

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GASTROENTERİT ETKENİ VİRÜSLERİN
İMMÜNOKROMATOĞRAFİK VE MOLEKÜLER
YÖNTEMLERLE SAPTANMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mücahide TOPÇU

Enstitü Anabilim Dalı : Tıbbi Mikrobiyoloji

Enstitü Bilim Dalı : Tıbbi Mikrobiyoloji

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet KÖROĞLU

HAZİRAN-2019

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GASTROENTERİT ETKENİ VİRÜSLERİN
İMMÜNOKROMATOĞRAFİK VE MOLEKÜLER
YÖNTEMLERLE SAPTANMASI

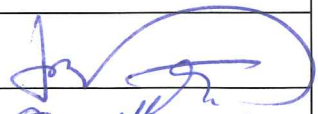
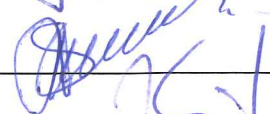
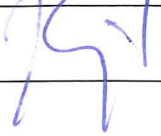
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mücahide TOPÇU

Enstitü Anabilim Dalı: Tıbbi Mikrobiyoloji

Enstitü Bilim Dalı: Tıbbi Mikrobiyoloji

“Bu tez 12/06/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oy birliği / Oy çokluğu ile kabul edilmiştir.”

| JÜRİ ÜYESİ | KANAATI | İMZA |
|-----------------------------|----------|---|
| Prof.Dr. Mustafa ALTINDIŞ | Başarılı |  |
| Prof. Dr. Sema AŞKIN KEÇELİ | Başarılı |  |
| Prof. Dr. Mehmet KÖROĞLU | Başarılı |  |

BEYAN

Bu çalışma T.C. Sakarya Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 21/01/2015 tarihinde 16214662 numaralı onay numarasıyla onay alınarak hazırlanmıştır. Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını beyan ederim. Tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Bu tez, Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından 2017-40-01-002 numaralı proje ile desteklenmiştir.

...../...../2019
Mücahide TOPÇU
İmza

TEŞEKKÜR

Sakarya Üniversitesi Sağlık bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndaki yüksek lisans eğitim sürem içinde bilgi, fikir ve tecrübelerinden faydalandığım çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Mehmet Köroğlu'na ve Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Mustafa Altındış'e, tezimin son halini almasında yardımcı olan Uzm. Dr. Özlem Aydemir'e, yazım aşamasında yardımcı olan Uzm. Dr. Semra Öz'e ve istatistik analizler konusunda yardımcı olan Doç. Dr. Yusuf Aydemir'e teşekkürlerimi sunarım.

Hastalardan alınan örneklerin toplanması aşamasında yardımcı olan Sakarya Kadın Doğum ve Çocuk Hastanesi başhekimini Doç. Dr. Bahri Elmas'a, laboratuvar şefi ve personeline, hastalarla ilgili anketin doldurulmasında yardımcı olan başhekim sekreterine ve çocuk polikliniği doktorlarına, laboratuvar test aşamasında yardımcı olan moleküler laboratuvarı personeli Gülşah Keskinliç'a teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim boyunca maddi manevi desteğini esirgemeyen annem Döndü Topçu, babam Zeynel Topçu ve kardeşlerime; ayrıca tez çalışmam boyunca manevi olarak bana destek olan arkadaşlarım Neslihan Babalı, Melek Çetin, Melek Reçber, Zeynep Abalı, Aslıhan Dehar, Nazmiye Albayrak ve Hatice Köse' ye teşekkür ederim.

Saygılarımla

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|------|
| BEYAN | i |
| TEŞEKKÜR | ii |
| İÇİNDEKİLER..... | iii |
| ŞEKİLLER | vi |
| TABLolar..... | vii |
| ÖZET | viii |
| Anahtar kelimeler: Gastroenterit, Rotavirus, Adenovirus, Norovirus, PCR. | viii |
| SUMMARY | ix |
| Key words: Gastroenteritis, Rotavirus, Adenovirus, Norovirus, PCR. | ix |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ..... | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 4 |
| 2.1. GASTROENTERİT TANIMI..... | 4 |
| 2.2. GASTROENTERİT ETKENİ VİRÜSLER..... | 5 |
| 2.2.1. Rotavirus..... | 5 |
| 2.2.2. Adenovirus..... | 8 |
| 2.2.3. Norovirus | 9 |
| 2.2.4. Gastroenterit Etkeni Diğer Virüsler | 9 |
| 2.3. GASTROENTERİT ETKENİ VİRÜSLERİN TANISINDA KULLANILAN BAZI YÖNTEMLER | 11 |
| 2.4. TEDAVİ..... | 12 |
| 2.5. KORUNMA | 13 |
| 2.5.1. Rotavirüs Aşısı..... | 13 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM | 15 |
| 3.1. ÇALIŞMANIN AMACI | 15 |

| | |
|--|----|
| 3.2. ETİK KURUL ONAYI..... | 15 |
| 3.3. KULLANILAN MALZEMELER..... | 15 |
| 3.4. ÖRNEKLERİN TOPLANMASI VE SAKLANMASI | 16 |
| 3.5. İMMUNOKROMATOĞRAFİK TEST..... | 16 |
| 3.6. ÖRNEKLERİN DNA/RNA İZOLASYONU VE PCR İŞLEMİ | 17 |
| 3.6.1. ÖN İŞLEM | 17 |
| 3.6.2. DNA/RNA İZOLASYONU | 18 |
| 3.6.3. PCR Aşaması | 18 |
| 3.7. İSTATİSTİK | 21 |
| 4. BULGULAR | 22 |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ..... | 27 |
| KAYNAKLAR..... | 33 |
| EKLER..... | 43 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 45 |

KISALTMA VE SİMGELER

| | |
|--------------|---|
| AGE | : Akut Gastroenterit |
| EIA | :Enzyme immunoassay |
| ELISA | :Enzyme -linked İmmunosorbent Assay (Enzim Bağlı İmmünosorbent Analizi) |
| EM | :Elektron Mikroskopi |
| HastV | :Human Astrovirüs |
| HPeV | :İnsan Parechovirüs |
| ICT | :İmmünokromatografik test |
| LAT | :Lateks Aglütinasyon testi |
| NoV | :Norovirüs |
| NPD | :Negatif Prediktif (öngörü) Değeri |
| NSP | :Nonstrüktüel- Yapısal Olmayan Protein |
| PAGE | :Poliakrilamit jel elektroforezi |
| PCR | :Polimeraz Zincir Tepkimesi |
| PPD | :Pozitif Prediktif (öngörü) Değeri |
| RV | :Rotavirüs |
| VP | :Viral-Yapısal Protein |

ŞEKİLLER

| | |
|---|----|
| Şekil 1: Rotavirus'un elektron mikroskopundaki görünüşü (Çelikkan 2011)..... | 6 |
| Şekil 2: Rotavirus'un yapısı ve şematik görünümü (Glass 2006, Keser 2009, Pamuk 2010) | 7 |
| Şekil 3: Orange kanalı Rotavirüs Analiz ekranı görüntüsü..... | 20 |
| Şekil 4: Red kanalı Adenovirüs Analiz ekranı görüntüsü..... | 20 |
| Şekil 5: Green kanalı Norovirüs Analiz ekranı görüntüsü | 21 |
| Şekil 6: Rotavirüs ICT/PCR ROC eğrisi..... | 24 |
| Şekil 7: Adenovirüs ICT/PCR ROC eğrisi..... | 25 |

