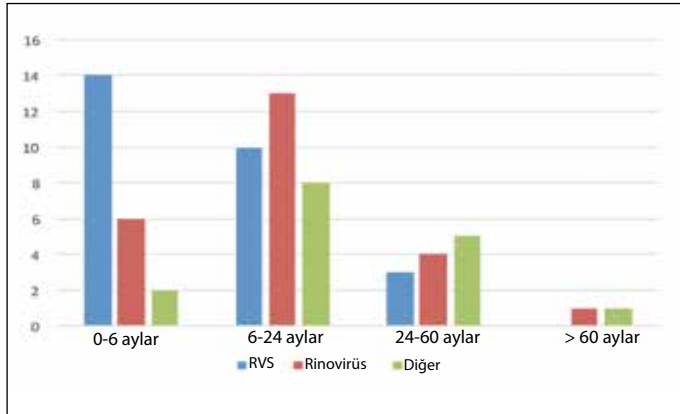
ki 114 çocuğun verilerini ve nazofarengeal sürüntü örneklerini viral solunum yolu enfeksiyonu açısından geriye dönük olarak değerlendirdik. Hastaların demografik özellikleri, başvurdukları ay/mevsim, klinik ve laboratuvar bulguları, yatış süresi, nazofarengeal sürüntü örnekleri incelendi. Numuneler Ege Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü, Klinik Viroloji Laboratuvarına gönderildi. İnfluenza A ve B, RSV, Rinovirüs, Adenovirüs, parainfluenza tip 1-3, HMPV ve bocavirüs için multipleks PCR kullanıldı.

İstatistiksel Analiz

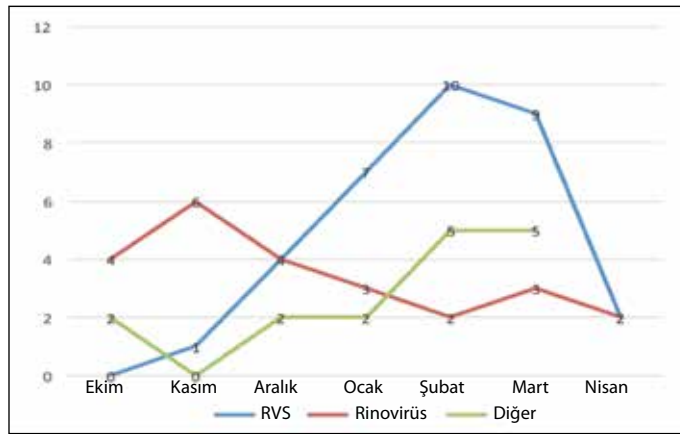
Tüm analizler SPSS17.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenlerin normal dağılımının uygunluğu Shapiro-Wilk testiyle denendi. Kategorik değişkenler frekans ve yüzde kullanılarak tanımlandı; sayısal değişkenler ortanca (medyan) ve minimum-maksimum değerler kullanılarak tanımlandı. İki kategorik değişken arasındaki ilişkiyi analiz etmek için Ki-kare testi (Fisher Exact Test/Exact Testi) kullanıldı. Bağımsız iki numunenin ortancası Mann-Whitney U testiyle karşılaştırıldı. $p < 0.05$ istatistiksel anlamlı olarak ele alındı.

Bulgular

Eylül 2014 ile Nisan 2016 tarihleri arasında Ege Üniversitesi, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Bölümüne alt solunum yolları tanısıyla yatırılan, 0 ile 18 yaş arasındaki toplam 114 çocuk çalışmaya alındı ve her biri için bir nazofarengeal sürüntü örneği viral ajan belirlemesi için laboratuvara gönderildi. Olguların 41 (%35.9)'i kız çocuk ve 73 (%64.1)'ü erkekti. Yaş ortancası 13.4 (33 gün-144 ay) aydı. 0-6 ay arasında 54 (%46.9) hasta, 6-24 ay arasında 41 (%35.6) hasta, 2-5 yıl arasında 17 (%14.7) hasta ve 5 yaşından büyük 2 (%2.6) hasta vardı. Olguların %83.3 kadarı iki yaşından küçüktü (Şekil 1). 2014-2015 sezonunda 63 (%54.7) hasta ve 2015-2016 sezonunda 51 (%45.3) hasta hastaneye yatırılmıştır. Hastanede kalma süresinin aritmetik ortalaması 6 (2-26) gün olmuştur. Hastaların 54 (%47)'ü hastaneye Şubat ve Mart aylarında yatırılmıştı. Hastaların 94 (%83.3)'ünde PCR ile en az bir solunum patojeni saptanmıştır. Bu hastaların 65 (%69.1)'inde tek patojen, 29 (%30.9)'unda çoklu patojen bulunmuştur. RSV'nin en fazla Ocak-Şubat-Mart



