TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇOCUKLARDA VİRAL GASTROENTERİT ETKENİ OLAN ROTAVİRÜS VE NOROVİRÜSÜN ARAŞTIRILMASI

YAŞAR MERCAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Prof. Dr. Z. Arzu İLKİ

İSTANBUL – 2018

TEZ ONAYI

Kurum	: Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Programın seviyesi	: Yüksek Lisans
Anabilim Dalı	: Tıbbi Mikrobiyoloji
Tez Sahibi	: Yaşar MERCAN
Tez Başlığı	: Çocuklarda Viral Gastroenterit Etkeni Olan Rotavirüs ve Norovirüsün Araştırılması
Sınav Yeri	: Tıbbi Mikrobiyoloji
Sınav Tarihi	: 25/10/2018

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)	**Kurumu**	**İmza**
Prof.Dr. Z.Arzu İLKİ	M.Ü. Tıp Fak.	
Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)		
Prof.Dr.M.Ufuk HASDEMİR	M.Ü.Tıp Fak.	
Dr. Öğrt. Üyesi Salim KARAVELİOĞLU	İstanbul Kent Üniv. Sağlık Bil.Fak.	

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun ..02../Kasım/2018.. tarih ve ..72.. sayılı kararı ile onaylanmıştır.

F. Arıcıoğlu.

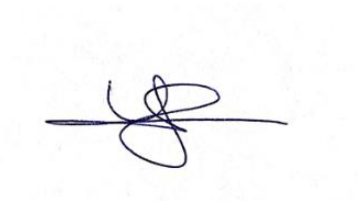
Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

-Sınav evrakları 3 iş günü içinde ıslak imzalı tek kopya halinde Enstitüye teslim edilmelidir.

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Yaşar MERCAN



ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimime başladığım ilk günden itibaren her aşamada bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, her konuda yardım ve hoşgörüsü ile bana destek olan, güvenini ve desteğini her zaman yanımda hissettiğim, iyi bir eğitimci ve araştırıcı olmanın en güzel örneğini teşkil ederek kendisinden öğrenebilmemi sağlayan değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Zeynep Arzu İLKİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim süresince bana zamanlarını ayıran ve her zaman gülümseyerek bana moral veren, verdikleri eğitimle başarılı olmam için bakış açımı değiştiren ve pozitif düşünme yollarını gösteren iyi bir araştırıcı olmak için örnek aldığım değerli hocalarım Prof. Dr. Güner SÖYLETİR, Prof. Dr. Ufuk HASDEMİR, Prof. Dr. Ayşegül KARAHASAN, Prof. Dr. Nilgün ÇERİKÇİOĞLU, Prof. Dr. Nurver ÜLGER ve Dr. Öğr. Üyesi Burak AKSU'ya en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Yüksek lisansa başladığım ilk günden itibaren benimle güzel dostluklarını paylaşan sevgili yüksek lisans, doktora, asistan ve laboratuvardaki tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Tüm yaşamım boyunca her zaman yanımda olan, her zor anımda beni cesaretlendiren en büyük desteğim, başarım için maddi ve manevi hiçbir şeyi esirgemeyen, her konuda sonsuz özverisiyle beni minnettar kılan canım anneme ve tüm aileme içtenlikle teşekkür ederim.

Yaşar MERCAN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ ..... **ii**
İÇİNDEKİLER ..... **iii**
Kısaltmalar ve Simgeler ..... **v**
Şekil, Resim ve Tablo Listesi ..... **vi**
ÖZET **1**
SUMMARY **2**
1. GİRİŞ **3**
2. GENEL BİLGİLER **6**
2.1. Gastroenteritlerin Önemi ve Etkisi 6
2.2. Gastroenteritlerin Viral Sebepleri 6
2.3. Rotavirüsler 7
2.3.1. Virüs Özellikleri 7
2.3.2. Bulaşma 8
2.3.3. Epidemiyoloji 8
2.3.4. Klinik Bulgular 9
2.3.5. Rotavirüs İnfeksiyonlarının Laboratuar Tanısı 9
2.3.6. Korunma 10
2.4. Norovirüsler 11
2.4.1. Virüs Özellikleri 11
2.4.2. Bulaşma 14
2.4.3. Epidemiyoloji 14
2.4.4. Klinik Bulgular 15
2.4.5. Rotavirüs İnfeksiyonlarının Laboratuar Tanısı 16
2.4.6. Korunma 19
3. GEREÇ VE YÖNTEM **20**
3.1. Gereçler 20
3.1.1. Çalışmaya Alınan Örnekler 20
3.1.2. Çalışma Grubunu Oluşturan Örneklerin Belirlenmesi 20
3.1.3. Kullanılan cihazlar ve aletler 20
3.2. Yöntemler 21

3.2.1. Dışkı Örneklerinin Toplanması 21
3.2.2. Dışkı Örneklerinin Çalışılması 21
3.2.2.1. ELISA Yöntemiyle Rotavirüs Antijeni Saptanması 21
3.2.2.2. ELISA Yöntemiyle Norovirüs Antijeni Saptanması 23
3.3. İstatistiksel Analiz 25
4. BULGULAR 26
4.1. Dışkı Örneklerinin Değerlendirilmesi 26
4.2. Dışkıda Rotavirüs Antijeni ELISA Sonuçları 26
4.3. Dışkıda Norovirüs Antijeni ELISA Sonuçları 27
5. TARTIŞMA ve SONUÇ 32
6. KAYNAKLAR 36
7. EKLER 54
7.1. EK-1 Etik Kurul Onayı 54
7.2. Ek-2 Özgeçmiş 55

KISALTMALAR ve SİMGELER:

- ABD: Amerika Birleşik Devletleri
- pH: Hidrojen Konsantrasyonu
- EM: Elektron mikroskobu
- EIA: Enzimimmunoassay
- ELISA: Enzim bağlı immunosorbent assay
- µL: Mikrolitre
- mL: Mililitre
- dk: Dakika
- sn: Saniye
- rpm: Rotation per minute
- NoV: Norovirüs
- RoV: Rotavirüs
- DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü
- NLV: *Norwalk like virus*
- VLP: Virüs benzeri partiküller
- VP2: Viral protein 2
- VpG: Viral kapsid geni

ŞEKİL, RESİM VE ÇİZELGELERİN LİSTESİ

i. Şekillerin Listesi **Sayfa No**

Şekil 2.1. (A) NV (B) *Baculo virus* (C) *Sapporo virus* elektron mikroskobu görüntüsü (2001, American Society for Microbiology)..... 13

Şekil 2.2. Norovirüsün, transmisyon elektron mikroskobunda (TEM) görüntüsü (CDC; Charles D. Humphrey, http://phil.cdc.gov/phil/details.asp?pid=10704)..... 17

Şekil 2.3. (a) Antikorla kaplanmış kuyucuk yüzeyi, (b) önekteki antijenin antikora bağlanması, (c) enzim bağlı (yaban turpu peroksidazı, HRP) antikorun antijene başlanması ve (d) enzimin ortama eklenen substratla (H2O2) reaksiyona girmesi sonucu oluşan ürünün (O2) ortamda bulunan kromojenik maddenin (tetrametilbenzidin, TM) renk değiştirmesini sağlaması 18

Şekil 3.1. DRG Instruments GmbH Rotavirüs kiti 22

Şekil 3.2. 3rd Generation RIDASCREEN Norovirüs kiti..... 24

Şekil 4.1. Hastaların aylara göre dağılımı grafiği 30

ii. Resimlerin Listesi

Resim 4.1. Rotavirüs çalışmasında görülen pozitif ve negatif örnekler 27

Resim 4.2. Norovirüs çalışmasında görülen pozitif ve negatif örnekler 28

iii. Tablolerin Listesi

Tablo 4.1. Hasta yaş dağılım tablosu..... 26

Tablo 4.2. Yaş gruplarına göre Rotavirüs ELISA sonuçlarının dağılımı 27

Tablo 4.3. Yaş gruplarına göre Norovirüs ELISA sonuçlarının dağılımı 28

Tablo 4.4. ELISA mikroplaka okuyucuda gaita süzüntüsü örnekleri için okunan Optik yoğunluk (OD) değerleri..... 29

Tablo 4.5. Adenovirüs, Rotavirüs, Norovirüs sonuçlarının karşılaştırılması 31

Tablo 4.6. Norovirüs pozitif hastalara ait klinik bilgiler..... 31

ÖZET

Çocuklarda Viral Gastroenterit Etkeni Olan Rotavirüs Ve Norovirüs'ün Araştırılması

Yaşar MERCAN, Arzu İLKİ, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Amaç:

Enfeksiyöz ishalli hastalıklar dünyada morbidite ve mortalite nedeni olarak 2. sırada yer alırken, 5 yaş altındaki çocukların %18'inde ölüm sebebi olmaktadır. Viral Gastroenterit salgınları genellikle Rotavirüsler, Astrovirüsler, Adenovirüsler ve insan *calicivirüsleri* ile ortaya çıkabilir. Çalışmanın amacı akut gastroenterit şikayetiyle gelen hastalardan rutinde çalışılmayan Norovirüs ve Rotavirüs antijen varlığının saptanmasıdır.

Gereç ve Yöntem:

Çalışmamıza Aralık 2017-Mart 2018 tarihleri arasında Marmara Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına dışkıda antijen araştırılması için gönderilen, gastroenterit tanılı 0-18 yaş arası çocuklara ait 213 dışkı örneği dahil edilmiştir. Dışkılar makroskobik ve mikroskobik olarak incelenmiş, kanlı, mukuslu ve direkt incelemesinde lökosit olanlar dahil edilmemiştir. Dışkıda Norovirüs antijenini tespit etmek için GI ve GII genotiplerini tayin eden ELISA kiti (RIDASCREEN, üçüncü jenerasyon, R-Biopharm, Darmstdt, Almanya) ve Rotavirüs antijenin tespit eden ELISA kiti (DRG Instruments, Almanya) kullanılmıştır.

Bulgular:

Çalışmamızda toplam 213 hastadan dışkı örneği toplandı. Bu örneklerin %55,9 erkek hastalara ait olup %44,1 ise kadın hastalara aittir. Hastaların %21'inde rotavirüs pozitifliği saptanırken %2,3'ünde norovirüs antijeni pozitif olarak saptandı.

Sonuçlar:

Çalışmamızda %21 oranında rotavirüs ve %2,3 oranında norovirüs saptanması hasta tedavisini yönlendirmek ve gereksiz antibiyotik kullanımını engellemek açısından önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Norovirüs, Viral Gastroenterit, İshal, Rotavirüs, ELISA

ABSTRACT

Rotavirus And Norovirus In Children With Viral Gastroenteritis.

Yasar MERCAN, Arzu ILKI, Department of Medical Microbiology

Aim:

Infectious diarrheal diseases are the second leading cause of morbidity and mortality in the world and 18% of children under 5 years of age are the cause of death. Outbreaks of Viral Gastroenteritis usually occur with Rotaviruses, Astroviruses, Adenoviruses and human caliciviruses. The aim of this study was to determine the presence of Norovirus and Rotavirus antigen that were not routinely studied in patients with acute gastroenteritis.

Methods:

A total of 213 stool samples of children aged 0-18 years, diagnosed with gastroenteritis, were included in the study between December 2017 and March 2018 in Marmara University Hospital Microbiology Laboratory. The feces were examined macroscopically and microscopically, and those with leukocytes were not included in the blood, mucus and direct examination. The ELISA kit (RIDASCREEN, the third generation, R-Biopharm, Darmstdt, Germany) and the detecting ELISA kit of the rotavirus antigen (DRG Instruments, Germany) were used to detect the Norovirus antigen in the feces.

Results:

In our study, fecal samples were collected from a total of 213 patients. 55.9% of these samples belong to male patients and 44.1% belong to female patients. Rotavirus positivity was found in 21% of the patients and norovirus antigen was positive in 2,3% of the patients.

Conclusion:

In our study, 21% of rotavirus and 2.3% of norovirus were important in order to direct patient treatment and to prevent unnecessary antibiotic use.

Keywords: Norovirus, Viral gastroenteritis, Rotavirus, Diarrhea, ELISA

1. GİRİŞ

Akut gastroenterit insanlarda en yaygın hastalıklardan biridir. Bakteriyel, paraziter, viral etkenler Gastroenterite sebep olur. Viral Gastroenterit salgınları genellikle Rotavirüsler, Astrovirüsler, Adenovirüsler ve insan *Calicivirüsleri* (Norovirüs ve Sapovirüs) ile ortaya çıkabilir. Dünyadaki gıda kaynaklı salgınların yaklaşık %28'inden Norovirüs enfeksiyonları sorumludur. Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Avrupa ülkelerinde yapılan çalışmalarda tüm Gastroenterit salgınlarının yaklaşık %50'sinden (%36-59) Norovirüs sorumlu tutulmaktadır.

Akut Gastroenteritler tüm dünyada yaygın olarak görülen enfeksiyon hastalıkları arasında yer almakta ve ciddi bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır, özellikle çocuklar hastalıktan etkilenen grupta yer almaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde akut barsak enfeksiyonları, solunum yolları enfeksiyonlarından sonra çocuk morbititesinin ve sağlık harcamalarının önemli bir kısmını teşkil etmektedir. Akut gastroenterit, gelişmiş ve gelişmekte olan tüm ülkelerde olduğu gibi bizim ülkemizde de önemli bir halk sağlığı sorunudur. Dünya'da en sık akut diyare etkeni olarak rotavirüs görülmekte iken akut su kaynaklı Gastroenterit salgınlarının etkeni olarak da Norovirüs sıklıkla karşımıza çıkmaktadır.

Rotaviral (RV) enfeksiyonları özellikle küçük yaş grubu çocukları etkileyen küresel bir sorundur. Dünya genelinde çocukların tamamına yakını ilk 5 yaşına kadar RV ile karşılaşmaktadır. Bunların yaklaşık %20'si hastaneye getirilmekte, %2 si hastaneye yatırılmakta, 1000 de 3'ü ise hayatını kaybetmektedir. RV'ler virüsün yapısını oluşturan proteinler (VP)'den VP6'nın antijenik farklılığına göre A, B, C, D, E, F, G ve H'den oluşan sekiz gruba ayrılmaktadır. Grup A, B ve C RV'ler insan ve hayvanları enfekte ederken diğer gruplar özellikle kanatlıları ve diğer hayvanları enfekte etmektedir. Özellikle A grubu RV'ler 0-5 yaş arası çocuklarda, memelilerin birçoğunda ve kanatlılarda şiddetli gastroenterit etkeni olarak öne çıkmaktadır.

İnsanlarda Norovirüs enfeksiyonunun kuluçka süresi 12-48 saat olup, hastalık son 12-60 saat içerisinde oluşan kusma, ishal veya her ikisinin birlikte görülmesiyle karakterizedir. Norovirüsun insandan insana yayılımı için bilinen geçiş yolları; fekal-oral yol, kontamine yiyecekler ve sular, kusma materyalinden aerosol oluşumu ile yayılım ve kontamine olmuş çevresel yüzeylerdir. Norovirusun çevresel yüzeylerden el ve parmaklar yoluyla bulaşması da laboratuvar çalışmalarında gösterilmiştir. Salgınlarda birincil

olgular, sıklıkla fekal içerikle kontamine yiyecek ve çevresel maddelerle oluşurken ikincil olgular insandan insana geçiş şeklinde meydana gelmektedir. Dünyada yaygın görülen Norovirüslar, tüm yaş gruplarında bakteriyel olmayan Gastroenterit salgınlarının en önemli sebebidir. Norovirüs Gastroenteriti, gerek gelişmiş (%4-30) gerekse gelişmekte olan ülkelerde (%3-25) benzer sıklıkta görülmektedir. Norovirüsler büyük çocuklar ve erişkinlerde salgınlar yapar. Norovirüs enfeksiyonlarının en çarpıcı özelliği semptomların hızlı başlaması ve hastalığın hızlı yayılmasıdır. Norovirüs Gastroenteriti genellikle ani başlar, kliniği bulantı, kusma, sulu ishal ve kramp biçiminde karın ağrısı ile seyreder. Bazı hastalarda sadece kusma görülebilir ve bu sebeple hastalığa önceleri ‘‘winter vomiting disease; kış kusma hastalığı’’ da denmiştir. Hastalık genellikle 12-48 saat süren kuluçka döneminden sonra başlar. Erişkinlerde ishal, çocuklarda kusma daha yaygın görülür. Halsizlik, hafif ateş, seyrek olarak da baş ağrısı görülebilir. Dışkı genellikle kan, mukus veya lökosit içermez. Dışkılama sıklığı günde ortalama 4-8 kez olup, orta miktarda dışkılama yapılır. Klinik belirtiler genellikle 24-72 saat sürer ve kendi kendini sınırlar, kronik enfeksiyona neden olmaz. Hastaneye tedavi için yatırmak nadiren gerekir ancak ciddi dehidratasyon, özellikle malnutrisyonlu çocuklar, yaşlılar ve immun sistemi zayıf hastalarda gerekebilir.

Gastroenterit salgınları sırasında etkenin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Rotavirüs tanısı virusun hücre kültüründe izolasyonu, viral antijenin aranması ve viral nükleik asitin gösterilmesi esaslarına dayanır. Rotavirüs çeşitli ticari antijenik deneyler, RT-PCR, elektron mikroskopisi, immun elektron mikroskobu, enzim immunoassay, lateks aglütinasyonu, flüoresan antikor testi, agar-jel immunodifüzyon, viral RNA yönünden poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE) ve hücre kültürü dâhil çeşitli tekniklerle tespit edilebilir. Bu yöntemlerin çoğu enfekte çocukların gaitasında virus miktarları çok yüksek miktarda olduğu için RV aranmasında verimli olmaktadır. Dışkı ya da rektal sürüntülerde viral antijenin tespiti en yaygın olarak kullanan yöntemlerdir. Dışkıda RV antijenlerin gösterilmesine dayanan lateks aglütinasyonu ve Enzyme Linked İmmunosorbent Assay (ELISA) gibi testler maliyeti düşük ve hızlı sonuç alınması nedeniyle daha sık olarak kullanılmaktadır. RV gastroenteritine en sık olarak neden olan grup A antijeninin dışkıda saptandığı ve RV ve adenovirus (serogrup 40 ve 41)’un birlikte arandığı hızlı testlerin duyarlılığının %86,7-100, özgüllüğünün ise %87,5-95 arasında değiştiği ifade edilmektedir.