TABLÖLAR

| | |
|---|----|
| Tablo 1: Gastroenterite neden olan etkenler (Mitchell, Pickering 1998, Kurugöl 2001, Yargın 2012)..... | 5 |
| Tablo 2: Rotavirüs segmentleri, sentezlenen proteinler, proteinlerin virüsteki yer aldığı tabaka ve işlevi (Torun 2009, Meral 2010, Coşar 2017, Soydan 2018)..... | 7 |
| Tablo 3: Gerçek zamanlı RT-PCR sıcaklık ayarı..... | 19 |
| Tablo 4: Master mix hazırlanışı..... | 19 |
| Tablo 5: Hastalara ait demografik veriler. | 23 |
| Tablo 6: Rotavirus için gerçek zamanlı PCR ve ICT pozitif-negatif sayı ve yüzdeleri | 24 |
| Tablo 7: Adenovirus için gerçek zamanlı PCR ve ICT pozitif-negatif sayı ve yüzdeleri. | 26 |
| Tablo 8: Hastaların (n=84) gerçek zamanlı PCR ve ICT yöntemlerine göre Rotavirus, Adenovirus ve Norovirus sonuçları. | 26 |

ÖZET

GİRİŞ VE AMAÇ: Bu tez çalışmasında Sakarya'da *Rotavirus*, *Adenovirus* ve *Norovirus* enfeksiyonunun tanısında immünokromatografik ve gerçek zamanlı PCR yöntemleri ile elde edilen sonuçlar analiz edilerek bu testlerin mukayesesi ve tanıdaki yerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM: Hastanemize ishal şikayetiyle başvuran hastalardan alınan 84 örnek çalışmaya dahil edilmiştir. Bunlardan 67'si, immünokromatografik test (ICT) ile Rotavirus ve Adenovirus'tan en az biri pozitif örneklerdir. Rota/Adenovirus ve bakteri/parazit yönünden negatif bulunan 17 örnek de dahil edildi. Tüm örnekler multiplaks-RT-PCR yöntemi kullanılarak test edilmiştir.

BULGULAR: ICT yöntemi ile 84 örneğin 62'si(%74) Rotavirus pozitif, 22'si(%26) negatif iken; 5'inde(%6) Adenovirus pozitif, 79'unda(%94) negatif bulunan örneklerdi. Tüm örneklerden yapılan RT-PCR analizlerinde; 49'unda(%58,5) Rotavirus pozitif, 35'inde(%41,5) negatif, 40'ında(%48) Adenovirus pozitif, 44'ünde(%52) negatif olarak tespit edilmiştir. Gerçek zamanlı PCR ile Norovirus için 11(%13) pozitif, 73(%87) negatif sonuç alınmıştır.

ICT ve PCR yöntemleri arasında Rotavirus orta, Adenovirus için düşük düzeyde uyum olduğu gözlenmiştir (Rotavirus-ICT/Rotavirus-PCR; $r:0.540$, $p<0.001$, Adenovirus-ICT/Adenovirus-PCR; $r:0.264$, $p<0.016$). RT-PCR referans yöntem kabul edildiğinde; Rotavirus ICT duyarlılığı %93, özgüllüğü %54.3, PPD %74, NPD %76.4 ve Adenovirus ICT duyarlılığı %12.5, özgüllüğü %100, PPD %100, NPD %55.7 olarak hesaplanmıştır.

SONUÇ: Rotavirus ve Adenovirus için ICT ve RT-PCR yöntemleri arasında anlamlı ve düşük düzeyde uyum olduğu saptanmıştır. ICT; ucuz, hızlı sonuç alınan, kullanışlı, pratik, donanım gerektirmeyen, küçük laboratuvarlara ve kitle taramalarına uygun bir testtir. RT-PCR daha duyarlı ve özgül bir yöntem olsa da pahalı, daha yavaş, donanım gerektiren ve her laboratuvarda kullanılamayan bir yöntemdir.

Anahtar kelimeler: Gastroenterit, Rotavirus, Adenovirus, Norovirus, PCR.

SUMMARY

Detection Of Gastroenteritis Viruses By Immunochromatographic Methods And Molecular Methods

Introduction and Aim: In this thesis, the results of immunochromatographic and real-time PCR methods in the diagnosis of Rotavirus, Adenovirus and Norovirus infection in Sakarya were analyzed, and the results of these tests were compared.

Materials and Methods: 84 samples from patients presenting to our hospital with diarrhea complaints were included in the study. Of these, 67 were positive samples with immunochromatographic test (ICT) for Rotavirus and Adenovirus. 17 samples that were negative in terms of rotavirus / adenovirus and bacteria / parasites were also included in the study. All samples were tested using multiplex-RT-PCR method.

Results: Out of 84 samples 62 were Rotavirus positive (74%) and 22 were Rotavirus negative (26%), 5 were Adenovirus positive (6%) and 79 were Adenovirus negative (94%) with the ICT method. Real-time PCR analysis of all samples; Rotavirus was found to be positive in 49 (58.5%), negative in 35 (41.5%) and Adenovirus was positive in 40 (48%), and negative in 44 (52%). Real-time PCR showed 11 (13%) positive and 73 (87%) negative results for Norovirus.

There were significant and weak/low-level agreement for Rotavirus and Adenovirus among ICT and PCR methods (Rotavirus-ICT/Rotavirus-PCR; $r: 0.540$, $p < 0.001$, Adenovirus-ICT/Adenovirus-PCR; $r: 0.264$, $p < 0.016$). When RT-PCR is accepted as reference method; Rotavirus ICT sensitivity 93%, specificity 54.3%, PPD, 74%, NPD, 76.4% and Adenovirus ICT sensitivity; 12.5%, specificity; 100%, PPD, 100%, NPD, 55.7%.

Conclusion: A significant but low level of compliance was found between the ICT and real-time RT-PCR methods for Rotavirus and Adenovirus. ICT; It is a test suitable for small labs, suitable for screening and cheap, fast, useful, practical, no hardware. Although real-time PCR is a more sensitive and specific method, it is expensive, slower, requires hardware and is not available in every laboratory.

Key words: Gastroenteritis, Rotavirus, Adenovirus, Norovirus, PCR.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akut gastroenterit (AGE), tüm ülkelerde görülebilen önemli sağlık sorunudur ve çocukluk çağında en sık rastlanan hastalıklardan biridir. Gastroenteritin nedenleri arasında bakteri, virüs ve parazit gibi birçok etken bulunmaktadır (Serter 1997, Dessemelberger 1999, Wilks, Parrington ve Rubenstein 2003, Sulanç 2009). Son yıllarda gelişen ekonomik koşullarla birlikte çocukluk çağında ishal sebebiyle hastaneye yatış ve ölümlerde fark edilecek düzeyde bir azalma olduğu gözlenmiştir. Dünya genelinde ishale bağımlı ölümler 1982 yılında 4.6 milyon iken, bu değer 2003 yılında 1.6 milyon olarak bulunmuştur (Parashar, Gibson, Bresse 2006, Keser 2009). Bununla birlikte akut ishal; en sık 0-5 yaş grubunda rastlanan ve özellikle ilk 2 yaştaki ölüm nedenlerinin başında gelen bir hastalıktır ve en yüksek mortalite 1 yaş altı çocuklarda görülmektedir (Kosek, Bern ve Guerrant 2003, Pamuk 2010). Gastroenteritler su kaybı ve ölüme neden olmalarının yanı sıra; ciddi beslenme yetersizliği ve büyümenin etkilenmesi ve uygunsuz ilaç kullanımına neden olmalarıyla da önem taşımaktadırlar (Uysal, Doğru, Aysev ve Karabiber 1997, Pamuk 2010). Gelişmekte olan ülkelerde 1990'lı yıllarda özellikle 5 yaş altı çocuklarda ortalama 1,4 milyar ishal şikayeti olduğu ve bunlardan 123,6 milyon hastada ayakta bakım yapıldığı 9 milyonunun ise hastaneye yatması gerektiği kayda geçmiştir (Sökücü, Saner, Süoğlu ve Elkabes 2002, Kosek, Bern ve Guerrant 2003, Parashar, Hummelman, Bresee, Miller ve Glass 2003, Pamuk 2010).