Şekil 1. Solunum virüslerinin yaş grubuna göre dağılımı.



Şekil 2. Solunum virüslerinin sezona göre dağılımı.

aylarında pozitif olduğu gözlenmiştir (Şekil 2). 2014 ile 2016 yılları arasında virüs dağılımı şu şekildedir: 27 (%28.7) hastada RSV (17 RSVa %18, 10 RSVb %10.7), 21 (%22.3) hastada rinovirüs, altı hastada bokavirüs, 5 (%5.3) hastada influenza, 3 (%3.2) hastada HMPV, 2 (%2.1) hastada adenovirüs ve 1 (%1) hastada parainfluenza tip 1-3. En sık birlikte görülenler RSV ve rinovirüstür (9/29, %31).

Her iki sezonda, olguların %98 (n= 112)'i influenza aşısından etkilenmemişti ve erken doğum, mekanik ventilasyon ve kronik hastalık tarihi açısından nedensel faktörleri olan ve olmayan olgular arasında anlamlı bir farklılık yoktu ($p > 0.05$).

Tekli ve çoklu virüs enfeksiyonları karşılaştırıldığında, iki grup arasında anlamlı bir yaş farklılığı vardı. Tekli virüs enfeksiyonlarında yaş ortancası 10 aydı, öte yandan, çoklu virüs enfeksiyonlarında 5 aydı ($p = 0.022$). İki grup cinsiyet, erken doğum, mekanik ventilasyon geçmişi, kronik hastalık varlığı, aile sigara içme geçmişi, ailede üst solunum yolu enfeksiyonu, hastalığın şiddeti (solunum skorlaması, oksijen gereksinimi), hastanede kalış süresi ve yoğun bakım ihtiyacı açılarından karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ($p > 0.05$). Labo-

ratuar sonuçları karşılaştırıldığında, C-reaktif protein (CRP) ve kan serumu düzeyleri gruplar arasında farklı değildi ($p > 0.05$) (Tablo 1).

Tartışma

Solunum virüsleri çocuklardaki solunum enfeksiyonlarının en yaygın nedenidir (7). Solunum virüsleri nedeniyle hafif üst solunum yolu enfeksiyonlarından çoklu organ yetmezliğine kadar değişebilen çok geniş bir klinik göstergeler yelpazesi ortaya çıkabilir (1). Gelişmiş ülkelerde, solunum virüsleri nedeniyle oluşan çocuk mortalitesi düşüktür fakat gelişmekte olan ülkelerde 5 yaşın altındaki çocuklarda yıllık ölüm RSV için 66.000-199.000 ve influenza için 28.000-111.500 olmaktadır (8,9). Beş yaşın altındaki çocuklarda akut alt solunum yolu enfeksiyonları nedeni tahmini mortalite her yıl 1.3 milyon ölümdür (10). Tüm dünyada hastaneye yatmış çocuklarda en yaygın virüsler RSV ve influenzadır. Hafif üst solunum yolu enfeksiyonlarına neden olduğu düşünülen rinovirüs aynı zamanda çocuklarda ciddi enfeksiyonlara neden olabilir. PCR dahil, yeni geliştirilen moleküler yöntemlerle HMPV ve HBoV gibi birkaç yeni virüs ve viral tür tanımlanmıştır (11,12). Yapılan çalışmalarda, RT-PCR'nin hassaslığı ve özgünlüğü RSV için %94.4-%100, RV için %100-%91.3, influenza virüsü için %98-%98, PIV için %100-%95 ve HMPV için %96-%98.8 olarak bildirilmektedir (13).