Norovirüs enfeksiyonunun laboratuvar tanısında, hücre kültürü ve deney hayvanları modeli geliştirilememiştir. Bu nedenle, Norovirüs tanımlanması için birçok alternatif yöntem kullanılmıştır. Bu amaçla en çok elektron mikroskopi (EM), reverse transcription PCR (RT-PCR) ve "in-house" ELISA yöntemlerinden yararlanılmıştır. EM yönteminin dışkıda duyarlılığı düşük olup (dışkının 1 gramında yaklaşık 106 virus partikülü varlığında saptama mümkün olabilmektedir), iyi yetişmiş bir uzman ve donanıma ihtiyaç vardır. ELISA ise, çok özel donanım gerektirmeyen çalışılması kolay bir yöntem olup, başarısı yeterli ve uygun miktarda Norovirüs antijenlerinin varlığına bağlı olup duyarlılığı düşüktür.

Bu çalışma ile Norovirüs ve Rotavirüs araştırılmasında ELISA yöntemi ile Norovirüs ve Rotavirüs tanımlanması karşılaştırılacak, İstanbul ilinde akut Gastroenteritli olgularda Norovirus ve Rotavirüs varlığının tespit edilmesi amaçlanmıştır. Sonuçta, ilimizde etkenin varlığı ve önemi hakkında veri elde edilmesi hedeflenmiştir. Norovirüs ve Rotavirüs laboratuvar analizlerinde ELISA kolay ve nispeten daha ucuz bir yöntemdir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Gastroenteritin Önemi ve Etkisi

Akut gastroenterit, insanlarda en sık görülen hastalıklardan biridir. ABD'de, akut hastalıklarda viral akut solunum hastalıkları ikinci sıradadır (56). Dünya çapında, sadece 5 yaşın altındaki çocuklarda yılda 700 milyondan fazla akut diyare vakası olduğu tahmin edilmektedir (159). Gastroenterit, klinik olarak hafif ishal olarak kendini gösterir, ancak üst gastrointestinal semptomlardan (bulantı ve kusma), dehidratasyona ve hatta ölüme neden olan çok sayıda diyare kadar ciddi hastalıklar meydana getirebilir. Gastroenterit ile ilişkili yıllık mortalitenin 3,5 ile 5 milyon sayıda olduğu tahmin edilmektedir ve Ölümlerin çoğu gelişmekte olan ülkelerde ortaya çıkmaktadır.

Akut gastroenterit; bakteriler, virüsler ve parazitler dahil olmak üzere bir dizi farklı ajanlardan kaynaklanabilir. Yakın zamana kadar, birçok vaka, bir bakteriyel veya parazitik patojenin tanımlanamaması nedeniyle virüslere bağlanmıştır. Reimann ve ark. ve Gordon ve diğ. 50 yıldan uzun süre önce virüslerin, bakterilerden arındırılmış dışkı filtratları olan insanlarda hastalığa neden olduktan sonra ishalin neden olduğunu belirmişlerdir, ancak 1972'de, bir virüsün (Norwalk virüsünün) kesin olarak akut gastroenterit nedeni olarak tanımlandığı ileri sürülmüştür. O zamandan beri, akut gastroenterit ile ilişkili viral ajanların sayısı artmıştır (25, 76, 178).

2.2. Gastroenteritin Viral Sebepleri

Gastroenteritli kişilerin dışkısında birçok farklı virüs etkeni bulunur. Bununla birlikte, bu virüslerin her biri için nedensel bir rol oluşturulmamıştır. Bir virüsü gastroenteritin etiyolojik bir ajanı olarak tanımlamak için kriterler şunlardır: (i) diyare hastalarında kontrollere göre daha sık virüsün tanımlanması, (ii) spesifik ajana karşı bir bağışıklık tepkisinin gösterilmesi ve (iii) başlangıç göstermesi ve hastalığın sonunda virüs partiküllerinin dökülmesinin başlaması ve sonlandırılmasına karşılık gelir (92). Gastroenteritin etiyolojik ajanları ve yukarıda belirtilen kriterleri henüz yerine getirmeyen ve aynı zamanda dışkılarda bulunan diğer virüsler listelemektedir (11). Bunlar; *Koronavirüsler* (36, 59), *pikobirnavirüsler* ve *picotrirnavirüsler* (40, 75, 108) *pestivirüsler* (16, 184) ve *torovirüsler* (20, 21, 179)'dir, hayvanlarda diyare hastalıkları ile ilişkili oldukları ve gastroenteritli insanların dışkılarında bulundukları için diyare

olarak isimlendirilen ajanlardır. Bununla birlikte, bu virüsler, insanlardaki diyare ajanları olarak bunları ilişkilendirmek için gerekli kriterleri yerine getirmemiştir (90, 92). Hasta olmayanlarda görülenlere benzer şekilde dışkılarında grup dışı F adenovirüsleri ve birkaç enterovirüs (örn., *Coxsackie* A ve B virüsleri) bulunur (92).

2.3. Rotavirüsler

2.3.1. Virüs Özellikleri

Rotavirüs, kısa ve pürüzsüz bir dış kenar ile sanki bir tekerleğe benzemektedir. Bu yapı sırasıyla iç kapsid tabakası (viral protein (VP 2), orta kapsid tabakası (VP 6) ve dış kapsid tabakasından (VP 7 ve spike protein VP 4) oluşmaktadır. VP 2 yapısal proteini, VP 1 ve VP 3 enzimleri, viral genom ve viryon çekirdeğinden oluşmaktadır. Orta kapsid tabakası proteini (VP 6); grup, alt grup ve tür spesifikasyonlarını belirler. Dış kapsid tabakası, enfekte konaklarda bir bağışıklık yanıtı ortaya çıkaran ve rotavirüs-spesifik antikorların üretimine yol açan iki protein VP 7 ve VP 4'ten oluşur.

Rotavirüsler, 11 dsRNA segmentinin bir genomunu çevreleyen üç eşmerkezli kapsidden oluşan karmaşık bir yapıya sahip, zarfsız çift iplikli RNA (dsRNA) virüsleridir. RNA segmentleri altı yapısal viral protein (VP 1, VP 2, VP 3, VP 4, VP 6 ve VP 7) ve altı yapısal olmayan protein (NSP 1, NSP 2, NSP 3, NSP 4, NSP 5 ve NSP 6) kodlar. Olgun virüs partikülündeki proteinler, viral transkriptlerin üretimi için gerekli konak spesifitesi, hücre girişi ve enzimsel fonksiyonları belirler ve immün tepkileri üreten epitopları içerir (62).

Rotavirüs viral girişi; Rotavirüs, orta bağırsaktaki villusun orta ve ucundaki olgun bölünmeyen enterositlerde ve ince bağırsakta (110) enteroendokrin hücreleri enfekte eder ve çoğalır. Konakçı hücrelere rotavirüs bağlanması, VP 4'ün dış kapsid proteini (VP8 * alanı) (105) aracılığıyla olur, sialoglikanlar (gangliyositler GM1 ve GD1a gibi) ve histo-kan grubu antijenleri (HBGA'ler) (9) dahil olmak üzere konakçı hücre yüzeyi üzerinde bağlanır. Hücrenin içerisine girdikten sonra, rotavirus replikasyonu ve toplanması sitoplazmik viroplazmalarda meydana gelir, yeni üretilen rotavirüsler hücre lizisi veya golgi'den bağımsız klasik olmayan veziküler transport yoluyla hücrelerden salınır.

Rotavirüs enfeksiyonuna bağışıklığın tepskisi; Rotavirüs enfeksiyonuna duyarlılık, hem immünolojik olmayan (mide asidi'nin (19) varlığı ve bağırsakta (174) HBGA gibi rotavirüs reseptörlerinin diferansiyel ekspresyonu gibi) ve immünolojik faktörler

tarafından modüle edilir. Rotavirüs kaynaklı immün yanıtlar hakkındaki çoğu veri, hayvan modelleri (çoğunlukla neonatal veya erişkin fareler ve gnotobiyotik domuzcuklar) kullanarak yapılan çalışmalardan elde edilmektedir (66, 51), ancak bu verilerin insanlarla olan ilişkisi anlaşılamamakla birlikte ve rotavirüse karşı bağışıklık mekanizmaları bilinmemektedir. İnsanlarda hastalık tamamen anlaşılamamıştır.

Virüs'ün yapısı; Çoğu rotavirüs kapsid proteinlerinin 3D yapıları belirlenmiş olmasına rağmen, yapısal enzimler, VP3 (REFS 175-177) ve yapısal olmayan proteinlerin yapısının çoğu bilinmemektedir; bu yapıları belirlemek onların işlevlerini anlamamıza yardımcı olur ve hedef antiviral ilaçların gelişmesine yol açabilir. Ek olarak, rotavirüs dsRNA genomunun yapısı ve rotavirüs genom ürün çeşitliliği, ambalajlama ve partikül kompleksi tam olarak incelenmesi beklenmektedir. Örneğin, rotavirüs çift katmanlı parçacıklar, olgunlaşma sırasında geçici bir zarf elde ederler; bu, bilinmeyen bir mekanizma ile üç boyutlu katmanlı parçacık oluşumunun tamamlanmasından sonra kaybedilir (161). Rotavirüs replikasyonu sırasında, rotavirüs kodlanan proteinler, hücresel bileşenlerle etkileşir ve bu mekanizmaların araştırılması, devam eden bir araştırma konusudur (örneğin, viroplazma (43) toplanması için gerekli olan lipid damlacık formasyonu) ve replikasyonu düzenleyen yeni mekanizmaları ortaya çıkarmalıdır. Her ne kadar konakçı HBGA'lar insan rotavirüsleri için reseptörler olarak tanımlansa da rotavirüs enfeksiyonuna karşı duyarlılık ve aşılamaya yanıt olarak HBGA'lardaki genetik varyasyonun rolü tam olarak anlaşılamamıştır.

2.3.2. Bulaşma

Rotavirus ile ilişkili diyare atakları sırasında rotavirüs büyük miktarlarda dışkıdan atılır. Virüs ağırlıklı olarak fekal-oral yoldan, esas olarak yakın temas ile kişiden kişiye (62) iletilir ve duyarlı konakçılarda (177) hastalığa neden olmak için birkaç viryona ihtiyaç vardır. Kirlenmiş fomitler (yani, patojenlerin bulaşmasını mümkün kılan nesneler), özellikle ev dışında bakım ortamlarında ve hastanelerde (6, 32) rotavirüsün bulaşmasında da önemli bir role sahiptir.

2.3.3. Epidemiyoloji

Rotavirüsler hemen hemen her yerde bulunabilir ve dünya çapında neredeyse 3 ile 5 yaşındaki her çocuğu enfekte edebilir (77, 173). 2003 yılında, dünyada 5 yaşın altındaki çocuklarda 114 milyon rotavirüs enfeksiyonu vakası rapor edilmiştir; bunlardan 24

milyonu vaka ayakta tedavi ve 2,3 milyon olgu hastaneye yatmıştır (133). 2013 yılında Rotavirüsler, global olarak <5 yaştaki çocuklarda tahmini olarak 200.000 kişinin ölümüyle ilişkilendirilmiştir (165). Dünya çapında ishal ile hastaneye gelen çocuklarda rotavirüs enfeksiyonu prevalansı (~%30-50), ölümcül rotavirüs enfeksiyonu olan çocukların %90 düşük gelirli ülkelerde yaşımaktadır (165). Bu durum, sağlık hizmetlerine erişimin sınırlı olması, mevcut hidrasyon tedavisinin olmayışı ve diğer faktörlerin yanısıra (kötü beslenme gibi) komorbid durumların daha yaygın olması nedeniyle muhtemeldir. Örneğin, 8 aylıkken bebeklerde ve <5 yaş çocuklarındaki görülen rotavirüs yatışlarının oranı, Afrika'da %43 iken, Avrupa'da sadece %27'dir (135).

2.3.4. Klinik Bulgular

Bakteriyel patojenlerin neden olduğu gastroenteritin aksine, rotavirüs enfeksiyonları, nispeten kısa bir süre sürer ve sınırlı bir inflamatuar yanıta (110, 121) neden olan kanlı olmayan ishale neden olur. Rotavirüs enfeksiyonu (42, 181) olan çocuklarda serum C-reaktif protein ve fekal kalprotektin gibi inflamatuar maddeler neredeyse değişmez. Bu nedenle, rotavirüs kaynaklı diyare, enflamatuvar olarak kabul edilir ve iki önemli mekanizmaya sahiptir: malabsorpsiyona bağlı olarak (inerotte hasarı veya ölüme neden olan sekonder veya epitelyal emilim fonksiyonunun azalması) ve NSP4'ün etkilerine bağlı sekretuar diyare ve enterik sinir sistemidir (ENS) (17). Ek olarak, 5-hidroksitriptamin (5-HT; serotonin olarak da bilinir) rotavirüs enfeksiyon aracılı sekresyon, ishali ve kusmayı indükleyebilen sinyal yollarını aktive edebilir (78).

Rotavirus enfeksiyonu olan hastalardan alınan örneklerin az sayıda histopatolojik çalışması yapılmasına rağmen, bebeklerin duodenal mukozasında rotavirüs enfeksiyonu ve replikasyonunun normal hücresel homeostaziye zarar verdiği gösterilmiştir.

Rotavirüs enfeksiyonu sırasında hücre içi kalsiyum ve NSP4 seviyelerinde artış, insanlarda ve farelerde, enteroendokrin hücrelerden 5-HT'nin salgılanmasına neden olur.

Rotavirüs enfeksiyonunun ateşi nasıl tetiklediği tam olarak bilinmemekle birlikte, rotavirüs gastroenteriti olan çocuklarda, gastroenteritin olmadığı çocuklara göre ateş ile beraber serumunda, IL-6 ve TNF'nin anlamlı düzeyde yüksek olduğu bildirilmiştir (84).

2.3.5. Rotavirüs İnfeksiyonlarının Laboratuar Tanısı

Bebekler <1 aylıkken, rotavirüs enfeksiyonlarına farklı suşlar neden olur ve genellikle asemptomatik veya hafiftir, muhtemelen plasenta veya anne sütünden (26, 93) geçen maternal antikorlar tarafından korunma olur. > 3 aylık bebeklerde ilk rotavirüs

enfeksiyonları semptomatiktir ve dolayısıyla rotavirüs hastalığının insidansı 4 ile 23 ay (137, 143) arasındadır. Çocuklarda, rotavirüs hastalığının ortaya çıkış semtomları, kısa süreli sulu ishal, şiddetli diyare, kusma, ateş, elektrolit dengesizliği ve ölümle birlikte hızlı dehidratasyona neden olabilen kusma ve ateşle seyreder (77, 69). Daha önce de belirtildiği gibi, hastalığın şiddeti genellikle her tekrarlanan enfeksiyonla (173, 26) azalmasına rağmen, reenfeksiyonlar yaygındır. Bununla birlikte, rotavirüs, yaşça büyük çocuklarda ve yetişkinlerde, özellikle rotavirüs ishali olan çocukların ebeveynleri ve bakıcıları, bağışıklık sistemi baskılanmış bireyler, gezginler ve yaşlı bireylerde (60, 124) sınırlı hastalığa neden olabilir. Bu hastalıklar genellikle şiddeti orta ile hafiftir.

Rotavirüs kaynaklı hastalık, diğer gastroenterit indükleyici enfeksiyöz ajanlar (norovirüsler, enterik adenovirüsler 40 ve 41, astrovirüsler, *Escherichia coli* ve *Salmonella* türleri) tarafından neden olunan diyare hastalıklarından klinik olarak ayırt edilemese de birçok faktör rotavirüs enfeksiyonunu gösterebilir. Örneğin, rotavirüs enfeksiyonları genellikle diğer enfeksiyöz ajanların neden olduğu diyare hastalıklarından daha şiddetlidir. Ek olarak, enfeksiyonun mevsimselliği bazı bölgelerde rotavirüsün nedensel ajan olduğunu gösterebilir; örneğin, ekvatoryal olmayan ülkelerde, bir çocuğun kışın ishal ile ortaya çıkması halinde rotavirüs veya norovirüs enfeksiyonu önerilmektedir.

Klinik ortamda hekimler tarafından laboratuvarda doğrulanmış rotavirüs enfeksiyonu tanısı istendiğinde, rotavirus antijeni enzime bağlı immünosorban testi (ELISA) veya immünokromatografi kullanılarak dışkılarda tespit edilebilir. Aşı ve epidemiyolojik çalışmalarda, bu analizler çoğu zaman daha hassas olan ve virüs izolatlarının genotiplenmesine izin veren revers transkripsiyon PCR (RT-PCR) bazlı analizlerin kullanımı ile tamamlanmaktadır. PCR maliyeti yüksek ve teknik eleman ihtiyacı olduğundan dolayı yaygın olarak ELISA vd. hızlı diğer testler tercih edilmektedir.

2.3.6. Korunma

Hijyen veya sanitasyondaki gelişmeler, rotavirüs hastalığının yükünü önemli ölçüde azaltmaz; Yüksek ve düşük gelirli ülkelere rotavirüs aşılarının verilmesinden sonra ishal nedeniyle hastaneye yatış sıklığı öncesine göre %40 düşmüştür (134). Bu nedenle rotavirus'a karşı aşılama, rotavirüs hastalığını önlemek için en iyi önlemdir.

İki rotavirüs aşısı dünya çapında yaygın olarak kullanılmaktadır: RV 5 aşısı, RotaTeq (Merck, ABD) ve RV 1 aşısı, Rotarix (GlaxoSmithKline, Belçika). Her iki aşı için de

alternatif programların klinik çalışmalarda değerlendirilmesine rağmen, dünya çapında birçok ülkede benzer doz çizelgeleri ve yaş programları kullanılmaktadır. Her iki aşı da gelişmiş ülkelerde ciddi şekilde rotavirüs hastalıklarının önlenmesinde etkili olmuştur (100), ve birçok düşük gelirli ülkede ~%50-60 oranında şiddetli rotavirüs hastalığı insidansını azalmıştır (10, 185). Az gelişmiş ülkelerde azalan etkiyi belirleyen faktörler tam olarak anlaşılmamasına rağmen, bu ülkelerdeki yüksek rotavirus hastalığı yükü ve mortalitesi nedeniyle her iki aşı da düşük gelirli ülkelerde daha fazla hayat kurtarmaktadır (4).