Akut gastroenteritlerin görülme sıklığı, etkenlerin dağılımı ve hastalığın ciddiyeti, birçok faktöre bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Mevsimler, yaş, kişisel ve kültürel alışkanlıklar, coğrafi bölge gibi faktörler etkenlerin çeşitliliğini belirleyebilir (Yazıcı, Manzur ve Akbulut 2013, Karagün, Gürsu, Korkmaz, Bozdağ ve Hasbek 2014). Gelişmiş ülkelerde çocukluk çağının en önemli hastalıklarından olan gastroenteritlerin çoğunluğu viraldir (Yazıcı, Manzur ve Akbulut 2013, Karagün ve ark. 2014). Gelişmemiş ve az gelişmiş ülkelerde ise her yıl çocuklarda virüslerin neden olduğu gastroenterit epidemileri görülmektedir (Serter 1997, Dessemelberger 1999, Wilks ve ark. 2003, Sulanç 2009). Viral etkenler açısından bakıldığında; *Reoviridae* ailesinin en önemli üyesi olan Rotavirus'ların yol açtığı gastrointestinal enfeksiyonlar, gelişmiş ülkelerde viral üst solunum yolları enfeksiyonlarından sonra

ikinci sıklıkla rastlanan viral enfeksiyon olarak bilinmektedir (Atalay, Kandemir ve Gökahmetoğlu 2013).

Çocukluk çağı ishallerinin en sık rastlanan viral etkenlerinin sırasıyla *Reoviridae* (*Rotavirus*), *Caliciviridae* (*Norovirus* ve *Sapovirus*), *Astroviridae* (*Astrovirus*), *Adenoviridae* (*Adenovirus* tip 40,41) olduğu bilinmektedir (Akhter, Türegün, Kıyan, Gerçeker, Güriz, Şahin 2014). Rotavirus'lar, hem gelişmekte olan ÷lkelerde hem de gelişmiş ÷lkelerde süt çocukları (6-24 ay) ve küçük çocukların (2-5 yaş) ishallerinin en önemli viral etkenidir (Öztürk 2008; Atalay, Kandemir ve Gökahmetoğlu 2013). Rotavirus'ların neden olduğu enfeksiyonlar kış aylarında (ocak, şubat) daha sık gör÷lmektedir. Adenovirus enfeksiyonları ise yıl boyunca gör÷lebilmekle birlikte yaz aylarında daha sık gör÷ldüğu bildirilmiştir (Biçer, Şahin, Koncay, Gemici, Engerek, Ulucaklı, Özlü ve Şiraneci 2009, Demiray, Topçu, Aydemir, Karakeçe, Köroğlu, Elmas, Altındış 2016).

Çocukluk çağındaki gastroenteritlerin Rotavirus'lardan sonra sık gör÷len nedenlerinden biri de Adenovirus'lardır (Roman, Wilhelmi, Colomina 2003, Biçer ve ark. 2009). Adenovirus'ların 51 farklı serotipi bulunmaktadır. Ancak sadece serotip 40 ve 41, daha nadir olarak da 31. serotipinin gastroenterite neden olduğu bilinmektedir (Biçer ve ark. 2009). Avrupa, Asya, Kuzey ve Güney Amerika'da yapılan çalışmalarla çocukluk çağı gastroenteritlerinin %3.1-13.5'inde enterik Adenovirus'ların etken olduğu bildirilmiştir (Uhnoo, Wadell, Svensson, Johansson 1984, Brown 1990, Grimwood, Carzino, Barnes, Bishop 1995, Harsi, Rolim, Gomes 1995, Scott-Taylor ve Hammond 1995, Biçer ve ark. 2009).

Dünyadaki gıda kaynaklı salgınların yaklaşık %28'inden *Norovirus*'lar (NoV) sorumludur (Turcios, Widdowson, Sulka, Mead, Glass 2006, Uyar, Çarhan, Özkaya ve Ertek 2008). Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde yapılan bir araştırmada, viral kaynaklı olarak açıklanmış ishal salgınlarının %60-95'inin etkeninin *Norovirus* olduğu açıklanmıştır (Mead, Slutsker, Dietz 1999, Uyar ve ark. 2008).

Viral enfeksiyonların tanısında altın standart, virüsün hücre kültüründe üretilmesidir ancak bu yöntem zaman alıcı olması ve teknik zorluklar nedeniyle kullanılamamaktadır (Wilhelmi, Roman ve Sanchez-Fauquier 2003, Akhter ve ark 2014). Hızlı tanıda, pratik olması nedeniyle immünokromatografik veya EIA temelli yöntemler tercih edilmektedir (Tran, Talmud, Lejeune 2010, Akhter ve ark 2014). Buna karşın son yıllarda gerek tanı gerekse epidemiyolojik çalışmalarda, duyarlılık ve özgüllüklerinin yüksek olması nedeniyle PCR (RNA virüsleri için ters transkripsiyon-PCR; RT-PCR) yöntemleri kullanılmaya başlamıştır (Logan, O’Leary ve O’Sullivan 2007, Wolffs, Bruggeman, Van Well, Van Loo 2011, Akhter ve ark 2014).

Rotavirus gastroenteritinin tanısında akut dönemde alınan taze dışkı örneklerinde enzyme-linked immunosorbent assay” (ELISA), lateks aglütinasyon (LA), immünokromatografi, elektron mikroskopisi ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi yöntemler kullanılabilir. Ancak immünokromatografik testler ve lateks testlerin kullanılmasının daha kolay ve ucuz olduğu bilinmektedir (Berk ve Kayman 2011, Alaşehir, Balıkçı ve Topkaya 2014). Diğer gastroenterit virüslerinin tanısında, elektron mikroskopi (EM), immün EM, hücre kültürü, enzim-işaretli immünolojik yöntemler (EIA), lateks aglütinasyon ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi yöntemlerin kullanıldığı bilinmektedir (Clark ve McKendrick 2004, Akhter ve ark. 2014).

Bu tez çalışmasında Sakarya’da *Rotavirus*, *Adenovirus* ve *Norovirus* enfeksiyonunun tanısında immünokromatografik ile gerçek zamanlı PCR yöntemleri ile elde edilen sonuçların analiz edilerek bu testlerin mukayesesi ve tanıdaki yerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. GASTROENTERİT TANIMI

Doğum sonrası 3-15. günlük bebeklerde günde 8-10 kez, genel olarak da yenidoğan döneminde normal kıvamda günde 3-5 kez dışkılama normaldir. Bir yaşına kadar günde 2-3 kez dışkılama normal karşılanmakla birlikte, anne sütü ile beslenen bebeklerde ise dışkılama sayısı 7'ye kadar çıkabilmektedir (Kurugöl 2001).