Solunum yolu virüslerinin dağılımı ve sıklığı yaş, sezon, sosyoekonomik durum, altta yatan hastalık, kullanılan tanı testi (PCR, kültür, koveraj vb.) gibi faktörlere bağlı olarak değişebilir. Solunum yolu viral patojenlerine yönelik moleküler PCR testi çocukların solunum salgılarındaki ikili ya da çoklu virüslerin saptanmasının kolaylaşmasını sağlamıştır. Ülkemizde, birkaç çalışmada en az bir viral solunum yolu patojeninin saptama oranı %41.8 ve %78.6 arasında bulunmuştur (14-16). Brittain-Long ve çalışma arkadaşlarının çalışmasında bir solunum virüsünün genel saptama oranı %48 olmuştur (17). 2014-2016 arasında alt solunum yolu enfeksiyonu nedeniyle hastaneye yatırılan 0-18 yaş arası çocukları içeren çalışmamızda, hastaların %83.3'ünde bir viral ajan moleküler yöntemle (multipleks PCR) saptanmıştır (n= 94). Bunların 65 (%69.1)'inde tek bir ajan bulunurken, kalan 29 (%30.9) hastada çoklu virüs tespit edilmiştir. En yaygın ajan RSV olmuştur; öte yandan, çoklu enfeksiyonlarda RSV-rinovirüs birlikteliği en yaygın olandır. Bizim çalışmamızda da olduğu gibi, farklı ülkelerde daha yüksek oranlar da raporlanmıştır: Japonya'da %85.3 ve Fransa'da %88.7 (18,19).

Şiddeti üzerinde büyük bir klinik etkisi gözlenmediğini raporlamışlardır.

Wishaupt ve arkadaşlarının çalışmasında viral saptama oranı 457/560 (%81.6) olmuştur, bunun 331/560 (%59.1) kadarı tekli enfeksiyonlar ve 126/560 (%22.5) kadarı çoklu enfeksiyonlardır (20). Wishaupt ve arkadaşları hastalığın (şiddetinin), yönetiminin ve sonucun belirli bir virüsle ilişkili olmadığını raporlamış-

Tablo 1. Hastaların tekli ya da çoklu virüse göre özellikleri

	Tek virüs (n= 65)	Çoklu virüs (n= 29)	p
Yaş (ortancası)	10 (26)	5 (10)	0.022
Cinsiyet (kadın/erkek) n (%)	22/43 (33.8/66.2)	10/19 (34.4/65.6)	0.91
Yaş n (%)			
0-6 aylık	28 (43)	16 (55.1)	0.39
6-24 aylık	25 (38.6)	11 (37.9)	
24-60 aylık	10 (15.4)	2 (6.9)	
> 60 aylık	2 (3)	0 (0)	
Ailede sigara içimi n (%)	20 (30.7)	8 (27.5)	0.78
Erken doğum n (%)	16 (24.6)	10 (34.4)	0.30
Mekanik ventilasyon n (%)	13 (20)	6 (20.6)	0.91
Kronik hastalık n (%)	16 (24.6)	8 (27.5)	0.73
Ailede solunum yolu enfeksiyonu n (%)	19 (29.2)	8 (27.5)	0.90
Hastalığın şiddeti (solunum skorlaması) n (%)			
Hafif	6 (9.2)	3 (10.3)	0.41
Orta	51 (78.4)	25 (86.2)	
Şiddetli	8 (12.3)	1 (3.5)	
Hastanede kalınan süre (ortanca)	5 (3)	5 (2.5)	0.909
O ₂ gereksinimi	31 (44.9)	10 (34.4)	0.25
Sistemik steroid kullanımı n (%)	37 (53.6)	21 (72.4)	0.13
Yoğun bakım birimine alınma n (%)	5 (7.2)	1 (3.4)	0.44
Laboratuvar			
Lökosit sayısı (/mm ³) (Ort + SD)	11400 (± 4512)	9623 (± 4153)	0.074
CRP (ortanca + IQ)	0.4 (2.75)	0.6 (1.15)	0.776
Sodyum (ortanca + IQ)	137 (3.1)	136.7 (4.5)	0.565