2.4. Norovirüsler

2.4.1. Virüs Yapısı

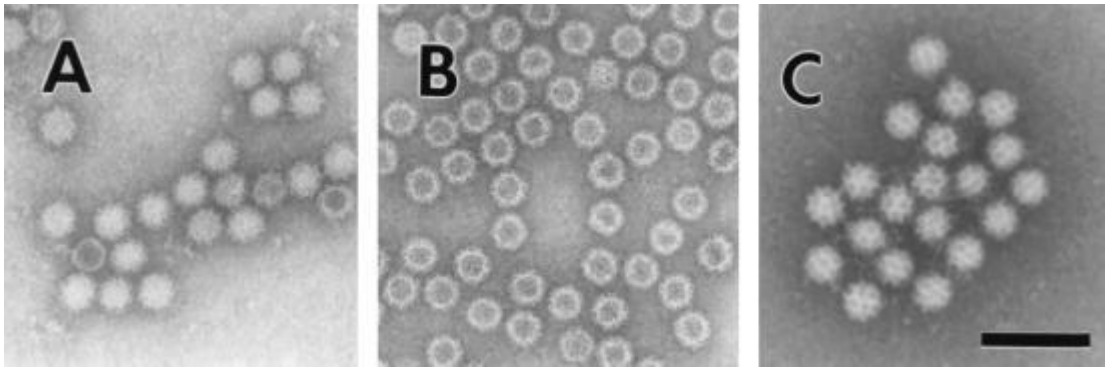
1968'de, Norwalk, Ohio'daki bir okulda öğrenciler ve öğretmenler arasında bir akut gastroenterit salgını (kışlık kusma hastalığı olarak adlandırılır) meydana geldi (1). Birincil atak oranı %50 idi ve ikincil atak oranı %32 idi. Hastalık, bulantı ve kusma ile %90 oranında ve etkilenen bireylerin %38'inde ishal ile karakterize edildi ve hastalık süresi genellikle 12 ila 24 saat idi. Ardından, etkilenen bireylerden toplanan dışkıların organizma içermeyen filtratları, insan gönüllülerinde benzer hastalığa neden olmuştur ve etken maddenin küçük (<36 nm), etere dirençli (gelişmemiş), nispeten ısıya kararlı dirençli olduğunu göstermiştir (27, 53, 54). Maddeyi hücre kültürü ve organ kültüründe yayma girişimleri başarısız olmuştur (27, 53).

1972'de Kapikian ve ark. (89) insan gönüllülerde hastalık indüklemek için kullanılan fekal bir filtratta 27-nm viral partikülleri enjekte etti, Norwalk ajanını tanımlamak için immün elektron mikroskobu (IEM) kullandı. Virüs partikülleri, fekal süzülen madde ile inokülasyondan sonra hasta olan bir gönüllüden iyileşen serumdan kullanılarak bir antijen-antikor reaksiyonunda çökeltilmiştir. Antijen-antikor kompleksleri daha sonra bir elektron mikroskobu ile görselleştirildi. Analiz, serumdaki antikor miktarını ölçmek üzere modifiye edildi ve iyileşme fazlı serumda akut faz serumundan çok daha fazla antikor bulunduğunu gösterdi. Bu verilerden ötürü, Norwalk virüsünün (NV) Norwalk, Ohio, gastroenterit salgınının etiyolojik maddesi olduğu ileri sürülmüştür. Daha sonra yapılan çalışmalar, morfolojik olarak NV'ye benzeyen diğer küçük, yuvarlak yapılı virüslerin (SRSV'ler) gastroenterit salgınlarıyla ilişkili olduğunu (7, 55, 166), ancak NV'nin bu fekal virüslerin prototipini koruduğunu gösterdi.

Morfolojik olarak tipik *calisivirüsler* ilk kez 1978 yılında Madeley ve Cosgrove tarafından dışkı örneklerinde tespit edildiği kabul edilmiştir (111). Bu araştırmacılar 10 çocuk fekal örneğinde *calicivirüs* partikülleri buldular, ancak çocukların bazıları asemptomatikti, böylece virüsün patojenitesi ile ilgili hiçbir sonuç alınamamıştır. Bu yılın ilerleyen dönemlerinde Flewett ve Davies (65), ince bağırsakta *kalsivirüs* parçacıklarını ölümcül bir gastroenterit olgusundan ayırt ettiler, ancak *adenovirüs* parçacıkları da çok sayıda mevcut olduğundan, *calicivirüs* parçacıklarının önemi belirlenemedi. Bununla birlikte, önümüzdeki birkaç yıl içinde, *kalisivirüsler* gastroenteritin çeşitli salgınlarıyla kesin olarak ilişkiliydi (44, 45, 47, 48, 127) ve gastroenterit ile ilişkili başka bir virüs grubu olarak kabul edildi (35, 112).

NV'nin özelliklerine ve elektron mikroskobu ile görünümüne dayanarak, NV ve diğer küçük yuvarlak virüslerin *parvovirüs* benzeri olduğu düşünülmüştür (53, 88). Bununla birlikte, 1981'de Greenberg ve ark. (85) NV'nin, tahmini molekül kütlesi 59 kDa olan tek bir yapısal proteine sahip olduğunu ve Norwalk virüsünün bir *calicivirüs* olabileceğini öne süren yayınlanmış veriler. Dokuz yıl sonra, Jiang ve ark. (147) Virüsün, genral genomun pozitif-sens, tek-iplikçikli, poliadenilatlanmış RNA'dan oluştuğunu göstererek NV'nin bir kalikivir olduğunu gösteren moleküler kanıt sağladı. NV'nin tam dizisinin ve ilgili SRSV'lerin daha sonra açığa çıkarılması, bu virüslerin diğer calicivirüslere genetik bağlılığını doğruladı (52, 80, 86, 98, 99, 155).

NV yüzeyinde girintili olmasına rağmen belirsiz bir "tüylü" dış kenarı ve belirsiz bir yüzey alt yapısı vardır [Şekil 2.1.(A)]. *Bakulovirüs* sistemini kullanarak kapsid proteini ifade eder, NV proteininin virüs benzeri parçacıklara (VLP'ler) kendi kendine birleşmesini sağlar [Şekil 2.1(B)]. Elektron mikroskobu ile, VLP'lerin doğal virüsünkine benzer bir morfolojisi vardır. Bu VLP'lerin yapısı, elektron kriyomikroskopi ve bilgisayar görüntü işleme ile X-ışını kristalografik yöntemleri ile çözülmüştür (138, 139). Kapsül, bir T = 3 ikozahedral simetri sergiler. Ana yapısal protein, kemer benzeri kapsomerlerin çıktığı bir kabuk alanı oluşturan 90 dimere katlanır. Bu mimarinin önemli bir özelliği, icosahedral beş kat ve üç katlı eksenlerin her birinde 32 fincan şeklinde görülür. Bazı suşlarda (özellikle *Sapporo* benzeri virüsler [SLV'ler]) daha belirgindir, bu da *kalikivirüslerin* isimlerini aldıkları karakteristik "Davut Yıldızı" görünümüne yol açar [Şekil 2.1(C)]. *Calicivirüs* adı, fincan veya goblet anlamına gelen Latin kaliksinden türetilir ve elektron mikroskobu ile görülebilen bardak şeklindeki girintilere işaret eder.



Şekil 2.1. (A) NV (B) *Baculo virus* (C) *Sapporo virus* elektron mikroskobu görüntüsü (2001, American Society for Microbiology)

1990 yılında NV'nin genomu klonlanmış ve karakterize edilmiştir (85). Daha sonra ki yapılan yeni çalışmalar, bu aileye ait virüslerin ve diğer insan virüsleri karakterize etmiş ve tamamen sıralamıştır (52, 80, 86, 98, 99, 103, 104, 155). Son zamanlarda, Virüslerin Taksonomisi Uluslararası Komitesi, iki insan *calicivirüs* (HuCV) cinsi de dahil olmak üzere *Caliciviridae* ailesi içinde dört cinsi oluşturdu ve onayladı (73). İki HuCV cinsinin şu anda "Norwalk benzeri virüsler" (NLV'ler; tip suşu, NV [Hu / NLV / *Norwalk virüsü* / 8FIIa / 1968 / US]) ve "Sapporo benzeri virüsler" (SLV'ler; suş *Sapporo virüsü* [Hu / SLV / Sapporo virüsü / 1982 / JA])'dir. Ortak NLV ve SLV suşları ve bu incelemede tartışılan suşlar için soy ismini ve uygun ismi göstermektedir.

NoV'lerin RNA genomu üç açık okuma çerçevesinden (ORF'ler) oluşmaktadır. ORF 1, viral proteaz tarafından 6 proteine otomatik olarak bölünen bir yapısal olmayan poliproteini kodlar: p48, nükleosit trifosfataz, p22, VPg, proteaz (Pro) ve RNA'ya bağımlı RNA polimeraz (RdRp)'dır. ORF 2 ise, NoV'lerin ana yapısal proteini olan kapsid protein VP 1'i üretir. ORF 3 ise bilinmeyen bir fonksiyona sahip küçük bir yapısal protein olan VP 2'yi kodlar (24, 139). Viral kapsid yapısı, histo-kan grubu antijenleri (HBGA) bağlanma bölgeleri ve viral antijenik determinantları içerir, bu da NoV VLP'lerin aşı geliştirilmesi için kullanılmasına rol oynar. Bu VLP'ler patojenik değildir, çünkü nükleik asit içermezler ve çoğalamazlar.

Norovirüsler viral kapsid (VP1) geninin filogenetik analizine dayanan beş genogrupta sınıflandırılır ve genotipler olarak adlandırılan genetik kümelere ayrılır. Genogruplar I (GI) ve II (GII) en çok insan enfeksiyonları ile ilgilidir. Norwalk virüsü prototip suşu, GI.1 olarak sınıflandırılmıştır. GII.4 NoV'ler dünya çapında NoV salgınlarında belirlenen baskın dolaşımdaki genotiplerdir (31). Kapsid amino asit sekansının önemli genetik varyasyonu bir genogrupta (<%44) ve genogruplar arasında

(>%45) bulunur (186). Noktasal mutasyonlar ve ilgili NoV'lerin rekombinasyonu, NoV'lerin büyük çeşitliliğine katkıda bulunur. NoV GII.4 varyantlarının veya NoV'lerin antijenik sapmasının hızlı evrimi, yeni NoV suşlarının koruyucu bağışıklığı olmayan yeni duyarlı popülasyonları enfekte edebildiği ve potansiyel olarak yeni genetik karbonhidratı bağlayabildiği için, global epidemilerle ilişkili yeni suşların ortaya çıkmasına yol açmıştır (158).

NoV enfeksiyonlarına karşı İnsan bağışıklığı yanıtı, mekanizması iyi tahlil edilememiştir. NoV'lerin antijenik çeşitliliği, konakçı immün cevabının oluşmasında önemli bir rol (102, 158) oynar.

Hücre aracılı bağışıklık, NoV enfeksiyonlarına karşı önem taşıyabilmektedir. NoV'ler ile enfekte edilmiş insan konakçılarda, artan IFN-y ve IL-2 sitokin üretimi ile baskın bir Th1 bağışıklık cevabı gösterilir. Hem hücresel hem de humoral immünosupresyonu olan allojeneik hematopoietik kök hücre transplantasyonu (HSCT) alıcılarının kronik NoV gastroenteriti ve ölüm dahil ciddi komplikasyonları olduğu bildirilmiştir (101).

2.4.2. Bulaşma

NoV'lar enterik salgın patojenleri olarak fekal-oral bulaşa yol açmaktadırlar. Kusma ile aerosolizasyon yoluyla bulaş meydana geldiğine dair çalışmalar vardır (113, 153). NoV gastroenteritinin kolay yayılması, bakım evleri gibi yakın yaşam alanlarındaki kişiler arasında salgınlara yol açması açısından önem taşımaktadır. Virüs partiküllerinin bulaşıcı olup olmadığını doğrulamak için çalışmalara ihtiyaç duyulsa da semptomların klinik olarak görülmesinden sonra bile 8 haftaya kadar NoV atılımının devam etmesi de bulaşa katkıda bulunabilmektedir (14).

2.4.3. Epidemiyoloji

NoV'ler dünya çapında gıda kaynaklı hastalığın en yaygın nedenidir. ABD'de NoV enfeksiyonları, tüm gıda kaynaklı gastroenterit salgınlarının üçte ikisinden fazlasına neden olduğu konusunda atıfta bulunur (29) ve her yıl yaklaşık 23 milyon vakaya neden olur (118). NoV de sınırlı çalışmalarda *Clostridium difficile* enfeksiyonları (CDI) ile ilişkili bulunmuştur (97).

Norovirüsler, gelişmekte olan ve sanayileşmiş ülkelerde 5 yaşından küçük çocuklarda Rotavirüslerden sonra gastroenteritin en yaygın ikinci nedenidir. NoV'ler dünya çapında ciddi gastroenterit neden olur, hastaneye yatırılan 5 yaşından küçük çocukların %12'sinden sorumludur. Her yıl, NoV'ler sanayileşmiş ülkelerde yaklaşık 900.000 pediatrik gastroenterit vakasına ve gelişmekte olan ülkelerde en az 1,1 milyon bölüm ve 218,000 ölüme neden olmaktadır. Rotavirüs aşıları, rutin olarak uygulandığı için, rotavirüs enfeksiyonlarının prevalansında önemli düşüşler kaydedilmiştir (49). Rotavirus aşısının başarısı ile, NoV'ler kısa sürede dünya çapında pediatrik popülasyonlarda en önemli enterik patojeni olabilir. NoV'lerin, Meksika, Hindistan veya Guatemala'da ikinci en yaygın enterik patojen olduğunu gösterilmiştir. Gelişmekte olan ülkelerde norovirüs gastroenteritler açısından gıda ve su kaynaklı fekal kontaminasyonuna yol açabileceği için risk altındadır.

2.4.4. Klinik Bulgular

"Kış kusma" hastalığı olarak tanımlanan norovirüs gastroenteriti, 1-2 gün süren kuluçka dönemini takiben sıklıkla bulantı, kusma ve sulu ishal ile kendini gösterir. Bunlara karın ağrısı, krampları, iştahsızlık, halsizlik ve subfebril ateş eşlik edebilir. NoV'ler invaziv patojenler değildir bu sebeple kanlı veya mukoid ishal veya yüksek ateş gibi dizanteri semptomları nadiren görülür. Norovirüslere maruz kalan kişilerin üçte birinde de asemptomatik bir enfeksiyon gelişebilir (72). NoV gastroenterit, olguların çoğunda 24-60 saat süren kendi kendini sınırlayan bir hastalıktır. Bununla birlikte, enfekte kişiler semptomların görülmesinden sonra yaklaşık 8 hafta boyunca yüksek viral (1012 NoV kopya / g dışkıya kadar)dışkı NoV'leri çıkarmaya devam edebilir (14). İmmün yetmezliği olan bireyler, çocuklar ve yaşlılar dehidratasyon, kilo kaybı, böbrek yetmezliği, yaygın damar içi pıhtılaşma (DIC), aylar boyunca kronik diyare, yetersiz beslenme ve hatta ölüm gibi daha kalıcı ve şiddetli bir hastalık seyri yaşayabilirler (13, 57).

2.4.5. Rotavirüs İnfeksiyonlarının Laboratuar Tanısı

Norovirüs'lerin laboratuar tanısı ve epidemiyolojik araştırmalar için örnek toplanmasına hastalığın erken safhasında ve salgının ilk gününden itibaren başlanmalıdır. Bu amaçla incelenecek örnekler, dışkı, kusmuk, serum, su ve gıdalardır.

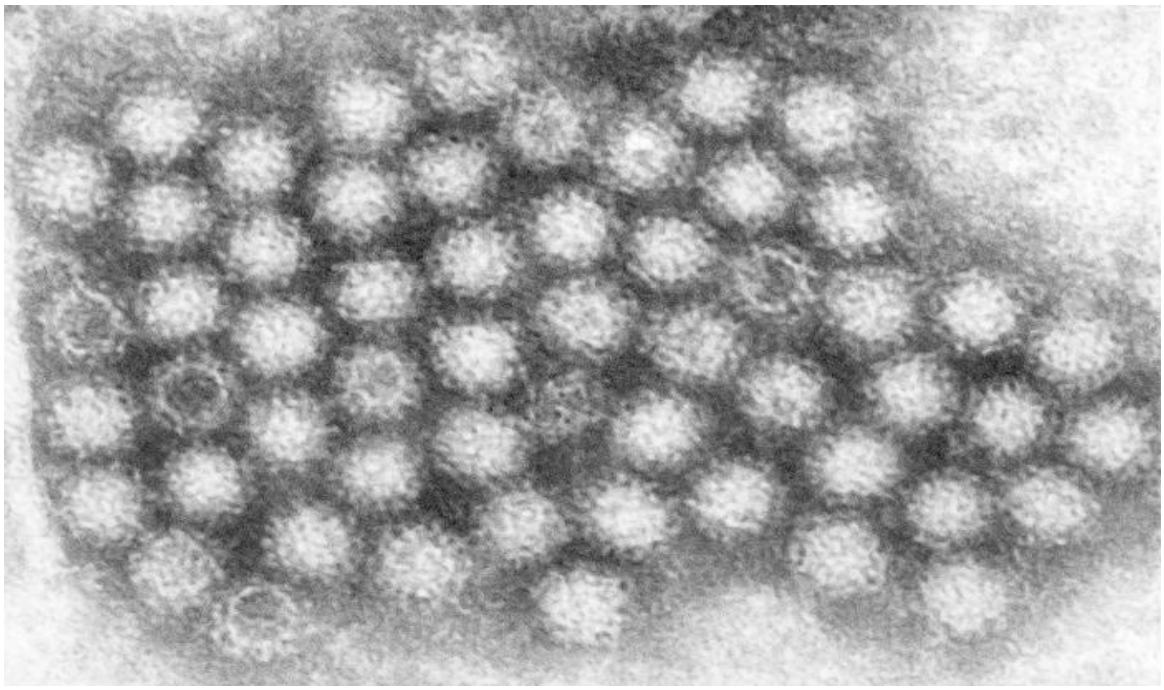
Kusmuk örnekleri özellikle çocukluk çağı gastroenteritlerinin tanısında önemlidir ve dışkı numuneleri gibi alınmalıdır.