Gastroenterit; bağırsak enfeksiyonu olarak bilinen geniş kapsamlı klinik bir terimdir. Diyare (ishal), mide bulantısı, kusma ve epigastrik ağrı gastroenteritin en yaygın belirtilerindendir (Demiray ve ark. 2016). İshal/diyare; bağırsağın peristaltik hareketlerinin artması, emiliminin azalması ve sekresyonun artması sonucu dışkılama miktarının ve sayısının artması ve dışkı kıvamının bozularak yumuşak, sulu bir görünüm alması olarak açıklanmaktadır (Sökücü, Saner, Süoğlu ve Elkabes 2002, Pamuk 2010).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ishali tanımlarken; günde (24 saatte) üçten fazla sulu ya da yarı sulu dışkılama, sadece anne sütü ile beslenen bebeklerde ise her zamankinden daha sık ve sulu dışkılama olarak açıklamıştır. Ayrıca dışkılama sayısından ziyade kıvamındaki değişikliğin önemini ve çocuğun ishal/diyare tanısına karar verirken, anne ve babanın düşüncelerinin de kullanılabileceği belirtilmiştir (WHO 1995, Kurugöl 2001, Pamuk 2010). Diğer bir tanımlamada ise günde bir kez kanlı, mukuslu dışkılama da ishal/diyare olarak kabul edilmektedir (Kurugöl 2001). Bu şekilde gastroenteritlere çeşitli bakteri, virüs ve parazitler sebep olmaktadır.

2.2. GASTROENTERİT ETKENİ VİRÜSLER

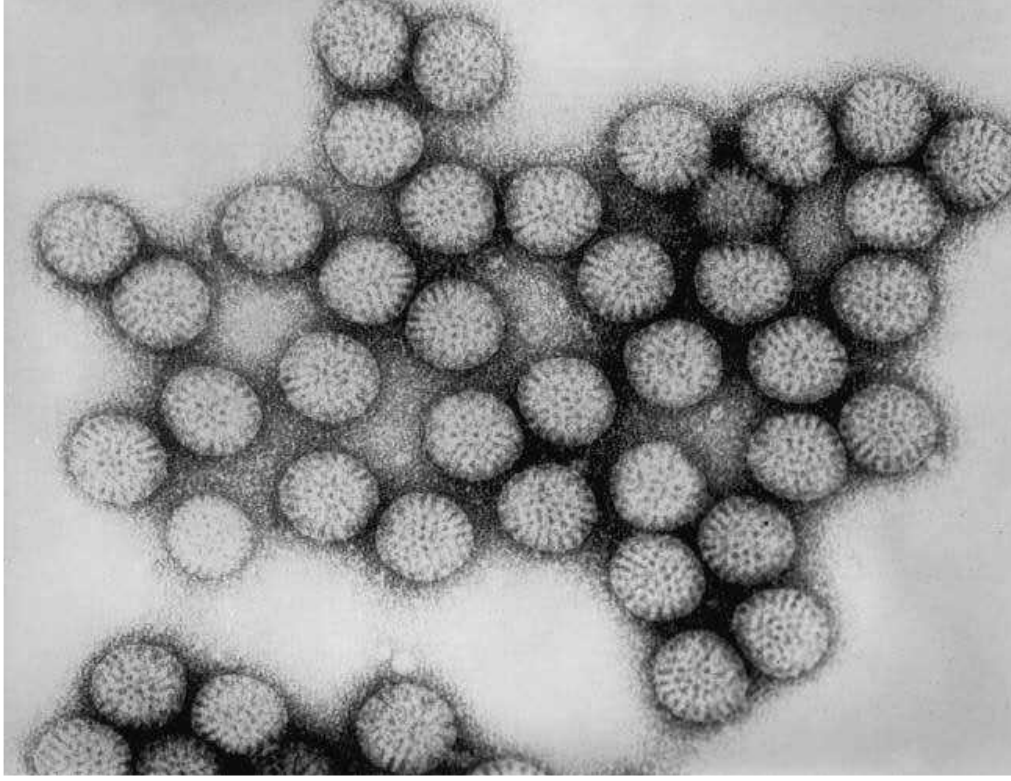
Virüsler, gastroenterit olgularının en önemli etkeni olduğu bilinmekle birlikte gastroenteritlere çeşitli bakteri ve parazitlerinde sebep olduğu bilinmektedir ve gastroenterite neden olan bazı etkenler Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1: Gastroenterite neden olan etkenler (Mitchell, Pickering 1998, Kurugöl 2001, Yargın 2012).

| BAKTERİLER | VİRÜSLER | PROTOZOALAR | HELMİNTLER |
|---------------------------------|-----------------------------|--|----------------------------------|
| <i>Salmonella</i> türleri | <i>Rotavirus</i> | <i>Cryptosporidium</i> | <i>Capillaria philippinensis</i> |
| <i>Shigella</i> türleri | <i>Norwalk</i> | <i>Entamoeba histolytica</i> | <i>Schistosoma species</i> |
| <i>Escherichia coli</i> | <i>Norwalk like virus</i> | <i>Giardia lamblia</i> | <i>Strongyloides stercoralis</i> |
| <i>Camplobacter jejuni</i> | <i>Astrovirus</i> | <i>Isospora belli</i> | <i>Trichinella spiralis</i> |
| <i>Yersinia enterocolitica</i> | <i>Calicivirus</i> | <i>Cyclospora</i> | <i>Trichirus trichiura</i> |
| <i>Clostridium difficile</i> | <i>Adenovirus-tip 40,41</i> | <i>Microsporida (Enterocytozoon</i> | |
| <i>Clostridium perfringens</i> | <i>Coronavirus</i> | <i>bieneusi, Septata intestinalis)</i> | |
| <i>Aeromonas species</i> | <i>Torovirus</i> | | |
| <i>Bacillus cereus</i> | <i>Aichi virus</i> | | |
| <i>Plesiomonas shigelloides</i> | <i>Human parechovirus</i> | | |
| <i>Vibrio cholerae</i> | <i>Picobirnavirus</i> | | |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | | | |

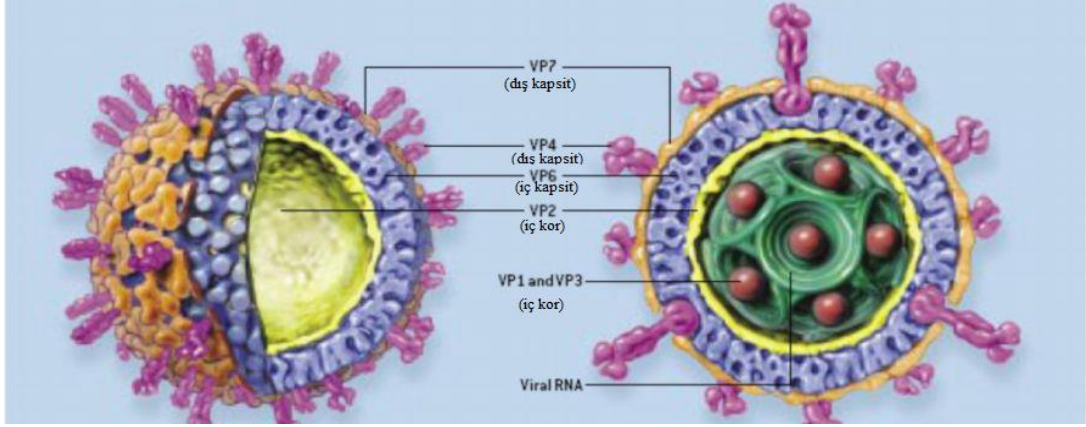
2.2.1. Rotavirus

Rotavirus, *Reoviridae* ailesine ait zarfsız, 75 nm çapında, ikozahedral kapsid yapısına sahip, segmentli çift iplikli sarmal RNA (dsRNA) yapısına sahip tek virüstür (Altunay 2007, Yargın 2012). Virüs, ilk olarak mikrobiyolog Ruth Bishop ve arkadaşları tarafından elektron mikroskopisi yöntemi (EM) kullanılarak fark edilmiştir (Çelikkan 2011). Elektron mikroskopundaki görüntüsü (Şekil 1) incelendiğinde tekerleğe benzediği için Latince tekerlek anlamına gelen “rota” sözcüğü ile isimlendirilmiştir (Torun 2009, Yargın 2012).