Student's T test, Mann-Whitney U test, Ki-Kare testleri kullanılmıştır; veriler aritmetik ortalama ± SD ya da ortanca (IQR) olarak verilmiştir.

lardır. Tekli ve çoklu viral solunum enfeksiyonları klinik sonuç ve hasta yönetimi açısından anlamlı olarak farklı değillerdir. Bizim çalışmamızda da, bu raporlarda olduğu gibi, tekli virüs ile çoklu virüs arasında hastalığın şiddeti ya da sonucu arasında bir fark gözlenmemiştir fakat bazı raporlar bu görüşe karşıdır. Richard ve arkadaşları bronşitli küçük çocukların %96.1'inde viral bir ajanın saptandığını raporlamışlardır (21). Hastaneye yatırılan çocuklarda saptanan ana solunum ajanı RSV olmuştur. Çoklu enfeksiyonun olduğu küçük çocukların, tekli enfeksiyonu olan küçük çocuklara kıyasla, çocuk yoğun bakımına alınma riskinin 2.7 misli (%95 CI: 1.2-6.2) fazla olduğunu bildirmişlerdir. Bronşit nedeniyle hastaneye yatırılan küçük çocuklardaki karışık enfeksiyonlarda en yaygın olarak belirlenen virüsler RSV ve rinovirüs olarak bildirilmiştir. Cilla ve arkadaşları epizodların %66.9'unda en az bir virüs saptandığını ve iki ya da daha çok sayıda virüsün de sık olduğunu (virüs saptaması yapılan epizodların %27'si) raporlamışlardır (22). En sık saptanan virüs RSV olmuş, bunu insan bokavirüsü ve rinovirüs izlemiştir. Çoklu virüs enfeksiyonu olan çocukların, tekli virüs enfeksiyonu olan çocuklara kıyasla,

hastaneye yatırılması gerekliliğinin daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Tekli ve çoklu virüsler nedeniyle oluşan enfeksiyonların yaşa göre dağılımının da farklı olduğu raporlanmıştır. Cilla ve arkadaşlarının çalışmasında 12 aylıktan küçük çocuklarda çoklu virüs enfeksiyonlarının daha sıklıkla görüldüğü raporlanmıştır (22). Canducci ve arkadaşları, bizim çalışmamızın tersine, en küçük çocuklarda çoklu virüs enfeksiyonlarının prevalansının daha düşük olduğunu bildirmektedirler (23).

Sonuç olarak, bizim çalışma popülasyonumuzda, en yaygın ajan RSV, en yaygın çoklu enfeksiyon ajanları da RSV ve rinovirüs olmuştur. Küçük yaş gruplarında çoklu virüs enfeksiyonları daha siktir fakat tekli ve çoklu virüs enfeksiyonları arasında hastalığın şiddetinin farklı olmadığı gözlenmiştir.

Etik Komite Onayı: Bu çalışmanın retrospektif yapısı nedeniyle etik kurul onayı alınmamıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - GA, ZSB; Tasarım - GA, ZSB; Denetleme - CC, FV; Kaynaklar - ZSB, GA; Malzemeler - GA, ZSB; Veri toplanması ve/veya işlemesi - GA, ZSB; Analiz ve/veya yorum - GA, FV, CC; Literatür taraması - CC, FV; Yazıyı yazan - GA, ZSB; Eleştirel inceleme - CC, FV; Other - CC