Norovirüslerin tanısında elektron mikroskopisi ve immunelektron mikroskobu ilk kez 1972'de kullanılmıştır. 1990'larda ise klinik, su ve gıda örneklerinde viral genom (RNA) hibridizasyon ve RT-PCR gibi teknikler ile aranmıştır. Günümüzde özellikle moleküler epidemiyolojik araştırmalar ile genotiplendirmede RNA polimeraz, kapsid proteini ve genomik sekans analizi gibi yöntemler kullanılmaktadır (114, 167, 156).

Elektron Mikroskobik İnceleme

Dışkı örneklerinin elektron mikroskobuyla incelenmesi zahmetli, nisbeten duyarlılığı düşük, yoğun emek gerektiren ve enfeksiyonun başlangıcından itibaren 2-3 gün içinde saptanabilen virüslerin morfolojik olarak görünümüne dayanan bir yöntemdir (145). Elektron mikroskobisi bir gram dışkı örneğinde yaklaşık 106 virüs partikülünü saptama sınırına sahip olup iyi bir donanıma ve deneyimli personele ihtiyacı bulunmaktadır. Norovirüsler elektron mikroskobunda, yuvarlak ve dış yüzeyinden içe doğru çukurlu bir yapıda kupa veya fincan formunda olmasıyla ayırt edilebilmektedir (Şekil 2.2.), (12, 132). Rektal sürüntü örnekleri yeteri kadar virüs içermeyeceğinden inceleme için tercih edilmez.

İmmun elektron mikroskobisinde virüsun tespitini kolaylaştırmak için antiserum kullanılmakta ve bu antiserum ile dışkı süspansiyonundaki virusler bir araya toplanmakta ve virüslerin daha kolay tespitini sağlamaktadır (91).



Şekil 2.2. Norovirüsün, transmisyon elektron mikroskobunda (TEM) görüntüsü (CDC; Charles D. Humphrey, http://phil.cdc.gov/phil/details.asp?pid=10704)

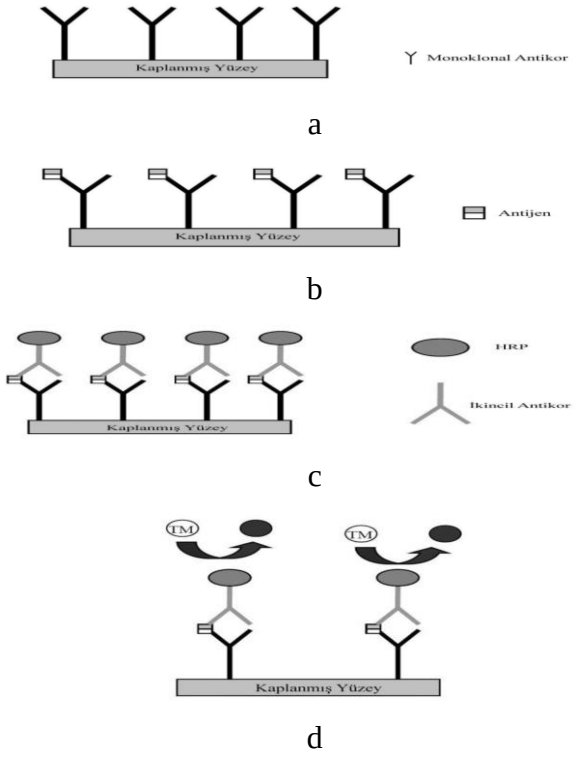
Antijen saptamaya dayalı testler

Antijen saptamaya dayalı testlerin başında Elisa yöntemi gelmektedir. Bunlar karmaşık olmayan uygulaması kolay yöntemlerdir. ELISA'da saptama sınırı yaklaşık bir gram dışkı örneğinde 10^4-10^6 viral partikül olarak değerlendirilmektedir. Bu yöntem ile norovirüsün kapsid proteini yani antijeni saptanabilmektedir (12). Bu yöntemde, antijen ya da antikor bir enzimle işaretlenmekte ve immunolojik reaksiyon, enzimatik bir aktivite sonucu ölçülmektedir. ELISA testinin direkt, indirekt ve sandviç ELISA gibi farklı şekilleri olmasına rağmen en sık kullanılanı sandviç ELISA yöntemidir (8).

Saha spesifik olarak ELISA testinin prensibi; şüpheli antijen veya antikorun homoloğu olan enzimle işaretli bir konjugata bağlanması ve bu bağlantının substrat adı verilen kimyasal bir madde yardımıyla renginin değiştirilip görünür hale getirilmesidir (131).

Direkt sandviç ELISA testinde özel monoklonal antikor (tersi durumunda antijen) ile kaplı mikrotitre plakasının kuyucuklarına analizi yapılacak numune aktırılarak, yüzeye tutunmuş olan antikorun numunedeki özel antijene bağlanması sağlanmaktadır. Ardından kuyucuklara tekrar enzimle işaretli ve antijenin farklı bir bölgesine özelleşmiş poliklonal antikor ilave edilmektedir. Kuyucuklara ilave edilen kromojenik madde içeren substratın

enzimle olan reaksiyonu sonucu antijen derişimi ile doğru orantılı olarak renk değişimi gözlenmektedir. Ortaya çıkan rengin yoğunluğu, belirli bir dalga boyunda kolorimetrik yöntemle ölçülmektedir (Şekil 2.3) (63).



Şekil 2.3. (a) Antikorla kaplanmış kuyucuk yüzeyi, (b) önekteki antijenin antikora bağlanması, (c) enzim bağlı (yaban turpu peroksidazı, HRP) antikorun antijene başlanması ve (d) enzimin ortama eklenen substratla (H2O2) reaksiyona girmesi sonucu oluşan ürünün (O2) ortamda bulunan kromojenik maddenin (tetrametilbenzidin, TM) renk değiştirmesini sağlaması (63)

Moleküler Teknikler

RT-PCR ve nükleik asit hibridizasyon yöntemleri norovirüs genomunun klinik ve çevre örneklerinden saptamada ve salgın araştırmalarında en duyarlı yöntemlerdir. Norovirüs salgınlarını tanımlamak için kullanılan RT-PCR altın standart olarak kabul edilmektedir (145).

Hibridizasyon yöntemleri EIA yöntemlerine benzer olarak 1 ml fekal örnekte en az 104-105 viral partikül olduğunda saptayacak kapasitede olup RT-PCR yöntemleri ise daha az sayıda virüs miktarını örneğin 10 genomik kopyayı saptayabilmektedir (12, 130).

RT-PCR yöntemi dışkının yanında kusmuk, salgına sebeb olabilecek su, gıda ve deniz ürünlerinde de tanı için kullanılabilmektedir (150).

Ancak moleküler yöntemlerin maliyeti yüksek, olması ve tecrübeli personel ihtiyacı sebbeiyle rutin klinik laboratuvarlarda çalışılması oldukça güçtür.

Antikor saptamaya dayalı testler

Norovirüs için serumda antikor aranırken özellikle yetişkin hastalar önceden virüse karşı antikor geliştirebilecekleri için tek serumda değil akut ve konvelesan faz olarak 2 kez serum örneği çalışılıp antikor titresinde 4 katlık artışı saptamak gerekir. Rekombinat antijenlerin kullanıldığı antikor yanıtını saptayan Enzyme Immunoassay (EIA)'ler IgG, IgM, IgA serolojik yanıtlarını tanımlamak için geliştirilmiştir. Enfeksiyondan yaklaşık 8-11 gün sonrasında norovirusa özgü IgA ve IgG titrelerinde önemli bir artış görülmekte ve IgG antikorun titresi ise enfeksiyonun ilk beş gündeki akut dönemdeki ile 3-6 hafta sonraki dönemde 4 katlık bir artış olmaktadır. Norovirüse özgün IgM antikorları ise 2 hafta içerisinde saptanmaktadır (12, 167). Az sayıda olan çalışmalarda sIgA dışkıda enfeksiyon için belirteç olarak kullanılmış, ancak gönüllülerde yapılan yeni bir çalışmada oral olarak norovirüs alındıktan sonra sIgA düzeyinde anlamlı bir artış tespit edilememiştir (160).

2.4.6. Korunma

Salgınlar sırasında norovirüs bulaşmasını önlemek için önerilen başlıca kontrol stratejilerinden biri, her şeyden önce tanımlayıcı metodlara dayanmakla birlikte, uygun el hijyenidir (35). Norovirüs bulaşmasının önlenmesi için elbise ve eldiven kullanımı için olumlu veriler öncelikle gözlemsel veya tanımlayıcı çalışmalarla birlikte elde edilmiştir. Etkin bir NoV aşısı üretmeye yönelik mevcut çalışmalar vardır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Çalışmaya Alınan Örnekler

Bu çalışmaya akut gastroenterit şüpheli, ishali olan çocuk hastalardan, Marmara Üniversitesi hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına Rotavirüs ve Adenovirüs Antijeni bakılması isteğiyle gönderilen dışkı örnekleri dahil edilmiştir.

3.1.2. Çalışma Grubunu Oluşturan Örneklerin Belirlenmesi

1 Aralık 2017 ile 28 Şubat 2018 arasında Viral Gastroenterit şüphesiyle antijeni bakılması amacıyla gönderilen çocuk hastalara ait 213 dışkı örneği çalışmaya dahil edilirken, kültür isteği ile gönderilen örnekler çalışmaya alınmadı. Çalışma sırasında kanlı, mukuslu ve katı şekilli dışkılar çalışma dışı bırakıldı. Çalışma sırasında örnekler belirlenirken, çocuklardan dışkı örnekler alındı. Çalışma öncesinde Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan gerekli izin alındı ve hastalar çalışmayla ilgili bilgilendirilerek, sözlü onay alındı.

3.1.3. Kullanılan cihazlar ve aletler

1. Mikroplaka yıkayıcı (Bio Rad- PW40)

2. Güvenlik Kabini (Heraeus-HERA safe)

3. Absorbans mikroplaka okuyucu (Bio Rad- PR 4100)

4. Mikrosantrifüj tüpleri (ISOLAB- P.P 1.5- P.P 2)

5. Steril plastik öze (10 µl)

6. Steril pipet ucu (0,5-10 µl, 1-200 µl, 0-1000 µl)

7. Derin Dondurucu (Arçelik) -20

8. Balon joje (250 ml, 500 ml, 1000 ml)

9. Mezür (100 ml, 500 ml, 1000 ml)

10. Otoklav (Nüve- OT 020)

11. Hassas Terazi (Scaltec)

12. Buzdolabı (Indesit) +4

13. Vortex (NM- 110)

14. Distile su cihazı (Nüve NS 108)

15. Mikropipet Seti (Axygen- AP 10- AP100- AP10000)

3.2. Yöntemler

3.2.1. Dışkı Örneklerinin Toplanması

Marmara Üniversitesi Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına Aralık 2017-Mart 2018 tarihleri arasında Rotavirüs ve Adenovirüs antijen bakılması isteği ile gönderilmiş dışkı örnekleri çalışmaya dahil edilmiştir. Dışkılar makroskobik açıdan değerlendirilip, sulu dışkılar mikroskobik olarak incelenmiştir. Direkt incelemesinde lökosit saptanmayan örnekler çalışmaya dahil edilmiş hızlı kromatografik yöntemle çalışılarak Rotavirüs ve Norovirüs antijen testleri için eppendorf tüplere alikotlama yapılarak kayıt altına alınmıştır. Kayıtlamada; örneğin sırası, hastanenin atadığı protokol numarası, ad ve soyad, yine hastanenin belirlediği barkod numarası, tarih, doğum tarihi, rotavirüs ve adenovirüs sonuçları yer almıştır. Gaita örnekleri daha sonra -20 ^{o}C'de saklanmıştır.

3.2.2. Dışkı Örneklerinin Çalışılması

Dışkı örnekleri mikroskobik olarak incelenmiş, lökosit saptanmayanlar için ELISA yöntemiyle çalışılmıştır.

Dışkıda Rotavirüs ve Norovirüsün ELİSA yöntemiyle Saptanması

İlk olarak -20 ^{o}C'de saklanan dışkı tüpleri oda sıcaklığına getirildi. Aynı şekilde çalışılacak ELISA kitler, dilüent solüsyonu ve yıkama solüsyonu da oda sıcaklığına getirilmiştir.

3.2.2.1. ELISA Yöntemiyle Rotavirüs Antijeni Saptanması

Rotavirüs antijenini tespit etmek için mikroplak ELISA kiti (DRG Instruments GmbH, Almanya) kullanıldı (Şekil 3.1.). Dışkı örnekleri oda sıcaklığına getirildikten

sonra, üretici firmanın önerileri doğrultusunda aşağıda özetlendiği gibi çalışma prosedürüne göre diğer işlemler yapıldı.



Şekil 3.1. DRG Instruments GmbH Rotavirüs kiti

Rotavirüs ELISA Test Prosedürü

1. Dışkı örnekleri çalışma öncesi oda sıcaklığına getirildi.
2. Tüm solüsyonlar ve mikroplateler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi (20 – 25 °C).
3. Distile su ile yıkama tampon solüsyonu 1:10 oranında dilüe edildi.
4. Örnek dilüsyon tampon solüsyonu ile gaita örnekleri 1:11 oranında dilüe edildi (Diluent 1).
5. Çalışılan her kuyucuğa kuyu başına 2 damla (75 µL) (CONJ HRP) HRP konjugat eklendi.
6. İlk kuyucuğa 75 µL pozitif kontrol eklendi ve karıştırıldı.
7. İkinci kuyucuğa 75 µL negatif kontrol eklendi ve karıştırıldı.
8. Diğer kuyucuklara 50 µL örnek eklendi.
9. Plaklar oda sıcaklığında (20-25 ºC) 60 dakika bekletildi.
10. Her bir kuyucuk 300 µL yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.
11. Her bir kuyuğa 75 µL (SUBSTR TMB) substrat eklendi.
12. Plaklar oda sıcaklığında (20-25 ºC) 10 dakika karanlıkta bekletildi.

13. Her bir kuyucuğa 75 µL durdurma solüsyonu (sülfirik asit) eklenerek reaksiyon durduruldu.
14. Plaktaki kuyucuklarda oluşan renk değişikliği spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okutularak absorbans değerleri ölçüldü (Şekil 3.).
15. Negatif kontrolün ölçülen optik dansite (OD) değerinin üzerine 0.20 eklenerek "cut-off" değeri belirlendi.

Dışkı örneklerinde ELISA için BioRad PW40 yıkayıcı ve BioRad PR 4100 okuyucu kullanıldı.

Sonuçlar hesaplandıktan sonra çalışmalardan elde edilen pozitif ve negatif kontrollerin sonuçlarına göre hesaplanan sınır değerler (cut-off) ile karşılaştırılarak pozitif ya da negatif olarak rapor edildi.

3.2.2.2. ELISA Yöntemiyle Norovirüs Antijeni Saptanması

Norovirüs antijenini tespit etmek için GI ve GII genotiplerini tayin edebilen, mikroplak ELISA kiti (RIDASCREEN, üçüncü jenerasyon, R-Biopharm, Darmstdt, Almanya) kullanıldı (Şekil 3.2.). Dışkı örnekleri oda sıcaklığına getirildikten sonra, ELISA kiti içindeki sulandırma tamponu ile %10 oranında sulandırıldı, santrifüjlendi ve üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışma prosedürüne göre diğer işlemler yapıldı. Sonuçlar hesaplandıktan sonra çalışmalardan elde edilen pozitif ve negatif kontrollerin sonuçlarına göre hesaplanan sınır değerler (cut-off) ile karşılaştırılarak pozitif ya da negatif olarak rapor edildi.

Dışkı örneklerinde ELISA için BioRad PW40 yıkayıcı ve BioRad PR 4100 okuyucu kullanıldı. Santrifüj için Vortex (NM- 110) cihazı kullanılmıştır.



Şekil 3.2. 3rd Generation RIDASCREEN Norovirüs kiti

Norovirüs ELISA Test Prosedürü

1. Dışkı örnekleri çalışma öncesi oda sıcaklığına getirildi.
2. Tüm solüsyonlar ve mikroplateler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi (20 – 25 °C).
3. Distile su ile yıkama tampon solüsyonu 1:10 oranında dilüe edildi.
4. Örnek dilüsyon tampon solüsyonu ile gaita örnekleri 1:11 oranında dilüe edildi (Diluent 1).
5. İlk kuyucuğa 100 µl pozitif kontrol, ikinci kuyucuğa negatif kontrol (Dilüent 1), diğer kuyucuklara sırayla 100 µl örneklerden eklendi.
6. Her bir kuyucuğa 100 µl konjugat 1 eklendi ve karıştırıldı.
7. Plaklar oda sıcaklığında (20-25°C) 60 dakika bekletildi.
8. Her bir kuyucuk 300 µl yıkama tampon solüsyonu ile 5 kez yıkandı.
9. Her bir kuyucuğa 100 µl konjugat 2 eklendi.
10. Plaklar oda sıcaklığında (20-25°C) 30 dakika karanlıkta bekletildi.
11. Her bir kuyucuk 300 µl yıkama tampon solüsyonu ile 5 kez yıkandı.
12. Her bir kuyucuğa 100 µl substrat eklendi.

13. Plaklar oda sıcaklığında (20-25°C) 15 dakika karanlıkta bekletildi.
14. Her bir kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu (sülfirik asit) eklenerek reaksiyon durduruldu.
15. Plaktaki kuyucuklarda oluşan renk değişikliği spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okutularak absorbans değerleri ölçüldü (Şekil 3.).
16. Negatif kontrolün ölçülen optik dansite (OD) değerinin üzerine 0.15 eklenerek "cut-off" değeri belirlendi.