Şekil 1: Rotavirus'un elektron mikroskopundaki görünüşü (Çelikkan 2011)

Rotavirüs çıplak (zarfsız) yapıda olup; çekirdek (iç kor proteini), iç kapsit proteini ve dış kapsit proteini olmak üzere Şekil 2'de görüldüğü gibi 3 tabakalı partikülden oluşmaktadır (Torun 2009, Başköy 2017). Çekirdekte yer alan 11 segmente sahip olan rotavirüs genomunun 11. segmenti iki protein, diğer segmentleri ise bir protein kodlayarak toplamda 12 protein kodlar ve bu proteinlerden altısı yapısal (viral) (VP1, VP2, VP3, VP4, VP6, VP7), altısı ise yapısal olmayan (nonstrüktürel) (NSP1, NSP2, NSP3, NSP4, NSP5, NSP6) proteindir (Yargın 2012). Rotavirüs çift zincirli RNA genomunun sırasıyla segmentleri ve segmentlerin sentezlediği proteinler, yapısal ve yapısal olmayan tüm proteinlerin bulunduğu kısım ve işlevleri kısaca Tablo 2'de ki gibidir.



Şekil 2: Rotavirus'un yapısı ve şematik görünümü (Glass 2006, Keser 2009, Pamuk 2010)

Tablo 2: Rotavirüs segmentleri, sentezlenen proteinler, proteinlerin virüsteki yer aldığı tabaka ve işlevi (Torun 2009, Meral 2010, Coşar 2017, Soydan 2018)

| dsRNA segmenti | Sentezlenen protein | Proteinin Bulunduğu kısım | Proteinin İşlevsel özelliği |
|----------------|---------------------|---------------------------|--|
| 1 | VP1 | İç kor proteini | Yapısal protein, RNA Polimeraz aktivitesi, VP3 ile kompleks, VP2 ile etkileşim |
| 2 | VP2 | İç kor proteini | Genomun kapsitle kaplanması, VP1 replikaz aktivitesi |
| 3 | VP3 | İç kor proteini | Guanilat transferaz ve metil transferaz aktivitesi, VP1 ile etkileşim |
| 4 | VP4 | Dış kapsit proteini | Hücreye bağlanma, virulans, penetrasyon ve hemaglutinasyon, VP5 ve VP8 oluşumu |
| 5 | NSP1 | Yapısal olmayan protein | RNA'ya bağlanma, İnterferon antagonisti (karşıtı) |
| 6 | VP6 | İç kapsit proteini | Grup ve subgrup tiplendirilmesi, transkripsiyonda gerekli |
| 7 | NSP3 | Yapısal olmayan protein | mRNA bağlanması- translokasyon, konak tranlasyonunu engelleme |
| 8 | NSP2 | Yapısal olmayan protein | RNA ve NSP5 bağlanması, Replikasyon ve paketlenme, viroplazma oluşturma |
| 9 | VP7 | Dış kapsit proteini | Yüzey glikoproteini, serotip spesifik nötralizan antijeni |
| 10 | NSP4 | Yapısal olmayan protein | Viral enterotoksin, hücrede Ca ⁺² toplama |
| 11 | NSP5 | Yapısal olmayan protein | Fosfoprotein, NSP2 bağlayıcısı, VP2 ve NSP6 etkileşimi |
| | NSP6 | Yapısal olmayan protein | Replikasyon, NSP5 dimerizasyonu (pirimidin bazları arasındaki özel bağ) |

İç kapsit proteini olan VP6 yapısal proteini kor tabakasını çevreler ve immunojenik özellikte proteindir. Rotavirüs (RV) kapsit proteinlerinin antijenik özelliklerine grup, subgrup ve serotip olmak üzere sınıflandırılmaktadır. VP6 iç kapsit proteinine göre A, B, C, D, E, F, G olmak üzere 7 gruba ayrılır ve grup A, B, C insan ve hayvanlarda bulunurken, grup D, E, F, G sadece hayvanlarda bulunmaktadır (Torun 2009). RV grup A, B ve C farklılıklar gösteren aminoasit dizilimleri içermektedir. Bu gruplar içinde grup A RV' ler klinik önem taşımaktadır (Keser 2009). Grup A RV'ler VP6 proteini üzerindeki epitoplara (antijenin antikora bağlanan kısımlarına) göre subgrup I ve subgrup II olmak üzere alt gruplara, VP4 ve VP7 dış kapsit proteinlerine göre serotiplere ayrılmaktadır (Keser 2009, Tapısız 2010). VP4 dış kapsit proteininin antijenik özelliğine göre ve proteaza duyarlılığına göre P serotiplerine, VP7 dış kapsit proteininin antijenik özelliğine göre ve VP7 yüzey glikoproteini özelliğine göre G serotiplerine ayrılmaktadır (Keser 2009, Meral 2010).

G serotipleri 15, P serotipi ise toplam (14 P serotipi var ancak bazı P serotiplerinin birden fazla genotipleriyle birlikte) 27 tanedir ve insanda G1,G2,G3,G4,G9 ve P1A(8), P1B(4), P2A(6), P3(9) tiplerinin en çok enfeksiyon oluşturduğu belirtilmiştir (Erdoğan 2011, Yılmaz 2013). Bu serotipler aralarında farklı kombinasyon oluşturarak çeşitli suşları oluşturduğu bilinmekte olup en yaygın suşları G1 P(8), G2 P(8) olarak bildirilmiştir (Erdoğan 2011, Yılmaz 2013).

Rotavirüslerin çocukluk çağında sıklıkla görüldüğü ve çoğunlukla fekal oral yolla, kontamine yiyecek-sularla-yüzeyle ve solunum damlacıkları gibi yollarla da insanlara bulaşabildiği bilinmektedir (Aydın 2014).

2.2.2. Adenovirus

Enterik Adenoviruslar zarfsız, çift sarmal lineer DNA ve ikosahedral nükleokapsid yapısına sahip bir virüstür (Altunay 2007, Biçer ve ark. 2009). Adenoviruslar; immünolojik olarak 51 farklı serotipe sahiptir (Biçer ve ark. 2009, Ağın 2010). Adenoviruslar'dan serotip 3,4,7,21 solunum sistemi hastalıklarına; 8 ve 9 epidemik keratokonjunktivit ve folliküler konjunktivite; tip 11 ve 21 akut hemorajik sistik hastalığına; tip 40 ve 41 infantil gastroenteritlere; tip 31 ise nadiren gastroenterite

neden olmaktadır(Altunay 2007, Biçer ve ark. 2009). Enterik adenovirüslerin akut gastroenterite neden olan tipleri çoğunlukla 4 yaş altındaki çocukları etkilemektedir ve kreşler, bu yaş gruplarında enfeksiyon açısından risklidir (Ağın 2010).

2.2.3. Norovirus

Norovirüsler (NoV) kontamine gıdalar ve su kaynaklı gastroenterite neden olan *Caliciviridae* ailesine ait bir RNA virüsüdür (Yargın 2012). NoV zarfsız, pozitif polariteli, çapı yaklaşık 28-35 nm, tek zincirli bir RNA virüsü olup; çevresel etkenlere ve 60°C ısıya kadar stabil kalabilen dayanıklı bir virüstür (Koopmans et al 2001, Green et al 2001, Uyar ve ark. 2008).