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

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

Kaynaklar

1. Heikkinen T. Respiratory viruses and children. *J Infect* 2016(Suppl 72):S29-33.
2. Yeolekar LR, Damle RG, Kamat AN, Khude MR, Simha V, Pandit AN. Respiratory viruses in acute respiratory tract infections in Western India. *Indian J Pediatr* 2008;75:341-5.
3. Sloots TP, Whiley DM, Lambert SB, Nissen MD. Emerging respiratory agents: new viruses for old diseases? *J Clin Virol* 2008;42:233-43.
4. Miller EK, Lu X, Erdman DD, et al. Rhinovirus-associated hospitalizations in young children. *J Infect Dis* 2007;195:773-81.
5. Lamson D, Renwick N, Kapoor V, et al. MassTag polymerase-chain-reaction detection of respiratory pathogens, including a new rhinovirus genotype, that caused influenza-like illness in New York State during 2004-2005. *J Infect Dis* 2006;194:1398-402.
6. McErlean P, Shackelton LA, Lambert SB, Nissen MD, Sloots TP, Mackay IM. Characterisation of a newly identified human rhinovirus, HRV-QPM, discovered in infants with bronchiolitis. *J Clin Virol* 2007;39:67-75.
7. Kwofie TB, Anane YA, Nkrumah B, Annan A, Nguah SB, Owusu M. Respiratory viruses in children hospitalized for acute lower respiratory tract infection in Ghana. *Virology* 2012;9:78.
8. Nair H, Nokes DJ, Gessner BD, et al. Global burden of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* 2010;375:1545-55.
9. Nair H, Brooks WA, Katz M, et al. Global burden of respiratory infections due to seasonal influenza in young children: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* 2011;378:1917-30.
10. Annamalay AA, Abbott S, Sikazwe C, et al. Respiratory viruses in young South African children with acute lower respiratory infections and interactions with HIV. *J Clin Virol* 2016;81:58-63.
11. van den Hoogen BG, de Jong JC, Groen J, et al. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nat Med* 2001;7:719-24.
12. Allander T, Tammi MT, Eriksson M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A, Andersson B. Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102:12891-6.
13. Mahony JB. Detection of respiratory viruses by molecular methods. *Clin Microbiol Rev* 2008;21:716-47.
14. Karadag-Oncel E, Ciblak MA, Ozsurekci Y, Badur S, Ceyhan M. Viral etiology of influenza-like illnesses during the influenza season between December 2011 and April 2012. *J Med Virol* 2014;86:865-71.
15. Sancaklı Ö, Yenigün A, Kırdar S. Alt solunum yolu enfeksiyonunda nazofaringeal örneklerde polimeraz zincir reaksiyonu sonuçları. *J Pediatr Inf* 2012;6:84-9.
16. Akçalı S, Yılmaz N, Güler Ö, Şanlıdağ T, Anıl M. Alt solunum yolu enfeksiyonu olan çocuklarda solunum yolu viral etkenlerinin sıklığı. *Türk Arch Ped* 2013;48:215-20.
17. Brittain-Long R, Nord S, Olofsson S, Westin J, Anderson LM, Lindh M. Multiplex real-time PCR for detection of respiratory tract infections. *J Clin Virol* 2008;41:53-6.
18. Kaida A, Kubo H, Takakura K, et al. Associations between co-detected respiratory viruses in children with acute respiratory infections. *Jpn J Infect Dis* 2014;67:469-75.
19. Mengelle C, Mansuy JM, Pierre A, et al. The use of a multiplex real-time PCR assay for diagnosing acute respiratory viral infections in children attending an emergency unit. *J Clin Virol* 2014;61:411-7.
20. Wishaupt JO, van der Ploeg T, de Groot R, Versteegh FG, Hartwig NG. Single- and multiple viral respiratory infections in children: disease and management cannot be related to a specific pathogen. *BMC Infect Dis* 2017;17:62.
21. Richard N, Komurian-Pradel F, Javouhey E, et al. The impact of dual viral infection in infants admitted to a pediatric intensive care unit associated with severe bronchiolitis. *Pediatr Infect Dis J* 2008;27:213-7.
22. Cilla G, Onate E, Perez-Yarza EG, Montes M, Vicente D, Perez-Trallero E. Viruses in community-acquired pneumonia in children aged less than 3 years old: high rate of viral coinfection. *J Med Virol* 2008;80:1843-9.
23. Canducci F, Debiaggi M, Sampaolo M, et al. Two-year prospective study of single infections and co-infections by respiratory syncytial virus and viruses identified recently in infants with acute respiratory disease. *J Med Virol* 2008;80:716-3.