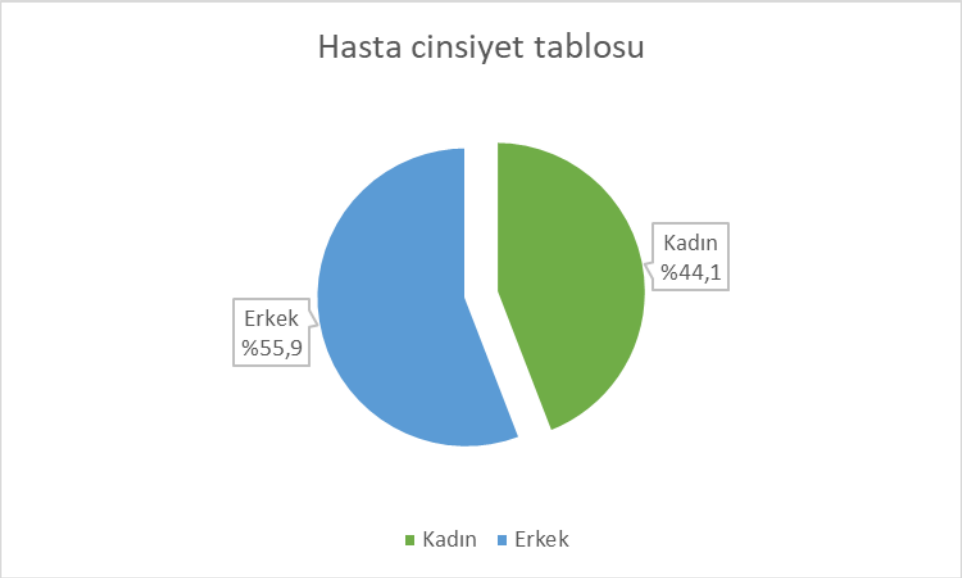
3.3. İstatistiksel Analiz

Araştırmanın verilerinin değerlendirilmesinde SPSS 19.0 istatistik programı kullanılmıştır. Veriler tanımlayıcı istatistiksel analizler kullanılarak sıklık ve yüzde, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler kullanılarak sunuldu. Yaş grupları, cinsiyet gibi kategorik verilerin değişkenlerin karşılaştırılmasında ise Ki-kare testi kullanılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlılık düzeyi $p \leq 0,05$ belirlenmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Dışkı Örneklerinin Değerlendirilmesi

Çalışmamızda toplam 213 hastadan dışkı örneği toplandı. Bu örneklerin 119'u (%55,9) erkek hastalara ait olup 94'i (%44,1) ise kadın hastalara aittir.



Çalışmamızda yer alan hastaların yaş ortalaması 3.5'dir. Hastaların yaş aralığı 0-18 yıl aralığında dağılım göstermektedir (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1. Hasta yaş dağılım tablosu

Yaş	Kadın	Erkek	Toplam
0-3	68	77	145
>3-5	9	15	24
>5-18	17	27	44
Toplam	94	119	213

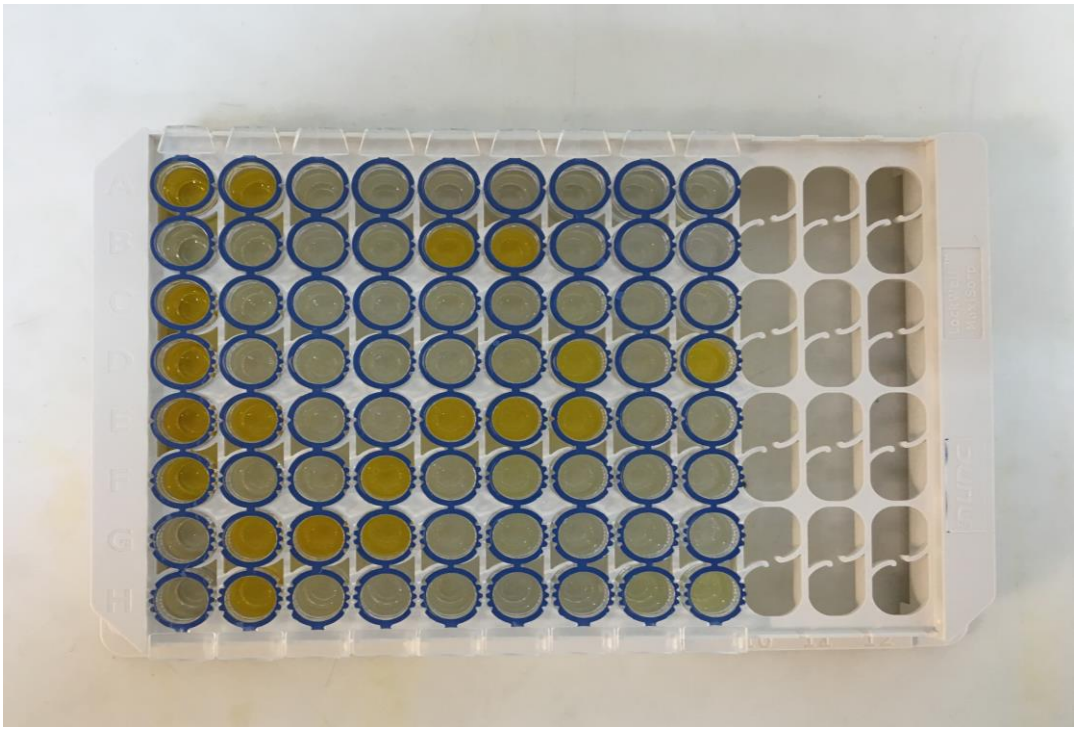
4.2. Dışkıda Rotavirüs Antijeni ELISA Sonuçları

Çalışmamızda örneklerin %21 pozitif, %79'u negatif bulunmuştur (Tablo 4.2.). ELISA ile erkek hastaların 25'inde kadın hastaların 20'sinde rotavirüs saptanmış ancak cinsiyet açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Yaş gruplarına göre ELISA pozitifliği yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı.

Tablo 4.2. Yaş gruplarına göre Rotavirüs ELISA sonuçlarının dağılımı

Yaş	Rotavirüs pozitif	Rotavirüs negatif	Toplam
0-3	32	113	145
>3-5	5	19	24
>5-18	8	36	44
Toplam	45	168	213

Rotavirüs pozitiflerin aylara göre dağılımında aralık ayında 10, ocak ayında 23 ve şubat ayında 12 tane pozitif örnek bulunmuş, olmak üzere 45 örnekte rotavirüs pozitif bulunmuştur (Şekil 4.1.).



Resim 4.1. Rotavirüs çalışmasında görülen pozitif ve negatif örnekler

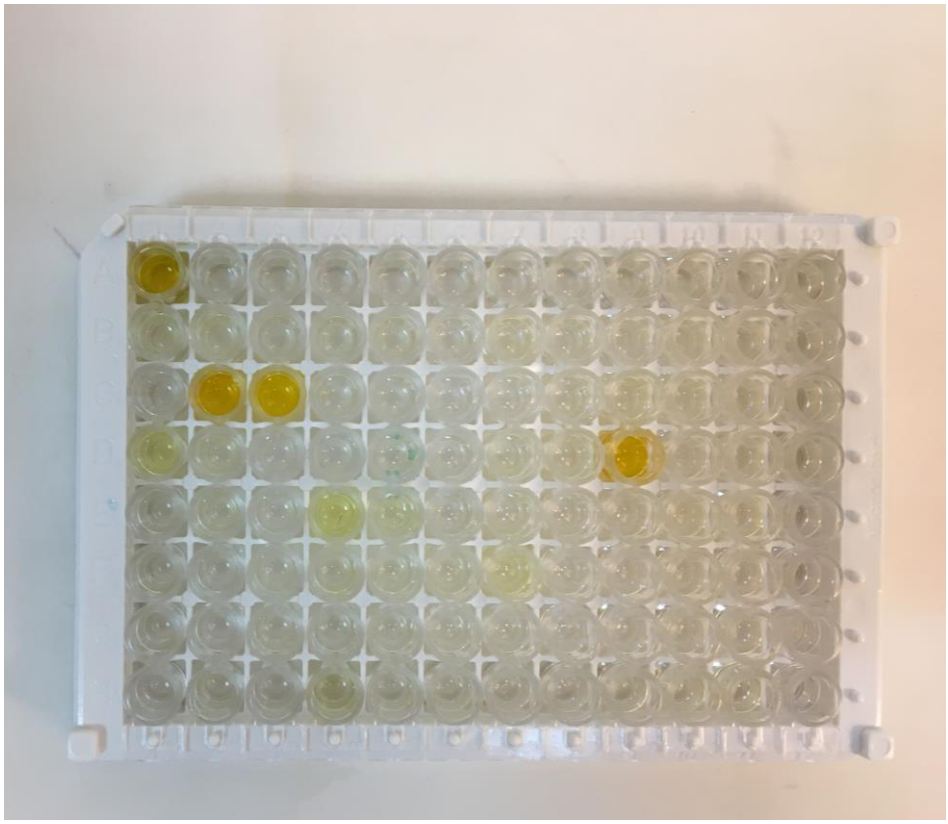
4.3. Dışkıda Norovirüs Antijeni Sonuçları

Çalışmamızda ELISA ile norovirüs pozitif 5 örnek %2,3 (5/213), negatif ise 208 örnek %97,7 (208/213) bulunmuştur (Tablo 4.3). ELISA ile erkek hastaların 2'sinde kadın hastaların 3'ünde norovirüs saptanmış ancak cinsiyet açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Yaş gruplarına göre ELISA pozitifliği yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı.

Tablo 4.3. Yaş gruplarına göre Norovirüs ELISA sonuçlarının dağılımı

Yaş	Norovirüs (+) pozitif	Norovirüs (-) negatif	Toplam
0-3	4	141	145
>3-5	-	24	24
>5- <18	1	43	44
Toplam	5	208	213

Norovirüs pozitiflerin aylara göre dağılımında Aralık ayında 4, Ocak ayında 1, olmak üzere 5 örnekte norovirüs pozitif bulunmuştur (Şekil 4.1.).



Resim 4.2. Norovirüs çalışmasında görülen pozitif ve negatif örnekler

Araştırmamızda kullanılan ELISA kitlerinin kullanım kılavuzlarında, sonuçların doğru ve güvenli olabilmesi için 450 nm'de negatif kontrolün optik yoğunluk değerinin (OD) 0,2'den daha düşük ve pozitif kontrolün OD değerinin 0,8'den daha büyük olması gerektiği belirtilmiştir. Çalışmamızda her bir virüs için ilgili değerlerin yukarıda belirtilen sınırlar içerisinde olduğu görülmektedir (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. ELISA mikroplaka okuyucuda gaita örnekleri için okunan pozitif hastaların Optik yoğunluk (OD) değerleri*

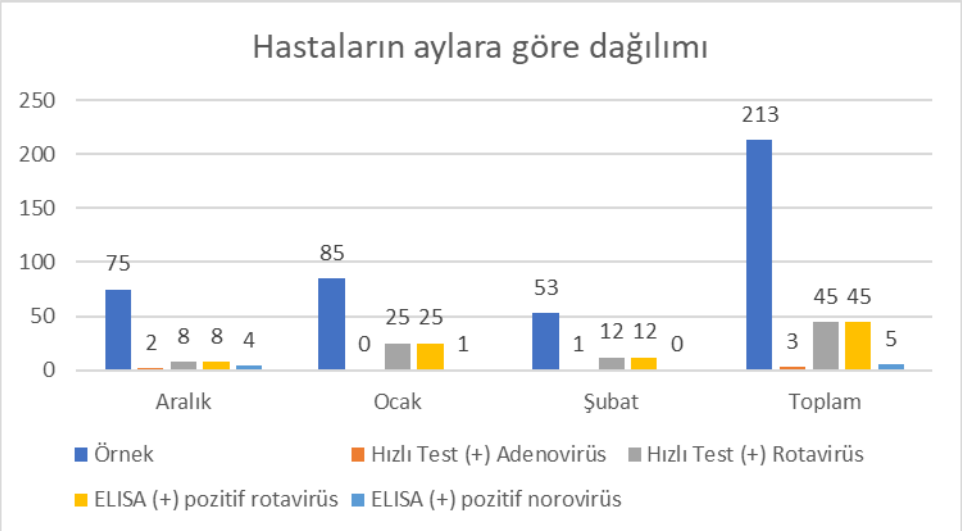
Sıra	Çalışılan Hastalar	Rotavirüs (Gaita)	Norovirüs (Gaita)
	Pozitif Kontrol	24986	31161
	Negatif Kontrol	0,0698	0.0413
1	Hasta 1	2,4911**	0,0117
2	Hasta 2	2,8341**	0,0131
3	Hasta 3	0,0638	NoCalc**
4	Hasta 4	3,1026**	0,0375
5	Hasta 5	0,0879	3,6804**
6	Hasta 6	0,076	0,2565**
7	Hasta 7	1,8181**	0,0068
8	Hasta 8	2,8997**	0,0319
9	Hasta 9	2,9545**	0,0134
10	Hasta 10	2,2562**	0,096
11	Hasta 11	2,8122**	0,0121
12	Hasta 12	0,056	NoCalc**
13	Hasta 13	3,2793**	0,0079
14	Hasta 14	3,1504**	0,0259
15	Hasta 15	3,0068**	0,0047
16	Hasta 16	3,25**	0,0139
17	Hasta 17	2,6814**	0,0129
18	Hasta 18	3,4468**	0,0291
19	Hasta 19	3,0584**	0,019
20	Hasta 20	3,7362**	0,0558
21	Hasta 21	3,1736**	0,0029
22	Hasta 22	2,831**	0,0094
23	Hasta 23	1,3935**	0,0058
24	Hasta 24	2,4516**	0,0083
25	Hasta 25	1,397**	0,0158
26	Hasta 26	2,6098**	0,0198
27	Hasta 27	2,9759**	0,0202
28	Hasta 28	1,5007**	0,0204
29	Hasta 29	2,9127**	0,0109
30	Hasta 30	3,3892**	0,0166
31	Hasta 31	2,7084**	0,0072
32	Hasta 32	2,8574**	0,0108
33	Hasta 33	2,8731**	0,0086
34	Hasta 34	1,7169**	0,0178

Tablo 4.4. ELISA mikroplaka okuyucuda gaita örnekleri için okunan pozitif hastaların Optik yoğunluk (OD) değerleri*

Sıra	Çalışılan Hastalar	Rotavirüs (Gaita)	Norovirüs (Gaita)
35	Hasta 35	3,5785**	0,0051
36	Hasta 36	3,6082**	0,0141
37	Hasta 37	NoCalc**	0,0154
38	Hasta 38	2,6217**	0,0164
39	Hasta 39	0,0946	0,8809**
40	Hasta 40	3,3195**	0,0303
41	Hasta 41	3,2833**	0,0106
42	Hasta 42	3,0541**	0,0204
43	Hasta 43	NoCalc**	0,0207
44	Hasta 44	2,7707**	0,0029
45	Hasta 45	2,8237**	0,0076
46	Hasta 46	2,9547**	0,004
47	Hasta 47	2,8377**	0,0051
48	Hasta 48	3,0963**	0,0032
49	Hasta 49	2,2087**	0,0033
50	Hasta 50	1,482**	0,0285

**: pozitif sonuç

Şekil 4.1. Hastaların aylara göre dağılımı grafiği



Tablo 4.5. Rotavirüs, Norovirüs sonuçlarının karşılaştırılması

	Pozitif n (%)	**Negatif n (%)**	**Toplam**
Norovirüs	5 (2,3)	208 (97,7)	213
Rotavirüs	45 (21)	168 (79)	213

Yukarıdaki tabloda görülen viral gastroenterit etkenleri incelendiğinde Rotavirüs etkeni Norovirüs'ten daha yüksek oranda görülmüştür.

Çalışmamızda aynı örnekte Rotavirüs ve Norovirüs'ün bulunduğu mikst enfeksiyon bulunmamıştır. Aşağıdaki tabloda norovirüs pozitif hastaların klinik bilgileri yer almaktadır.

Tablo 4.6. Norovirüs pozitif hastalara ait klinik bilgiler

	Norovirüs + Hasta 1	**Norovirüs + Hasta 2**	**Norovirüs + Hasta 3**	**Norovirüs + Hasta 4**	**Norovirüs + Hasta 5**
Yaş	3	1	2	2	9
Karın ağrısı	Var	Yok	Yok	Yok	Var
İshal	Gaita yumuşak	Gaita yumuşak	Yeşil renkte ishal	Kötü kokulu ishal	Gaita yumuşak
Ateş	36,4	37,2	39	-	-
Bulantı-Kusma	Yok	Var	Var	Var	Yok

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Gelişmekte olan ülkelerde viral gastroenteritler her yıl bir milyar olgu ve 4-6 milyon ölüme yol açmaktadır (197). Dünya genelinde 1,8 milyon üzerinde beş yaş altı gastroenteritlerden öldüğü ifade edilmektedir (196). Gastroenterite yol açan başlıca virüsler; Rotavirüs, Calicivirüsler (Norovirüs ve Sapovirüs), Enterik Adenovirüsler, Astrovirüsler'dir. Tanı amacıyla rutin klinik mikrobiyoloji laboratuvarları sıklıkla bunlardan Rotavirüsleri ve Enterik adenovirüsleri çalışmaktadır. Biz de Marmara Üniversitesi Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarında rutin olarak Rotavirüs ve Adenovirüs antijenini immunkromatografik yöntemlerle çalışmaktayız. Norovirüs Antijeni saptamaya yönelik testler ise rutin laboratuvarımız da çalışılmamaktadır.