Caliciviridae ailesinde gastroenterite etkeni olan, *Norwalk-like viruses* ve *Sapporo-like viruses* olmak üzere iki cins bulunmaktadır (Yargın 2012). Norwalk virüs 1972'de Kapan ve ark. tarafından Ohio/Norwalk'ta gastroenterit salgınındaki gaita örneklerinden; Sapporo virüs ise 1977'de Japonya/Sapporo'da tespit edilmiş ve izole edildiği bölgelerin isimleri verilmiştir (Yargın 2012). NoV, RNA polimeraz ve kapsid bölgesinin genetik farklılığına göre GI, GII, GIII, GIV ve GV olmak üzere beş farklı genogruba sahiptir (Green et al 2001, Parashar, Quiroz, Mounts, Monroe, Fankhauser, Ando, Noel., Bulens, Beard, Li, Bresee, Glass 2001, Uyar ve ark. 2008).

NoV, dış ortam şartlarına oldukça dayanıklı olduğundan; yaz kampları, yüzme havuzları, ilkokullar ve kreşler gibi kalabalık alanlar NoV'a bağlı ishal salgınlarının görülebileceği yerlerdendir. Noroviruslar çoğunlukla 4 yaşından büyük çocuklarda ve erişkinlerde enfeksiyona neden olurlar (Ağın 2010).

2.2.4. Gastroenterit Etkeni Diğer Virüsler

Astrovirus, *Astroviridae* ailesi *Mamastrovirus* cinsine ait, zarfsız, 28-30 nm boyutunda, ikozahedral kapsitli, yıldız benzer görünüme sahip, pozitif polariteli tek zincirli RNA virüsüdür (Yargın 2012, Coşar 2017). Astrovirus ilk olarak 1975 yılında İskoçya'da ishal salgınında yapılan araştırmalar sonucunda elektron mikroskopunda görülmüş olup, yıldız görünümüne sahip olduğu için Latince yıldız

anlamına gelen (astron: yıldız) Astrovirus adını almıştır (Yargın 2012, Akhter ve ark. 2014). İnsan Astrovirus'larının (HastV) tek zincirli RNA genomunun üç yapısal protein sentezlediği ve çocuklarda gastroenterite sebep olduğu, sekiz farklı serotipinin (HastV serotip 1-8) bulunduğu ve en sık görülen HastV-1 olduğu bildirilmiştir (Yargın 2012, Coşar 2017). Astroviruslar, 60°C'de 5 dakika ısıl işleme dayanıklı iken, 10 dakikalık ısıl işleme dayanıksızdır (Aydoğan 2016). Astroviruslar aside oldukça dirençlidir ve fekal oral yolla bulaştıklarından; sıklıkla 1-3 yaş arası çocuklarda ishal etkeni arasında yer almaktadır (Ağın 2010).

Aichi virus, *Picornaviridae* ailesi *Kobuvirus* cinsine ait virüstür. 1989'da Japonya'da istiridyeye ilişkili gastroenterit etkeni olarak tanımlanmıştır (Yargın 2012). Günümüzde moleküler yöntemlerdeki gelişmeler sayesinde tanımlanan Aichi virus, Parechovirus ve Enteroviruslar'ın gastroenterit etkeni olduğu saptanmıştır (Akhter ve ark. 2014).

Echovirus 22 olarak da bilinen İnsan Parechovirus Tip 1 (HPeV), *Picornaviridae* ailesi *Parechovirus* cinsine ait; sıklıkla gastroenterit ve solunum yolu hastalığı olan çocuklardan izole edilmiş bir virüstür (Yargın 2012). Enteroviruslar olarak da adlandırılan Poliovirus, Coxackie virüs ve Echoviruslar dışkıdan kolaylıkla izole edilebilmelerine karşın, ishal etkeni olarak nadiren görülmektedir (Ağın 2010).

Torovirus, *Coronaviridae* ailesine ait, zarflı, heliksel kapsitli, 100-140 nm çapa sahip, pozitif polariteli tek iplikli RNA virüsüdür. Torovirüsler ilk 1984'te gastroenteritli hastaların gaita örneklerinde saptanmıştır. İmmun sistemi zayıf bireylerde ve nozokomiyal ishallerde çocuklarda Torovirüslerin önemli bir etken olduğu bildirilmiştir (Yargın 2012).

Coronavirus, 60-220 nm boyutlarında, *Coronaviridae* ailesi içinde yer alan, heliksel kapsitli, taç görünümlü zarfa sahip, pozitif polariteli RNA virüsüdür. İnsanda gastroenterit etkeni olarak ilk kez 1975 yılında saptanmıştır. İnsan coronavirüsleri (HCoV) nadiren de olsa çocuklarda ishal etkeni olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmiştir. Çocuklarda gastrointestinal olarak çok patojen olmasa da Norovirus ve

Rotaviruslarla birlikte koenfeksiyonlara sebep olabileceği belirtilmiştir (Yargın 2012).

2.3. GASTROENTERİT ETKENİ VİRÜSLERİN TANISINDA KULLANILAN BAZI YÖNTEMLER

Gastroenterit etkeni viruslarının tanısında; elektron mikroskopi (EM), hücre kültürü, ELISA, lateks aglütinasyon (LA), immünokromatografik test (ICT) ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi birçok yöntemden bütçeye zamana ya da laboratuvarın kapasitesine göre uygun olanları tercih edilebilmektedir (Akhter ve ark. 2014, Şafak 2014). Hücre kültürü yöntemi zaman alıcı olduğu için rutin tanıda tercih edilmezken, ELISA, ICT ve LA gibi yöntemler günümüzde rutin çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır (Akhter ve ark. 2014, Şafak 2014). Bakteriyel gastroenteritlerin tanısında *Clostridium difficile* gibi toksinlerini (toksin A/B) belirlemek amacıyla ELISA ve Enzyme-Linked Fluorescent Assay (ELFA) gibi yöntemler veya paraziter etkenlerin belirlenmesi amacıyla altın standart yöntem olan mikroskopiye ilaveten indirekt yöntemler (serolojik testler) kullanılmaktadır (Aras 2011, Akçalı 2013, Başköy 2017).

Elektron mikroskobisi (EM): Virüslerin görülmesi ışık mikroskobuyla mümkün olmadığından daha fazla (100.000 kat) büyütme imkânı sağlayan elektron mikroskobisi yöntemi virüs tanısında kullanılan bir yöntemdir. Bu mikroskopta ışık yerine elektronlar kullanılarak elektromanyetik alanlara odaklanarak virüslerin görüntülenmeleri mümkün hale getirilmiştir. Ancak oldukça maliyetli olduğundan her laboratuvarında rutinde kullanılamamaktadır (Akçalı 2013).

Lateks aglütinasyon testleri (LAT): Antijen ile antikorun birleşmesi sonucu gözle görülür aglütinasyon (çökeltme) gözlenmesine dayanan; antikor kaplı ve boyalı lateks ya da koloidal altın partikülleri kullanılarak yapılan, hızlı serolojik teşhis yöntemidir (Aras 2011). Enfeksiyonun erken döneminde duyarlılığı yüksek, enfeksiyonun geç döneminde ise duyarlılığı düşük olduğundan ELISA'ya göre daha az tercih edildiği söylenebilir (Kurugöl 2001).

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA): Çoğunlukla antikor saptanması amacıyla kullanılan ancak antijen saptanması içinde kullanılan yöntemdir (Akçalı 2013). Mikropalaklar kullanılarak antikor antijen ilişkisi ile antikorlara bağlanan enzimin aktivitesinin gözlenmesine dayanan bir yöntemdir (Kurugöl 2001).