Dünya genelinde görülen ciddi çocukluk çağı diyarelerinin yaklaşık %39'unun nedeni olan rotavirüsler her yıl yaklaşık 800.000 ölüme yok açmaktadır (190, 191). Çalışmamızda Rotavirüs antijeni pozitifliği %21 olarak saptanmıştır. Bu oran kullandığımız Elisa yöntemi ve rutin de kullanılan immunkromatografik yöntemle aynı çıkmıştır. Dolayısıyla rutin klinik laboratuvarda kullanılan immunkromatografik yöntemle sonuçlar Elisa sonuçları ile aynı saptanmıştır. Atalay vd. (2013), Ocak 2009-Aralık 2012 tarihleri arasında akut ishal şikâyeti ile başvuran 0-16 yaş arası çocuklara (1102 kız ve 1534 erkek çocuk) ait 2636 taze gaita örneğinde rotavirüs antijeni varlığını araştırmışlardır. Araştırmacılar örneklerin 277'si (%25,1) kız çocuklarına ve 386'sı (%25,2) erkek çocuklarına ait olmak üzere toplam 663'ünde (%25,2) rotavirüs antijeni pozitifliği saptamışlardır (192). Özdemir vd. (2013), Ağustos 2011-Şubat 2012 tarihleri arasında karın ağrısı, ishal ve kusma şikâyeti olan hastalardan alınan 300 gaita örneğinde rotavirüs varlığını immunokromotografik yöntem ile araştırmışlardır. Örneklerin 52'sinde (%17,3) rotavirüs belirlenmiştir (194). Nazik vd. (2006),2006-2010 yılları arasında rotavirüs antijeni araştırılması için laboratuvara gönderilen akut gastroenterit ön tanılı çocuklardan alınan 3618 gaita örneğinde rotavirüs antijenini immunokromatografik yöntem ile araştırmışlar ve örneklerin 745'inde (%20,6) rotavirüs antijeni saptamışlardır (195). Bütün bu çalışmalar da bizim çalışmamıza benzer oranlarda pozitiflik yakalanmıştır.

Norovirüs gastroenteritleri gelişmiş ve gelişmekte olan her ülkede ve her yaş insanda görülmektedir ve çoğunlukla epidemik daha az olarak da sporadiktir. Çalışmalarda Norovirüs poztifliği ortalama %12 oranında bulunmuştur. Bizim çalışmamızda Aralık

2017 – Şubat 2018 tarihlerinde ELISA yöntemiyle norovirüs antijeni sıklığını %2,1 olarak saptadık. Norovirüs pozitif saptadığımız hastaların dördü 5 yaş altında, biri ise 9 yaşındaydı. Bu hastaların 3'ünde, kötü kokulu ishal şikâyetine, karın ağrısı ve kusma eşlik ediyordu.

Ülkemizde, Norovirüs antijeni klinik laboratuvarlarda rutin olarak çalışılmamaktadır. Ayrıca ülkemizde ishallerde NoV sıklığı konusunda yapılmış fazla çalışma yoktur. Ülkemizde 1998 yılından bu yana varlığı bilinen Norovirüs'ler 2008 yılında "ilk kez" salgın oluşturmuştur. Sağlık Bakanlığı, 22 Mayıs 2008 tarihinde ilk önce Aksaray'da görülen gastroenterit olgularının "Türkiye'deki ilk Norovirüs salgını olduğunu" resmi olarak açıklamıştır (172).

Çeşitli dönemlerde yapılan çalışmalarda farklı pozitiflik yüzdeleri saptanmıştır. Örneğin; Bakırköy Dr Sadi Konuk Eğitim Araştırma Hastanesi Çocuk Acil Polikliniğine Aralık 2016 – Haziran 2017 tarihleri arasında 0-5 yaş hasta grubuna ELISA yöntemi ile yapılan çalışmada akut gastroenteritli çocuklarda norovirüs sıklığı %6,8 oranında bulunmuştur (187). Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesinde Eylül 2012 – Ağustos 2013 tarihleri arasında ELISA yöntemi ile yapılan bir çalışmada ise akut gastroenteritli çocuklarda norovirüs sıklığı %10,9 oranında bulunmuştur (188).

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bölümünde Ocak-Haziran 2011 tarihleri arasında immünosupresif tedavi gören hastalarda ELISA yöntemi ile yapılan çalışmada hastane kaynaklı akut gastroenteritli hastalarda norovirüs sıklığı %9,6 oranında bulunmuştur (189).

İstanbul Üniversitesi'nde yapılan iki çalışmadan ilkinde Kasım 2002 – Şubat 2004 tarihleri arasında çocuklarda hastane kaynaklı ishallerde PCR yöntemi ile Norovirüs sıklığı %6,9 oranında bulunmuştur (127). Diğer çalışmada ise reverz-transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile erişkinlerde %8, çocuklarda %28 oranında Norovirüs pozitifliği saptanmıştır (129).

Çelik A.Y. vd. Kasım 2011 ve Aralık 2012 yılları arasında ishal atağı ile pediatri polikliniğine ayaktan başvuran 96 hastanın gaita örnekleri ile norovirüs antijenini immunokromatografik yöntem ile araştırmışlar ve örneklerin %5,2'sinde norovirüs antijeni saptamışlardır (199).

Bu çalışmalarda Norovirüs tanımlanması için birçok alternatif yöntem kullanılmıştır (37, 140).

Norovirüs ile ilgili yurtdışında yapılan çalışmada; Levidiotou S. ve ark. Yunanistan'da 2000-2006 yılları arasında hastanede yatan beş yaş altı çocuklarda EIA ile norovirüs pozitifliğini %4 oranında bulmuşlardır (198).

Ülkemizdeki diğer çalışmalardan farklı olarak, çalışmamızda ishal şikâyeti ile başvuran çocuklarda Norovirüs ve rotavirüs sıklığı araştırılmıştır ve Norovirüs sıklığı genellikle literatürde belirtilen oranlardan daha düşük sıklıkta saptanmıştır. Bunun nedeni çalışmanın üç ayla sınırlandırılması, ayrıca literatürde yer alan bazı çalışmaların yatan hastalarda ve salgın durumlarında yürütülmesi ve kullanılan yöntemlerin farklılığından dolayı olabilir. Sporadik çalışmalarda salgın durumuna göre norovirüs sıklığının düşük saptanmasının normal olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmaları irdelediğimizde, virüs varlığını saptamak için pekçok farklı tanı yöntemi kullanılabildiğini görmekteyiz. Bu amaçla en çok elektron mikroskobu (EM), RT-PCR ve "in-house" ELISA yöntemlerinden yararlanılmıştır (140, 12). EM yönteminin dışkıda virüsü tespit düzeyi düşük olup (dışkının 1 gramında yaklaşık 10^6 virüs partikülü varlığında iyi sonuç verebilmekte) iyi yetişmiş bir uzman ve donanıma ihtiyaç vardır (12). ELISA ise, çok özel donanım gerektirmeyen, çalışılması kolay bir yöntem olup, başarısı örnekte yeterli ve uygun miktarda Norovirüs antijeninin varlığına bağlıdır (176, 87).

Çalışmamızda gerek Norovirüs gerekse Rotavirüs tanısında gaita örneklerinde antijen tespit etme prensibi ile çalışan ELISA testi kullanılmıştır. Bu test rutin klinik laboratuvarlar için ucuz, hızlı ve basit bir tanı yöntemdir. Norovirüs antijen saptanmasına yönelik Bai ve arkadaşları (162) gerçek zamanlı PCR ile ELISA testini karşılaştırdıkları çalışmada, testin duyarlılığını %90,8, özgüllüğünü %95,5 olarak bulmuşlardır. Sanz ve arkadaşları (152) RT-PCR'yi temel aldıkları çalışmalarında, ELISA antijen kitinin duyarlılık ve özgüllüğünü sırasıyla %80 ve %90; Castriciano ve arkadaşları (34) RT-PCR ve EM'yi referans aldıkları çalışmalarında aynı kitin duyarlılık ve özgüllüğünü sırasıyla %69,2 ve %100 olarak bulmuşlardır.

ELISA testi kullanılarak yapılan 2010 tarihli çalışmada, RT-PCR ile Norovirüs pozitif bulunan 96 gastroenteritli çocuk hastaya ait gaita örnekleri çalışılmış ve ELISA testinin analitik duyarlılığı >%95 olarak bildirilmiştir. Bu testin geniş epidemiyolojik araştırmalar için uygun olduğu ve ticari olarak satılan en duyarlı ELISA yöntemi olduğu

belirtilmiştir (95). ELISA antijen kitinin kullanıldığı çalışmalarda duyarlılık %36-95, özgüllük %65-100 oranları arasında değişmektedir.

Bizim çalışmamızda ELISA ile Rotavirüs pozitifliği %21 iken, Norovirüs %2,3 olarak saptanmıştır. Bunları rutin laboratuvarda çalışılmakta olan Adenovirus pozitifliği %1,3 ile takip etmektedir. Sonuçların yaş gruplarına ve cinsiyete göre değerlendirilmesinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Virüsler zaman zaman birkaç gün içinde kendini sınırlayan gastroenteritlere yol açarken, bazen de ciddi dehidrasyona yol açabilmektedir. Özellikle immunsuprese hastalarda gastroenterit nedenlerinin saptanması daha da büyük önem taşımaktadır. Norovirüse bağlı gastroenteritlerde, diğer gastroenteritlerde olduğu gibi ciddi ekonomik ve iş gücü kayıplarına neden olmaktadır (106). Kısa sürede yayılabilmesi ve hatta salgınlara yol açabilmesi nedeniyle gastroenteritlerin hızlı laboratuvar tanısı önem kazanmaktadır. Viral gastroenteritlerde etkenin saptanması, bulaşın önlenmesi açısından da büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışma ile hastanemiz açısında iki önemli sonuca ulaşılmıştır. Bunlardan biri Rotavirüs antijeni için Marmara Üniversitesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı rutininde çalışılmakta olan hızlı immunkromatografik yöntemin sonuçları ile Elisa yöntemi sonuçları mukayese edildiğinde yöntemin hızlı ve doğru sonuç verdiğini gösterilmiştir. Rutin'de çalışılan rotavirüs sonuçları ile çalışmamızdaki ELISA rotavirüs sonuçları aynı doğrultuda çıkmıştır.

İkinci önemli sonuç ise rutin laboratuvarda çalışmadığımız Norovirüs antijeninin, ikinci sıklıkta gastroenterit etkeni olarak karşımıza çıktığını gördük. Rutin'deki sonuçlara göre aynı dönemde adenovirüs pozitif oranı %1,3'tür. Dolayısıyla norovirüs pozitif oranından nispeten daha düşüktür. Bu durum özellikle 0-5 yaş arası çocuklarda tanı koyamadığımız gastroenteritler açısında büyük önem taşımaktadır.

Özellikle Rotavirüs aşı programlarından sonra Norovirüsün çocukluk çağında akut gastroenteritlerde önemli enterik patojen haline gelebileceği düşünülerek, viral antijen taramasında yer alması gerektiğine inanmaktayız. Bu durum aynı zamanda gereksiz antibiyotik kullanımını engelleyecek, etkene yönelik tedavi verilmesi sağlanacaktır.

6. KAYNAKLAR

1. Adler JL, Zickl R. Winter vomiting disease. J Infect Dis 1969;119:668-673.
2. Ali A, et al. Impact of withholding breastfeeding at the time of vaccination on the immunogenicity of oral rotavirus vaccine-a randomized trial. PLoS ONE. 2015;10:e0145568.
3. Altındiş M, Bányai K, Kalayci R, Gulamber C, Koken R, Yoldas Y, Aykurt P, Martella V. Frequency of Norovirus in stool samples from hospitalized children due to acute gastroenteritis in Anatolia, Turkey, 2006-2007. Scand J Infect Dis 2009;41(9):685-688.
4. Angel J, et al. Correlates of protection for rotavirus vaccines: possible alternative trial endpoints, opportunities, and challenges. Hum Vaccin Immunother. 2014;10:3659–3671.
5. Angel J, et al. Rotavirus immune responses and correlates of protection. Curr Opin Virol. 2012;2:419–425.
6. Ansari SA, et al. Survival and vehicular spread of human rotaviruses: possible relation to seasonality of outbreaks. Rev Infect Dis. 1991;13:448–461.
7. Appleton H, Buckley M, Thom B T, Cotton J L, Henderson S. Virus-like particles in winter vomiting disease. Lancet. 1977;i:409–411.
8. Aras, Z., 2011. Mikrobiyolojide kullanılan hızlı tanı yöntemleri. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 68 (2), 97 – 104.
9. Arias CF, et al. Rotavirus entry: a deep journey into the cell with several exits. J Virol. 2015;89:890–893.
10. Armah GE, et al. Efficacy of pentavalent rotavirus vaccine against severe rotavirus gastroenteritis in infants in developing countries in sub-Saharan Africa: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet. 2010;376:606–614. This is a key study that shows lower efficacy of RV5 vaccine in Asian children relative to previous studies in developed countries and Latin America.
11. Atmar R L, Estes M K. Nonculturable agents of viral gastroenteritis. Clin Microbiol Newsl. 1997;19:177–182.
12. Atmar RL, Estes MK. Diagnosis of Noncultivatable Gastroenteritis Viruses, the Human Caliciviruses. Clin Microbiol Rev 2001;14(1):15-37.
13. Atmar RL, Estes MK. The epidemiologic and clinical importance of norovirus infection. Gastroenterol Clin North Am. 2006;35:275–90.

14. Atmar RL, Opekun AR, Gilger MA, Estes MK, Crawford SE, Neill FH, Graham DY. Norwalk virus shedding after experimental human infection. Emerg Infect Dis. 2008;14:1553–7.
15. Bai XL, Lim SH, Seng EH, Loke WL, Chan KP. Evaluation of two commercial enzyme immunoassays for rapid detection of Norovirus antigen in human stool specimens. 13th International Congress on Infectious Diseases Abstracts. doi:10.1016/j.ijid.2008.05.1340
16. Baker J C. Bovine viral diarrhea virus: a review. J Am Vet Med Assoc. 1987;190:1449–1458.
17. Ball JM, et al. Age-dependent diarrhea induced by a rotaviral nonstructural glycoprotein. Science. 1996;272:101–104. This report identifies NSP4 as the first enterotoxin that induces diarrhoea in mouse pups.
18. Barker, J., Vıpond, I.B., Bloomfield, S.F., (2004). Effects of cleaning and disinfection in reducing the spread of norovirus contamination via environmental surfaces. Journal of Hospital Infection. 58(1):42-49.
19. Bass DM, et al. Molecular basis of age-dependent gastric inactivation of rhesus rotavirus in the mouse. J Clin Invest. 1992;89:1741–1745.
20. Beards G M, Brown D W G, Green J, Flewett T H. Preliminary characterisation of torovirus-like particles of humans: comparison with Berne virus of horses and Breda virus of calves. J Med Virol. 1986;20:67–78.
21. Beards G M, Hall C, Green J, Flewett T H, Lamouliatte F, Du Pasquier P. An enveloped virus in stools of children and adults with gastroenteritis that resembles the Breda virus of calves. Lancet. 1984;i:1050–1052.
22. Becker, K.M., Moe, C.L., Southwıck, K.L., Maccormak, J.N. (2000). Transmission of norwalk virus during a football game. The New England Journal of Medicine. 343(17):1223-1227.
23. Becker-Dreps S, et al. The association between fecal biomarkers of environmental enteropathy and rotavirus vaccine response in Nicaraguan infants. Pediatr Infect Dis J. 2017;36:412–416.
24. Belliot G, Sosnovtsev SV, Mitra T, Hammer C, Garfield M, Green KY. In vitro proteolytic processing of the MD145 norovirus ORF1 nonstructural polyprotein yields

stable precursors and products similar to those detected in calicivirus-infected cells. J Virol. 2003;77:10957–74.

25. Bern C, Glass R I. Impact of diarrheal diseases worldwide. In: Kapikian A Z, editor. Viral infections of the gastrointestinal tract. New York, N.Y: Marcel Dekker, Inc.; 1994. pp. 1–26.

26. Bishop RF, et al. Clinical immunity after neonatal rotavirus infection A prospective longitudinal study in young children. N Engl J Med. 1983;309:72–76.

27. Blacklow N R, Dolin R, Fedson D S, DuPont H, Northrup R S, Hornick R B, Chanock R M. Acute infectious nonbacterial gastroenteritis: etiology and pathogenesis. Ann Intern Med. 1972;76:993–1008.

28. Boyce JM, Pittet D., Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee, Society for Healthcare Epidemiology of America, Association for Professionals in Infection Control, Infectious Diseases Society of America Hand Hygiene Task Force. 2002. Guideline for hand hygiene in health-care settings: recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. Infect Control Hosp Epidemiol 23:S3–S40. doi:10.1086/503164.

29. Bresee JS, Widdowson MA, Monroe SS, Glass RI. Foodborne viral gastroenteritis: challenges and opportunities. Clin Infect Dis. 2002;35:748–53.

30. Bucardo F, et al. Vaccine-derived NSP2 segment in rotaviruses from vaccinated children with gastroenteritis in Nicaragua. Infect Genet Evol. 2012;12:1282–1294.

31. Bull RA, Tu ET, McIver CJ, Rawlinson WD, White PA. Emergence of a new norovirus genotype II.4 variant associated with global outbreaks of gastroenteritis. J Clin Microbiol. 2006;44:327–33.

32. Butz AM, et al. Prevalence of rotavirus on high-risk fomites in day-care facilities. Pediatrics. 1993;92:202–205.

33. Calderon-Margalit R, Sheffer R, Halperin T, Orr N, Cohen D, Shohat T. A large-scale gastroenteritis outbreak associated with Norovirus in nursing homes. Epidemiol Infect. 2005;133:35–40.

34. Castriciano S, Luinstra K, Petrich A, Smieja M, Lee C, Jang D, Portillo E, Chernesky M. Comparison of the RIDASCREEN Norovirus enzyme immunoassay to IDEIA NLV

GI/GII by testing stools also assayed by RT-PCR and electron microscopy. J Virol Methods 2007;141:216-9.

35. Caul E O, Appleton H. The electron microscopical and physical characteristics of small round human fecal viruses: an interim scheme for classification. J Med Virol. 1982;9:257–265.

36. Caul E O, Paver W K, Clarke S K R. Coronavirus particles in faeces from patients with gastroenteritis. Lancet. 1975;i:1192.

37. Centers for Disease Control and Prevention. "Norwalk-like viruses": public health consequences and outbreak management. MMWR 2001; 50:1-17.

38. Chadwick PR, McCann R. Transmission of SRSV by vomiting during a hospital outbreak of gastroenteritis. J Hosp Infect 1994;26:251-259.

39. Chan T. Rotavirus Vaccination Rate Disparities Seen Among Infants with Acute Gastroenteritis (AGE). Public Health Theses, Georgia State University, 2013. http://scholarworks.gsu.edu/iph_theses. 31 Mayıs 2014.

40. Chandra R. Picorbirnavirus, a novel group of undescribed viruses of mammals and birds: a minireview. Acta Virol. 1997;41:59–62.

41. Cheesbrough JS, Barkess-Jones L, Brown DWG. Possible prolonged environmental survival of SRSV. J Hosp Infect 1997;35:325-326.