İmmünokromatografik test (ICT): Renk değişikliği yöntemiyle kaset ya da kart şeklinde oluşturulan ve aranan etkenin antijeninin, özgül antikorlar kullanılarak çökmesi ile kaset ya da kart test üzerindeki bantlarda renk değişikliği saptanmasına dayanan bir antijen saptama yöntemidir (Akçalı 2013).

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR/PZR): Patojen mikroorganizmalara ait gen bölgelerinin (DNA/RNA parçalarının) çoğaltılması ve görüntülenmesi prensibine dayanan yöntemdir (Aras 2011). Bu yöntem pek çok mikroorganizmanın gen sekanslarının yapılmasında ve özellikle günümüzde virüslerin alt tiplerinin belirlenmesine oldukça önemli ve duyarlılığı yüksek olduğu için tercih edilen bir yöntemdir (Aras 2011).

2.4. TEDAVİ

Rotavirus, Adenovirus ve Norovirus gibi virüslerin neden olduğu ishallerin tedavisinde temel amaç; ishal ve kusma sonucu oluşan sıvı ve elektrolit kaybını önlemektir (Balkan 2011). Virüs etkenli enfeksiyonlarda antibiyotiklerin etkisiz olduğu bilindiğinden ve akut ishal çoğunlukla kendiliğinden iyileşme gösteren bir hastalık olduğundan ilaç tedavisi gereksiz görülmektedir (Ağın 2010). Gastroenteritlerde ve özellikle de Rotavirus ishallerinin tedavisinde oral rehidratasyon terapisi (ORT), intravenöz sıvı ile sıvı ve elektrolit dengesi sağlanmaktadır (Balkan 2011). Sıvı tedavisinde yaş ve sıvı kaybının derecesi önemlidir (Tuğcu 2010). Çok ağır dehidrate olmamış çocuk hastalar oral rehidratasyon solüsyonunun doğru ölçülerde verilmesiyle tedavi edilebilir (Balkan 2011). Ancak ciddi şekilde dehidratasyon söz konusu ise ve oral yolla tedavi mümkün değilse intravenöz sıvılara başvurulmalıdır (Balkan 2011). Bunlar dışında Rotavirus, Adenovirus ve Norovirus enfeksiyonlarında tedavi için kullanılacak onay almış antiviral bir ilaç bilinmemektedir (Akçalı 2013).

2.5. KORUNMA

Küçük yaşlardaki çocuklarda anne sütü ile beslenmenin gastroenteriti ve birçok hastalığı önleyen en etkili ve kolay korunma yöntemi olduğu bilinmektedir (Ağın 2010). Anne sütünün özellikle kolostrumun (doğumdan sonraki ilk süt) antikor içermesi, bebeğin immünojenik yanıtını artırma ve pasif bağışıklık sağlama, bağırsağı koruyan ve uygun bağırsak florasının devamını sağlayan faktörler içermesi gibi önemli koruyucu etkisi bulunduğundan korunmada etkilidir (Altunay 2007, Ağın 2010). Gastroenterit etkenlerinin çoğunlukla fekal-oral yolla bulaştığı düşünüldüğünde virüs bulaşını azaltmada el hijyeninin önemli olduğu, ayrıca çocukların cisimleri ağızlarına götürme potansiyelleri göz önüne alındığında kontamine yüzeylerin ve cisimlerin hemen dezenfekte edilmesi gerektiği söylenebilir (Tat 2018). Bu önlemler Rotavirus enfeksiyonlarının hijyen koşullarından bağımsız olarak ortaya çıktığı durumlarda Rotavirus gastroenteritlerini önlemeyebilir. Bu nedenle Rotavirus enfeksiyonlarına karşı korunmada aşılama yöntemi kullanılabilir (Franco M.A., Angel J., Greenberg H.B., 2006, Öztaş 2014). Adenovirus'lardan korunmak için askeri bölgelerde kullanılan bir aşı geliştirilmiş ancak günümüzde üretimi yoktur (Akçalı 2013). Norovirus'tan korunmak için üretilen bir aşı henüz bulunmamaktadır.

2.5.1. Rotavirüs Aşısı

Rotavirus enfeksiyonlarında doğal olarak ve ilk geçirilen enfeksiyonla ikinci geçirilen enfeksiyonun daha ağır geçirilmesini engellediğini gösteren çalışmalar sayesinde aşı çalışmaları önem kazanmıştır (Ward ve Benstein 1994, Ağın 2010). Rotavirus aşısı, doğal enfeksiyonu taklit edecek şekilde hazırlanır ve oral yolla uygulanır (Öztaş 2014). İlk aşı denemeleri değişik hayvan gruplarından elde edilen rotavirüs suşları kullanılarak üretilen monovalan aşılar fakat istenilen bağışıklığı sağlayamadığı için insan RV'lerinin kullanılması gerektiğine karar verilmiştir (Aydın 2016). İnsan RV'nin hücre kültüründe üretilmesi zor olduğu için, aşı çalışmalarında değişik hayvanlardan elde edilen Rotaviruslar zayıflatılarak ve insan virüsleriyle genetik değişim sağlanarak çalışmalarda kullanıldığı bilinmektedir (Ağın 2010). İlk

olarak insan-maymun reassortant Rotavirus aşısı (RotaShield) 1990'larda geliştirilmiş ve güvenli ve etkili olduğu gösterilmiş ancak ABD'de 1.2 milyon doz aşı uygulamasından sonra 15 hastada invajinasyon (bağırsak düğümlenmesi) nedeni ile piyasaya verildikten 1 yıl sonra, Ekim 1999' da, ruhsatı devam etmesine rağmen kullanımdan çekildiği bildirilmiştir (Angel, Franco and Greenberg 2007, Tapısız 2010).

Yapılan birçok çalışma ve denemeler sonucunda günümüzde Rotarix (monovalan insan rotavirüs aşısı) ve Rotateq (pentavalan insan-sığır reassortant) adındaki iki yeni aşı kullanıma sunulmuştur (Kurugöl 2007, Zafer 2010). Rotarix 2 doz (2. Ay ve 6. Ay) uygulanan atenüe özellikte (monovalan insan rotavirüs aşısı) iken, Rotateq 3 doz (ilk doz 2. Ay ve diğer dozlar en az 1 ay arayla ilk 8 ay içinde) uygulanan bir aşıdır (Mercan 2009).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ÇALIŞMANIN AMACI

Bu tez çalışmasında Sakarya’da *Rotavirus*, *Adenovirus* ve *Norovirus* enfeksiyonunun tanısında immünokromatografik ile gerçek zamanlı PCR yöntemleri ile elde edilen sonuçların analiz edilerek bu testlerin karşılaştırılması ve tanıdaki yerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

3.2. ETİK KURUL ONAYI

Bu tez çalışması Etik Kurul Başvuru Dosyası 05.01.2015 tarih ve 15 sayılı başvuru ile T.C. Sakarya Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu’ndan 21.01.2015 tarih ve 17 sayılı Etik Kurul Kararı ile 22.01.2015 tarihinde onay olarak hazırlanmıştır. Etik kurul onayı Ek 2’dedir.