42. Chen CC, et al. Fecal calprotectin as a correlative marker in clinical severity of infectious diarrhea and usefulness in evaluating bacterial or viral pathogens in children. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2012;55:541–547.

43. Cheung W, et al. Rotaviruses associate with cellular lipid droplet components to replicate in viroplasms, and compounds disrupting or blocking lipid droplets inhibit viroplasm formation and viral replication. J Virol. 2010;84:6782–6798.

44. Chiba S, Sakuma Y, Kogasaka R, Akihara M, Horino K, Nakao T, Fukui S. An outbreak of gastroenteritis associated with calicivirus in an infant home. J Med Virol. 1979;4:249–254.

45. Chiba S, Sakuma Y, Kogasaka R, Akihara M, Terashima H, Horino K, Nakao T. Fecal shedding of virus in relation to the days of illness in infantile gastroenteritis due to calicivirus. J Infect Dis. 1980;142:247–249.

46. Chilengi R, et al. Association of maternal immunity with rotavirus vaccine immunogenicity in Zambian infants. PLoS ONE. 2016;11:e0150100.

47. Cubitt W D, McSwiggan D A, Arstall S. An outbreak of calicivirus infection in a mother and baby unit. J Clin Pathol. 1980;33:1095–1098.
48. Cubitt W D, McSwiggan D A, Moore W. Winter vomiting disease caused by calicivirus. J Clin Pathol. 1979;32:786–793.
49. Curns AT, Steiner CA, Barrett M, Hunter K, Wilson E, Parashar UD. Reduction in acute gastroenteritis hospitalizations among US children after introduction of rotavirus vaccine: analysis of hospital discharge data from 18 US states. J Infect Dis. 2010;201:1617–24.
50. Çiftdoğan DY, Vardar F. Enfeksiyon hastalıklarında hızlı tanı testleri. Çocuk Sağlığı ve Hasalıkları Dergisi, 2009, 52:159-166.
51. Desselberger U, Huppertz HI. Immune responses to rotavirus infection and vaccination and associated correlates of protection. J Infect Dis. 2011;203:188–195.
52. Dingle K E, Lambden P R, Caul E O, Clarke I N. Human enteric Caliciviridae: the complete genome sequence and expression of virus-like particles from a genetic group II small round structured virus. J Gen Virol. 1995;76:2349–2355.
53. Dolin R, Blacklow N R, DuPont H, Buscho R F, Wyatt R G, Kasel J A, Hornick R, Chanock R M. Biological properties of Norwalk agent of acute infectious nonbacterial gastroenteritis. Proc Soc Exp Biol Med. 1972;140:578–583.
54. Dolin R, Blacklow N R, DuPont H, Formal S, Buscho R F, Kasel J A, Chames R P, Hornick R, Chanock R M. Transmission of acute infectious nonbacterial gastroenteritis to volunteers by oral aministration of stool filtrates. J Infect Dis. 1971;123:307–312.
55. Dolin R, Reichman R C, Roessner K D, Tralka T S, Schooley R T, Gary W, Morens D. Detection by immune electron microscopy of the Snow Mountain agent of acute viral gastroenteritis. J Infect Dis. 1982;146:184–189.
56. Dolin R, Treanor J J, Madore H P. Novel agents of viral enteritis in humans. J Infect Dis. 1987;155:365–376.
57. Dolin R. Noroviruses -- challenges to control. N Engl J Med. 2007;357:1072–3.
58. Dormitzer PR. Rotaviruses. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 7th ed, Philadelphia, Elsevier Inc, 2010:2105-2116.
59. Doyle L P, Hutchings L M. A transmissible gastroenteritis in pigs. J Am Vet Med Assoc. 1946;108:257–259.

60. Echeverria P, et al. Rotavirus as a cause of severe gastroenteritis in adults. J Clin Microbiol. 1983;18:663–667.
61. Emperador DM, et al. Interference of monovalent, bivalent, and trivalent oral poliovirus vaccines on monovalent rotavirus vaccine immunogenicity in rural Bangladesh. Clin Infect Dis. 2016;62:150–156.
62. Estes MK, Greenberg HB. In: Alan Virolojisi. Knipe DM, Howley PM, editörler. Lippincott: Williams & Wilkins; 2013. s. 1347–1401.
63. Eyquem, F, 2016. Roundup Ready® Soyanın ELISA ile Nicel Saptanması. http://gmocrl. jrc.ec.europa.eu/capacitybuilding/manuals/Manual%20TR/bolum12.pdf (Erişim Tarihi: 18.03.2016).
64. Fankhauser, R.L., Monroe, S.S., Noel, J.S., Humphrey, C.D., Bresee, J.S., Parashar, U.D., Ando, T., Glass, R,I., (2002). Epidemiologic and molecular trends of 'Norwalk-like Viruses' associated with outhbreaks of gastroenteritis in the United States. The Journal of Infectious Diseases 186:1-7.
65. Flewett T H, Davies H. Letter: caliciviruses in man. Lancet. 1976;i:311.
66. Franco MA, et al. Immunity and correlates of protection for rotavirus vaccines. Vaccine. 2006;24:2718–2731.
67. Gendrel D, Raymond J, Coste J , Moulin F, Lorrot M, Guérin S, Ravilly S, Lefèvre H, Royer C, Lacombe C, Palmer P, Bohuon C. Comparison of procalcitonin with C-reactive protein, interleukin 6 and interferon-alpha for differentiation of bacterial vs. viral infections. Pediatr Infect Dis J 1999;18:875-881.
68. Glass IR, Noel J, Ando T, Fankhauser R, Belliot G, Mounts A, Parashar UD, Bresee JS, Monroe SS. The epidemiology of enteric Caliciviruses from humans: a reassessment using new diagnostics. J Infect Dis 2000;181(1):254-261.
69. Glass RI, et al. The epidemiology of rotavirus diarrhea in the United States: surveillance and estimates of disease burden. J Infect Dis. 1996;174(Suppl. 1):S5–S11.
70. Glass, R., (2013). Beyond discovering the viral agents of acute gastroenteritis. Emerg Infectious Diseases. 19(8):1190-1191.
71. Gordon L, Ingraham H S, Korns R F. Transmission of epidemic gastroenteritis to human volunteers by oral administration of fecal filtrates. J Exp Med. 1947;86:409–422.

72. Graham DY, Jiang X, Tanaka T, Opekun AR, Madore HP, Estes MK. Norwalk virus infection of volunteers: new insights based on improved assays. J Infect Dis. 1994;170:34–43.
73. Green K Y, Ando T, Balayan M S, Clarke I N, Estes M K, Matson D O, Nakata S, Neill J D, Studdert M J, Thiel H-J. Caliciviridae. In: van Regenmortel M, Fauquet C M, Bishop D H L, Carsten E, Estes M K, Lemon S M, Maniloff J, Mayo M, McGeoch D, Pringle C R, Wickner R, editors. Virus taxonomy: 7th report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Orlando, Fla: Academic Press; 2000. pp. 725–735.
74. Greenberg H B, Valdesuso J R, Kalica A R, Wyatt R G, McAuliffe V J, Kapikian A Z, Chanock R M. Proteins of Norwalk virus. J Virol. 1981;37:994–999.
75. Grohman G S, Glass R I, Pereira H G, Monroe S S, Hightower A W, Weber R, Bryan R T. Enteric virus and diarrhea in HIV-infected patients. Enteric Opportunistic Infections Working Group. N Engl J Med. 1993;329:14–20.
76. Guerrant R L, Hughes J M, Lima N L, Crane J. Diarrhea in developed and developing countries: magnitude, special settings, and etiologies. Rev Infect Dis. 1990;12:S41–S50.
77. Gurwith M, et al. A prospective study of rotavirus infection in infants and young children. J Infect Dis. 1981;144:218–224.
78. Hagbom M, et al. Rotavirus stimulates release of serotonin (5-HT) from human enterochromaffin cells and activates brain structures involved in nausea and vomiting. PLoS Pathog. 2011;7:e1002115. This report shows that rotavirus can stimulate 5-HT release from human enterochromaffin cells and activate the vomiting centre in the central nervous system.
79. Hall, A.J., Vınje, J., Lopman, B., Park, G.W., Yen, C., Gregoricus, N., Parashar, U., (2011). Updated norovirus outbreak management end disease prevention guideline. Morbidity and Mortality Weekly Report 60:3.
80. Hardy M E, Estes M K. Completion of the Norwalk virus genome sequence. Virus Genes. 1996;12:289–292.
81. Hemming M, Vesikari T. Detection of rotateq vaccine-derived, double-reassortant rotavirus in a 7-year-old child with acute gastroenteritis. Pediatr Infect Dis J. 2014;33:655–656.

82. Henke-Gendo C, Harste G, Juergens-Saathoff B, Mattner F, Deppe H, Heim A. New real-Time PCR detects prolonged Norovirus excretion in highly immunosuppressed patients and children. J Clin Microbiol 2009;47:2855-2862.
83. http://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/103052/
84. Jiang B, et al. Cytokines as mediators for or effectors against rotavirus disease in children. Clin Diagn Lab Immunol. 2003;10:995–1001.
85. Jiang X, Graham D Y, Wang K N, Estes M K. Norwalk virus genome cloning and characterization. Science. 1990;250:1580–1583.
86. Jiang X, Wang M, Wang K, Estes M K. Sequence and genomic organization of Norwalk virus. Virology. 1993;195:51–61.
87. Jones PW. Norovirus and sapovirus. In: Percival S, Chalmers R, Embrey M, Hunter P, Sellwood J (Editors). In Microbiology of Waterborne Diseases. California; Elsevier Academic Pres, pp.433-441, 2004.
88. Kapikian A Z, Gerin J L, Wyatt R G, Thornhill T S, Chanock R M. Density in cesium chloride of the 27-nm "8FIIa" particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis: determination by ultracentrifugation and immune electron microscopy. Proc Soc Exp Biol Med. 1973;142:874–877.
89. Kapikian A Z, Wyatt R G, Dolin R, Thornhill T S, Kalica A R, Chanock R M. Visualization by immune electron microscopy of a 27 nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastorenteritis. J Virol. 1972;10:1075–1081.
90. Kapikian A Z. Viral gastroenteritis. In: Evans A S, Kaslow R A, editors. Viral infections of humans: epidemiology and control. New York, N.Y: Plenum Medical Book Company; 1997. pp. 285–343.
91. Kapikian, A.Z., 2000. The discovery of the 27-nm Norwalk virüs: An histaric perspective. The Journal of Infectious Diseases, 181, 295-302.
92. Kilgore P E, Glass R I. Gastrointestinal syndromes. In: Richman D D, Whitley R J, Hayden F G, editors. Clinical virology. New York, N.Y: Churchill Livingstone Inc.; 1997. pp. 55–67.
93. Kilgore PE, et al. Neonatal rotavirus infection in Bangladesh: strain characterization and risk factors for nosocomial infection. Pediatr Infect Dis J. 1996;15:672–677.
94. Kiraz, N., Samastı, M., Aygün, G., (2011). Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ders Kitabı Cilt II. s.:1219-1223.

95. Kirby A, Gurgel RQ, Dove W, Vieira SC, Cunliffe NA, Cuevas LE. An evaluation of the RIDASCREEN and IDEIA enzyme immunoassays and the RIDAQUICK immunochromatographic test for the detection of norovirus in faecal specimens. J Clin Virol 2010 Dec;49(4):254-7.
96. Kirkpatrick BD, et al. The "Performance of Rotavirus and Oral Polio Vaccines in Developing Countries" (PROVIDE) study: description of methods of an interventional study designed to explore complex biologic problems. Am J Trop Med Hyg. 2015;92:744–751.
97. Koo HL, Ajami NJ, Jiang ZD, DuPont HL, Atmar RL, Lewis D, Byers P, Abraham P, Quijano RA, Musher DM, Young EJ. A nosocomial outbreak of norovirus infection masquerading as clostridium difficile infection. Clin Infect Dis. 2009b;48:e75–7.
98. Lambden P R, Caul E O, Ashley C R, Clarke I N. Sequence and genome organization of a human small round-structured (Norwalk-like) virus. Science. 1993;259:516–519.
99. Lambden P R, Liu B L, Clarke I N. A conserved sequence motif at the 5′ terminus of the Southampton virus genome is characteristic of the Caliciviridae. Virus Genes. 1995;10:149–152.
100. Leshem E, et al. Rotavirus vaccines and health care utilization for diarrhea in the United States (2007–2011) Pediatrics. 2014;134:15–23.
101. Lindesmith L, Moe C, Lependu J, Frelinger JA, Treanor J, Baric RS. Cellular and humoral immunity following Snow Mountain virus challenge. J Virol. 2005;79:2900–9.
102. Lindesmith LC, Donaldson EF, Lobue AD, Cannon JL, Zheng DP, Vinje J, Baric RS. Mechanisms of GII.4 norovirus persistence in human populations. PLoS Med. 2008;5:e31.
103. Liu B L, Clarke I N, Caul E O, Lambden P R. Human enteric caliciviruses have a unique genome structure and are distinct from the Norwalk-like viruses. Arch Virol. 1995;140:1345–1356.
104. Liu B, Clarke I N, Caul E O, Lambden P R. The genomic 5′ terminus of Manchester calicivirus. Virus Genes. 1997;15:25–28.
105. Lopez S, Arias CF. Multistep entry of rotavirus into cells: a Versaillesque dance. Trends Microbiol. 2004;12:271–278.

106. Lopman BA, Reacher MH, Vipond IB, Hill D, Perry C, Halladay T, Brown DW, Edmunds WJ, Sarangi J. Epidemiology and cost of nosocomial gastroenteritis, Avon, England, 2002-2003. Emerg Infect Dis 2004;10:1827-34.

107. Lopman, B.A., Reacher, M.H., Vıpond, I.B., Sarangı, J., Brown, D.W.G., (2004). Clinical manifestation of norovirus gastroenteritis in health care setting. Clinical Infectious Diseases 39:318-324.

108. Ludert J E, Liprandi F. Identification of viruses with bi- and trisegmented double-stranded RNA genome in faeces of children with gastroenteritis. Res Virol. 1993;144:219–224.

109. Ludwig A, Adams O, Laws HJ, Schroten H, Tenenbaum T. Quantitative detection of norovirus excretion in pediatric patients with cancer and prolonged gastroenteritis and shedding of norovirus. J Med Virol 2008;80:1461-1467.

110. Lundgren O, Svensson L. Pathogenesis of rotavirus diarrhea. Microbes Infect. 2001;3:1145–1156.

111. Madeley C R, Cosgrove B P. Letter: caliciviruses in man. Lancet. 1976;i:199–200.

112. Madeley C R. Comparison of the features of astroviruses and caliciviruses seen in samples of feces by electron microscopy. J Infect Dis. 1979;139:519–523.

113. Marks PJ, Vipond IB, Carlisle D, Deakin D, Fey RE, Caul EO. Evidence for airborne transmission of Norwalk-like virus (NLV) in a hotel restaurant. Epidemiol Infect. 2000;124:481–7.

114. Marshall JA, Bruggink LD. Laboratory diagnosis of Norovirus. Clin. Lab. 2006;52(11-12):571-581.

115. Matthijnssens J, Ciarlet M, Rahman M, Attoui H, Bányai K, Estes MK, Gentsch JR, Iturriza-Gómara M, Kirkwood CD, Martella V, Mertens PP, Nakagomi O, Patton JT, Ruggeri FM, Saif LJ, Santos N, Steyer A, Taniguchi K, Desselberger U, Van Ranst M. Recommendations for the classification of group A rotaviruses using all 11 genomic RNA segments. Archives of Virology, 2008, 153:1621-1629.

116. Mattner F, Sohr D, Heim A, Gastmeier P, Vennema H, Koopmans M. Risk groups for clinical complications of norovirus infections: an outbreak investigation. Clin Microbiol Infect 2006;12:69-76.

117. McSwiggan D A, Cubitt D, Moore W. Calicivirus associated with winter vomiting disease. Lancet. 1978;i:1215.

118. Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Tauxe RV. Food-related illness and death in the United States. Emerg Infect Dis. 1999;5:607–25.

119. Medıcı, C.M., Martınellı, M., Arcangelettı, M.C., Pınardı, F., Conto, F.D., Dodı, I., Vırdıs, R., Abellı, L.A., Aloısı, A., Zerbını, L., Valcavı, P., Calderaro, A., Bernasconı, S., Izzı, G.C., Dettorı, G., Chezzı, C., (2004). Epidemiological aspects of human rotavirus infection in children hospitalized with acute gastroenteritis in an area of northern Italy. Acta Bio Medica Ateneo Parmense. 75:100-106.

120. Moreno-Espınosa, S., Farkas, T., Jıang, X., (2004). Human caliciviruses and pediatric gastroenteritis. Pediatric Infectious Diseases. 15:237- 245.

121. Morris AP, Estes MK. Microbes and microbial toxins: paradigms for microbial-mucosal interactions. VIII Pathological consequences of rotavirus infection and its enterotoxin. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2001;281:G303–G310.

122. Moshe S. Is Norovirus a Foodborne or Pandemic Pathogen? An Analysis of the Transmission of Norovirus-Associated Gastroenteritis and the Roles of Food and Food Handlers Dreyfuss. Foodborne Path Dis 2009;10:(6):1219-1228.

123. Moyo, S,J., Gro, N., Kırstı, V., Matee, M,I., Kıtundu, J., Maselle, S,Y., Langeland, N., Myrmel, H., (2007). Prevalence of enteropathogenic viruses and molecular characterization of group A rotavirus among children with diarrhea in Dar es Salaam Tanzania. BMC Public Health. 7:359.

124. Nakajima H, et al. Winter seasonality and rotavirus diarrhoea in adults. Lancet. 2001;357:1950.

125. National Communicable Disease Center (NCDC). Foodborne outbreaks: status report for 1967. Department of Health, Education, and Welfare, Public Health Service, Atlanta, Georgia 1967.

126. Oldak, E., Sulık, A., Rozkıewıcz, D., Lıwoch,Nıenatowıcz, N., Zawadzka, E., (2009). Norovirus and rotavirus - two major causative agents of sporadic viral gastroenteritis in hospitalized polish children. Advances in Medical Sciences. 54(2):183-186.

127. Özdamar, M., (2004). Pediyatrik nozokomiyal ishallerde viral etkenlerin saptanması. Tıpta Uzmanlık Tezi. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi.

128. Özdemir, S., Delialioğlu, Nuran., Emekdaş, Gürol., (2010). Akut gastroenteritli çoçuklarda rotavirus, adenovirus ve astrovirus sıklığının araştırılması ve epidemiyolojik özelliklerinin değerlendirilmesi. Mikrobiyoloji Bülteni 44:571-578.

129. Özkaya AA. Bakteriyel olmayan sporadik ishal olgularında kalisivirüs sıklığının RT-PCR (Reverse Transcriptase-Polymerase Chain reaction) ile araştırılması, Uzmanlık Tezi, İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, 2004.

130. Öztürk R. Norovirüs infeksiyonları.www.ekmud.org/tr

131. Öztürk, F., 2002. Genel Viroloji. Selçuk Üniversitesi, Konya, s: 4-15.

132. Öztürk, R., Norovirüs Ve Diğer Calicivirüsler. Enfeksiyon Hastalıkları Ve Mikrobiyolojisi. Wilke, A., Söyletir, G., Doğanay, M. (2008). 3. Baskı. Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri. s.:1832-1837.

133. Parashar UD, et al. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. Emerg Infect Dis. 2003;9:565–572.

134. Patel MM, et al. Fulfilling the promise of rotavirus vaccines: how far have we come since licensure? Lancet Infect Dis. 2012;12:561–570.

135. Patel MM, et al. Global seasonality of rotavirus disease. Pediatr Infect Dis J. 2013;32:e134–e147.

136. Patel NC, et al. Vaccine-acquired rotavirus in infants with severe combined immunodeficiency. N Engl J Med. 2010;362:314–319.

137. Payne DC, et al. Active, population-based surveillance for severe rotavirus gastroenteritis in children in the United States. Pediatrics. 2008;122:1235–1243.

138. Prasad B V V, Rothnagel R, Jiang X, Estes M K. Three-dimensional structure of baculovirus-expressed Norwalk virus capsids. J Virol. 1994;68:5117–5125.

139. Prasad B V, Hardy M E, Dokland T, Bella J, Rossmann M G, Estes M K. X-ray crystallographic structure of the Norwalk virus capsid. Science. 1999;286:287–290.

140. Rabenau HF, Stürmer M, Buxbaum S, Walczok A, Preiser W, Doerr HW. Laboratory diagnosis of Norovirus: which method is the best? Intervirology 2003;46:232-238.

141. Ramachandran M, et al. Unusual diversity of human rotavirus G and P genotypes in India. J Clin Microbiol. 1996;34:436–439.

142. Ramirez S, Giammanco GM, De Grazia S, Colomba C, Martella V, Arista S. Genotyping of GII.4 and GIIb Norovirus RT-PCR amplicons by RFLP analysis. J Virol Methods 2008;147(2):250-256.

143. Raul VF, et al. Cohort study of rotavirus serotype patterns in symptomatic and asymptomatic infections in Mexican children. Pediatr Infect Dis J. 1993;12:54–61.

144. Reimann H A, Price A H, Hodges J H. The cause of epidemic diarrhea, nausea and vomiting (viral dysentery?) Proc Soc Exp Biol Med. 1945;59:8–9.

145. Rıchards, A,F., Lopman, B., Gunn, A., Curry, A., Ellıs, D., Cotterıll, H., Ratclıffe, S., Jenkıns, M., Appleton, H., Gallımore, C,I., Gray, J,J., Brown, D,W,G., (2003). Evaluation of a commercial ELISA for detecting norwalk-like virus antigen in faeces. Journal of Clinical Virology. 26(1):109-115.

146. Rockx, B., Wit, M., Vennema, H., Vınje, J., Bruın, E., Duynhoven, Y., (2002). Natural history of human calicicirus infection: a prospective cohort study. Clinical Infectious Diseases 35:246-53.

147. Rosen B I, Saif L J, Jackwood D J, Gorziglia M. Serotypic differentiation of group A rotaviruses with porcine rotavirus gene 9 probes. J Clin Microbiol. 1990;28:2526–2533.

148. Saıd, M.A., Perl, T.M., Sears, C.L., (2008). Gastrointestinal flu: norovirus in health care and long-term care facilities. Clinical Infectious Diseases 47:1202-8

149. Said MA, Perl TM, Sears CL. Gastrointestinal Flu: Norovirus in Health Care and Long-Term Care Facilities. Clin Infect Dis 2008;47:1202-1208.

150. Sakamakı, N., Ohıro, Y., Ito, M., Makınodan, M., Ohta, T., Suzukı, W., Takayasu, S., Tsuge, H., (2012). Bioluminescent enzyme immunoassay for the detection of norovirus capsid antijen. Clinical and Vaccine Immunology. 19(12):1949-1954.

151. Sandy A. Craig and David K.Zich. Marx Rosen's Emergency Medicine, In:Adams J, Marx J,Rosen P,Hockberger R,Walls R. Concepts and clinical practise 7th ed.; 2009:1200-1215

152. Sanz JC, Revilla A, Fernández M, Herranz N, Moreno S, Sánchez-Fauquier A. Assessment of two methods of antigenic detection by ELISA for the diagnosis of Norovirus outbreaks. Enferm Infecc Microbiol Clin 2006;24:564-567.

153. Sawyer LA, Murphy JJ, Kaplan JE, Pinsky PF, Chacon D, Walmsley S, Schonberger LB, Phillips A, Forward K, Goldman C, et al. 25- to 30-nm virus particle associated with a hospital outbreak of acute gastroenteritis with evidence for airborne transmission. Am J Epidemiol. 1988;127:1261–71.

154. Schmid M, Oehme R, Schalasta G, Brockmann S, Kimmig P, Enders G. Fast detection of Noroviruses using a real-time PCR assay and automated sample preparation. BMC Infect Dis 2004;4:15.

155. Seah E L, Marshall J A, Wright P J. Open reading frame 1 of the Norwalk-like virus Camberwell: completion of sequence and expression in mammalian cells. J Virol. 1999;73:10531–10535.

156. Shieh Y, Monroe SS, Fankhauser RL, Langlois GW, Burkhardt W, Baric RS. Detection of norwalk-like virus in shellfish implicated in illness. J Infect Dis 2000;181(2):360-366.

157. Siebenga JJ, Vennema H, Renckens B, de Bruin E, van der Veer B, Siezen RJ, Koopmans M. Epochal evolution of GGII.4 norovirus capsid proteins from 1995 to 2006. J Virol. 2007;81:9932–41.

158. Siebenga JJ, Vennema H, Zheng DP, Vinje J, Lee BE, Pang XL, Ho EC, Lim W, Choudekar A, Broor S, Halperin T, Rasool NB, Hewitt J, Greening GE, Jin M, Duan ZJ, Lucero Y, O'Ryan M, Hoehne M, Schreier E, et al. Norovirus illness is a global problem: emergence and spread of norovirus GII.4 variants, 2001–2007. J Infect Dis. 2009;200:802–12.

159. Snyder J D, Merson M H. The magnitude of the global problem of acute diarrhoeal disease: a review of active surveillance data. Bull WHO. 1982;60:605–613.

160. Souza, M., Cheetham, S,M., Azevedo, M,S,P., Costantını, V., Saıf, L,J., (2007). Cytokine and antibody response in gnobtobiotic pigs after infection with human norovirus genogroup II.4 (HS66 strain). Journal of Virology. 81(17):9183-9192.

161. Suzuki H, et al. Electron microscopic evidence for budding process-independent assembly of double-shelled rotavirus particles during passage through endoplasmic reticulum membranes. J Gen Virol. 1993;74:2015–2018.

162. Tacket CO, Mason HS, Losonsky G, Estes MK, Levine MM, Arntzen CJ. Human immune responses to a novel norwalk virus vaccine delivered in transgenic potatoes. J Infect Dis. 2000;182:302–5.

163. Taku A, Gulati BP, Allwood PB, Palazzi K, Hedberg CW, Goyal SM. Concentration of caliciviruses from food contact surfaces. J Food Prot 2002;65: 999-1004.

164. Tan, M., Jıang, X., (2011). Norovirus-host interaction: multiselections by human HBGAs. Trends Microbiology. 19(8):382-388.

165. Tate JE, et al. Global, regional, and national estimates of rotavirus mortality in children <5 years of age, 2000–2013. Clin Infect Dis. 2016;62(Suppl. 2):S96–S105.

166. Thornhill T S, Wyatt R G, Kalica A R, Dolin R, Chanock R M, Kapikian A Z. Detection by immune electron microscopy of 26–27 nm virus-like particles associated with two family outbreaks of gastroenteritis. J Infect Dis. 1977;135:20–27.

167. Thornton, A.C., Jennings-Conklin, K.S., McCormick, M.I., 2004. Noroviruses: Agents in outbreaks of acute gastroenteritis. Disaster Management Response, 2(1), 4-9.

168. Todd EC, Greig JD, Bartleson CA, Michaels BS. Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 3. Factors contributing to outbreaks and description of outbreak categories. J Food Prot 2007;70:2199-2217.

169. Turcıos, R.M., Wıddowson, M.A., Sulka, A.C., Mead, P.S., Glass, R.I (2006). Reevalutation of epidemiological criteria for identifying outbreaks of acute gastroenteritis due to norovirus: United States. Clinical Infectious Diseases. 42:964-969.

170. Ustaçelebi, Ş., 2004. Virusların genel, moleküler yapı ve özellikleri. Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji, Birinci Baskı. (Ed. Ustaçelebi, Ş., Abacıoğlu, H., Badur, S.) Güneş Kitabevi Ltd. Şti., Ankara, 1-12s.

171. Ustaçelebi, Ş., Abacıoğlu, H., Badur, S., (2004). Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji. Bölüm 14.

172. Uyar, Y., Çarhan, A., Özkaya, E., Ertek, M., 2008. Türkiye'de 2008 yılında ortaya çıkan ilk norovirus salgınının laboratuvar sonuçlarının değerlendirilmesi. Mikrobiyoloji Bülteni, 42, 607-615.

173. Velazquez FR, et al. Rotavirus infection in infants as protection against subsequent infections. N Engl J Med. 1996;335:1022–1028.

174. Venkataram Prasad BV, et al. Structural basis of glycan interaction in gastroenteric viral pathogens. Curr Opin Virol. 2014;7:119–127.

175. Vesikari T, et al. Safety and efficacy of a pentavalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine. N Engl J Med. 2006;354:23–33.

176. Vipond IB, Pelosi E, Williams J, Ashley CR, Lambden PR, Clarke IN, Caul EO. A diagnostic EIA for detection of the prevalent SRSV strain in United Kingdom outbreaks of gastroenteritis. J Med Virol 2000;61:132-137.

177. Ward RL, et al. Human rotavirus studies in volunteers: determination of infectious dose and serological response to infection. J Infect Dis. 1986;154:871–880.

178. Warren K S. Tropical medicine or tropical health: the Health Clark lectures, 1988. Rev Infect Dis. 1990;12:142–156.

179. Weiss M, Steck F, Horzinek M C. Purification and partial characterization of a new enveloped RNA virus (Berne virus) J Gen Virol. 1983;64:1849–1858.

180. Wıddowson, M.A., Monroe, S.S., Glass, R.I., (2005). Are noroviruses emerging?. Emerging Infectious Diseases. 11(5):735-737.

181. Wiegering V, et al. Gastroenteritis in childhood: a retrospective study of 650 hospitalized pediatric patients. Int J Infect Dis. 2011;15:e401–e407.

182. World Health Organization (WHO). Manual of rotavirus detection and characterization methods. October 2009, www.who.int/vaccines-documents. 01 Haziran 2014.

183. Wu H M, Fornek M, Schwab KJ, Chapin AR, Gibson K, Schwab E, Spencer C, Henning K. A Norovirus outbreak at a long-termcare facility: the role of environmental surface contamination. Infect Control Hosp Epidemiol 2005; 26:802-810.

184. Yolken R H, Dubovi E, Leister F, Reid R, Almeido-Hill J, Santosham M. Infantile gastroenteritis associated with excretion of pestivirus antigens. Lancet. 1989;i:517–520.

185. Zaman K, et al. Efficacy of pentavalent rotavirus vaccine against severe rotavirus gastroenteritis in infants in developing countries in Asia: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet. 2010;376:615–623.

186. Zheng DP, Ando T, Fankhauser RL, Beard RS, Glass RI, Monroe SS. Norovirus classification and proposed strain nomenclature. Virology. 2006;346:312–23.

187. Omar, H.R.,(2017). 0-5 yaş arası akut gastroenteritli çocuklarda norovirüs sıklığının araştırılması. Tıpta Uzmanlık Tezi. Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Kliniği.

188. Aksu, A.,(2013). Akut Gastroenteritli Olgularda Norovirüs Araştırılmasında Elısa Ve Pcr Yöntemlerinin Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi.

189. Yaprak, D.Ş.,(2011). İmmünkompetan Erişkinler Ve İmmünsupresif Tedavi Alanlarda Norovirüs Enfeksiyonunun Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Gaziantep Üniversitesi.

190. Levy, K., Hubbard, A.E., Eisenberg, J.N.S., 2009. Seasonality of rotavirus disease in the tropics: A systematic review and meta-analysis. International Journal of Epidemiology, 38(6), 1487-1496.

191. Bonkoungou, I.J.O., Sanou, I., Bon, F., Benon, B., Coulibaly, S.O., Haukka, K., Traoré, A.S., Barro, N., 2010. Epidemiology of rotavirus infection among young children with acute diarrhoea in Burkina Faso. BioMed Central, DOI: 10.1186/1471-2431-10-94.

192. Atalay, A.M., Kandemir, İ., Gökahmetoğlu, S., 2013. Üçüncü basamak bir hastanedeki gastroenteritli çocuklarda rotavirüs enfeksiyonu sıklığı. Dicle Tıp Dergisi, 40(2), 212-215.

193. İnan, N., Ünsur, K.E., Demirel, A., Mamçu, D., Sönmez, E., Arısoy, A., 2014. Akut viral gastroenterit öntanılı vakalarda rotavirus, adenovirus ve norovirus sıklığının araştırılması. ANKEM Dergisi, 28 (1), 14-19.

194. Özdemir, M., Demircili, M.E., Feyzioğlu, B., Yavru, S., Baysal, B., 2013. İshalli hastalarda akut viral gastroenterit etkenlerinin araştırılması. Selçuk Tıp Dergisi, 29(3), 127-130.

195. Nazik, H., İlktaç, M., Öngen, B., 2006. Çocukluk yaş grubu gastroenteritlerinde rotavirus sıklığının araştırılması. ANKEM Dergisi, 20(4), 233-235.

196. Patel, M.M., Halla, A.J., Jan, V., Parashar, U.D., 2009. Noroviruses: A comprehensive review. Journal of Clinical Virology, 44, 1-8.

197. Clark, B., McKendrick, M., 2004. A review of viral gastroenteritis. Current Opinion in Infectious Diseases, 17, 461.

198. Levidiotou S, Gartzonika C, Papaventsis D, Christaki C, Priavali E, Zotos N et al. Viral agents of acute gastroenteritis in hospitalized children in Greece. Clinical Microbiology and Infection 2009;15:596- 8.

199. ÇELİK,A.Y., EMİROĞLU,M., KURTOĞLU,M.G., İNCİ A., ODABAŞ D., Akut Gastroenteritli 0-5 Yaş Arası Çocuklarda Viral Etkenlerin Sıklığının Araştırılması. Türkiye Çocuk Hast Derg/Turkish J Pediatr Dis / 2016; 2: 101-106

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı

T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Etik Kurulu

PROJENİN ADI : Çocuklarna Viral Gastroenterit Etkeni Olan Rota Virüs Ve Noro Virüs'ün Araştırılması
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ: Doç.Dr. Zeynep Arzu İLKİ
PROJEDEKİ ARAŞTIRICILAR : Yaşar MERCAN
ONAY TARİHİ VE ONAY SAYISI: 09.01.2017-32

Sayın Doç.Dr. Zeynep Arzu İLKİ

32 protokol nolu "Çocuklarna Viral Gastroenterit Etkeni Olan Rota Virüs Ve Noro Virüs'ün Araştırılması" isimli projeniz Enstitümüz Etik Kurulu tarafından incelenmiş ve etik yönden uygunluğuna karar verilmiştir.

Prof. Dr. Göksel ŞENER
Komisyon Başkanı

Yrd.Doç.Dr. Pınar MEGA TİBER

Prof. Dr. Dilşad SAVE

Prof.Dr. Hülya AŞÇI

Prof.Dr. Tuğba TUNALI AKBAY

Prof.Dr. Nefise BAHÇECİK

Doç.Dr.Oya ORUN

Doç.Dr. Hakkı ARIKAN

Doç.Dr.Gürkan SERT

Yrd.Doç.Dr. Betül OKUYAN

Yrd.Doç.Dr. M. Ümit UĞURLU

Yrd.Doç.Dr.İlkşan DEMİRBÜKEN

Av. Funda IŞIK ÖZCAN

Marmara Üniversitesi Göztepe Kampüsü Sağlık Bilimleri Enstitüsü 34688 Kadıköy / İSTANBUL
0 (216) 414 44 23-12 (Faks) 0 (216) 414 44 23
saglik.ogrenci@marmara.edu.tr
http://saglik.marmara.edu.tr
Ayrıntılı bilgi için: Süleyman TÜRKMENOĞLU

Ek 2. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Yaşar	**Soyadı**	Mercan
Doğum Yeri	Rize	**Doğum Tarihi**	18.08.1991
Uyruğu	T.C.	**TC Kimlik No**	2741381032
E-mail	yasar53mercan@gmail.com	**Tel**	0 531 229 86 62

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mezuniyet Yılı**
Yüksek Lisans	Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enst./ Klinik Mikrobiyoloji	
Lisans	Marmara Üniversitesi	2014
Lise	Orhangazi Lisesi	2009

İş Deneyimi

Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
1. Biyolog	MarmaraÜni.Eğitim Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Lab.	2014-

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***
İngilizce	İyi	İyi	İyi

Yabancı Dil Sınav Notu #								
YDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
ALES Puanı	75		

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma becerisi**
Microsoft Office programları	Çok İyi