3.3. KULLANILAN MALZEMELER

- Ependorf tüp
- Mikropipet ve mikropipet ucu (Almanya, Amerika Birleşik Devletleri)
- Aerosol filtreli pipet ucu (Amerika Birleşik Devletleri)
- İmmunokromatografik test: True Line Rota/Adeno Kaset Test® (Biocare Diagnostic, Zhunzai, Çin Halk Cumhuriyeti)
- Fosfat tamponu: AMRESCO® Phosphate Buffered Saline Tablets (Fosfat Tamponlu Tuzlu Tablet), Kod: E404-100TABS (Solon, Ohio, ABD)
- DNA/RNA izolasyon kiti: QIAGEN EZ1® Virüs Mini Kit v2.0 (Almanya)
- PCR kiti: MutaPLEX® GastroSys1 Multipleks Real time RT-PCR Kit (Almanya)

3.4. ÖRNEKLERİN TOPLANMASI VE SAKLANMASI

Çalışmamızda 2015-2016 Aralık-Mayıs (kış-ilkbahar) döneminde Sağlık Bakanlığı Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Merkez Kampüsü ve Doğumevi acil servis, çocuk polikliniklerine ishal ve kusma şikayetiyle başvuran ve yatan hasta servisinde ishal ve kusma belirtileri olan 0-15 yaş arası çocuklardan tetkik-tanı amacıyla alınan gaita örnekleri kullanılmıştır. Hastalardan ayrıca gaita örneği istenmemiştir. Örnekler Sakarya Üniversitesi Eğitim Araştırma Hastanesi ve Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında çalışılmıştır. İshal yakınmasıyla pediatri polikliniklerine ve acile başvuran ya da hastanede yatarken ishal gelişen çocuklar için 7 sorudan oluşan anket formu ile demografik bilgiler elde edilmek istenmiştir.

Hastalardan alınan gaita kabındaki örnekler, öncelikle Rota/Adenovirus ICT test kiti ile test edilmiş ve Rotavirus ya da Adenovirus pozitif sonuç alınan (Rotavirus ya da Adenovirus bakımından en az biri pozitif çıkan) (n=67) örnekler ile Rota/Adenovirus negatif ve bakteriyel/paraziter olarak negatif sonuç alınan (ishalli olan hastalardan alınan ancak negatif çıkan) (n=17) örnekler de (toplam 84 örnek) çalışmaya dahil edilmiştir. Bu örnekler 1.5 ml'lik 2 ayrı ependorf tüplere uygun bir şekilde alınarak ve numaralandırılarak -80°C de saklanmıştır.

3.5. İMMUNOKROMATOGRAFİK TEST

84 hasta çocuktan alınan gaita örnekleri True Line Rota/Adeno Cassette Test® (Biocare Diagnostic, Zhunzai, Çin Halk Cumhuriyeti) kiti ile test edilmiştir. Test taze gaita örneği ile çalışılmıştır. Gaita örneği oda sıcaklığında (15-20°C) en fazla 6 saat durabilir. Daha geç çalışılacak örnekler buzdolabında (+4°C) en fazla 72 saat saklanabilir. İmmünokromatografik test (kaset test) şu şekilde çalışılmıştır;

- Gaita kabının kapağı dikkatlice açıldı.

- Test kiti içindeki tüpteki solüsyona bir miktar (sulu ise 2 damla ya da 50 µl) gaita alınarak iyice çalkalandı ve solüsyon içinde homojen bir şekilde dağılması sağlandı.
- Daha sonra içinde homojenize olmuş gaita bulunan tüpün ucu kırıldı.
- Ucu kırılmış tüpteki homojenize olmuş solüsyon+gaita karışımından kit içindeki kart test kuyucuğuna 2- 5 damla (80 µl) kadar damlatıldı.
- Net sonuç vermesi için 10-15 dakika kadar beklendi.
- Kart test üzerindeki kontrol çizgisi (C bölgesi) hiç görülmediğinde test geçersiz kabul edildi.
- Kart test üzerinde kontrol çizgisi (C çizgisi) ve sadece Adeno (A bölgesi) görülürse Adeno pozitif, kontrol çizgisi (C çizgisi) ve sadece Rota (R bölgesi) çizgisi belirgin halde görüldüğünde Rota pozitif, kontrol çizgisi (C çizgisi) ve Adeno ve Rota çizgileri belirgin halde görüldüğünde Adeno ve Rota pozitif, sadece kontrol çizgisi belirgin halde görüldüğünde de negatif sonuç kabul edildi.

3.6. ÖRNEKLERİN DNA/RNA İZOLASYONU VE PCR İŞLEMİ

3.6.1. ÖN İŞLEM

İzolasyondan önce gaita örnekleri sırasıyla aşağıdaki işlemlerden geçirildi;

- -80°C deki örnekler oda sıcaklığına çıkartıldı, çözünmesi beklendi.
- Ön işlem aşamasında kullanılacak Fosfat tamponu için phosphate buffered saline tabletinden 1 adet uygun steril bir kaptan 1000ml deiyonize suda eritildi.
- Çözünen örnekler üzerine AVE eklenir, homojenize olması için 10 saniye kadar vortekslendi.
- Her bir örnek için örnek numarası yazılı ependorf tüp hazırlandı.
- Homojenize edilen örneklerden 100µl alınıp örnek numarası yazılı olan ayrı bir ependorfa aktarılıp üzerine 900µl fosfat tamponu eklenip 30sn kadar vortekslendi.
- Vortekslenen örnekler 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
- Örnekler +70°C de 10 dakika 500 rpm'de ısıtma özelliği olan çalkalayıcıda inkübe edildi.

İnkübasyon bittikten sonra izolasyon aşamasına geçildi.

3.6.2. DNA/RNA İZOLASYONU

Örneklerin bir kısmı EZ1 ADVANCED otomatik izolasyon cihazının virüs el kitapçığı protokolüne göre izole edildi. EZ1'e (Qiagen, Almanya) örneklerin hazırlanışı ve yüklenmesi sırasıyla aşağıdaki gibi yapıldı.

1. Her bir örnek için 1,5 ml'lik boş tüp üzerlerine örnek numaraları yazılarak cihazın çalışma rack'ının A1 (B1, C1, D1, E1 ve F1) pozisyonuna yerleştirildi.
2. A2 (B2, C2, D2, E2 ve F2) pozisyonuna; pipet uçları ve uçları tutan haznelere yerleştirildi.
3. A3 (B3, C3, D3, E3 ve F3) pozisyonuna; 60'ar µl (56,2 buffer + 3,8 carier RNA) hazırlanan C-RNA + Elüsyon Buffer (AVE) + Internal Control (IC) karışımı içeren 1,5 ml'lik tüpler yerleştirildi.
4. A4 (B4, C4, D4, E4 ve F4) pozisyonuna; 400 µl'lik ön işlemde geçmiş gaita örneği içeren 2 ml'lik tüpler yerleştirildi.
5. Çalışma rack'ı cihaz içine uygun bir şekilde yerleştirilir ve cihaz 150µl elüsyon alınacak şekilde ayarlandı.

İzolasyonu tamamlanan örnekler cihazdan çıkartıldı ve PCR işlemine geçildi. Eğer PCR işlemi hemen yapılmayacaksa elüsyonlar -20°C'lik derin dondurucuda saklandı.

3.6.3. PCR Aşaması

Örneklerin izolasyonu yapıldıktan sonra PCR işlemine geçilmeden önce kullanılan PCR (MutaPLEX® GastroSys 1 real time RT-PCR kit) kitinin kullanım kılavuzundaki protokole uygun olarak cihazın kurulumu tablodaki gibi yapıldı. Bu kit ile Rotavirus ve Norovirus (G1 ve G2) RNA'sı ile Adenovirus DNA'sı kalitatif olarak saptanabilmektedir.

Tablo 3. Gerçek zamanlı RT-PCR sıcaklık ayarı.

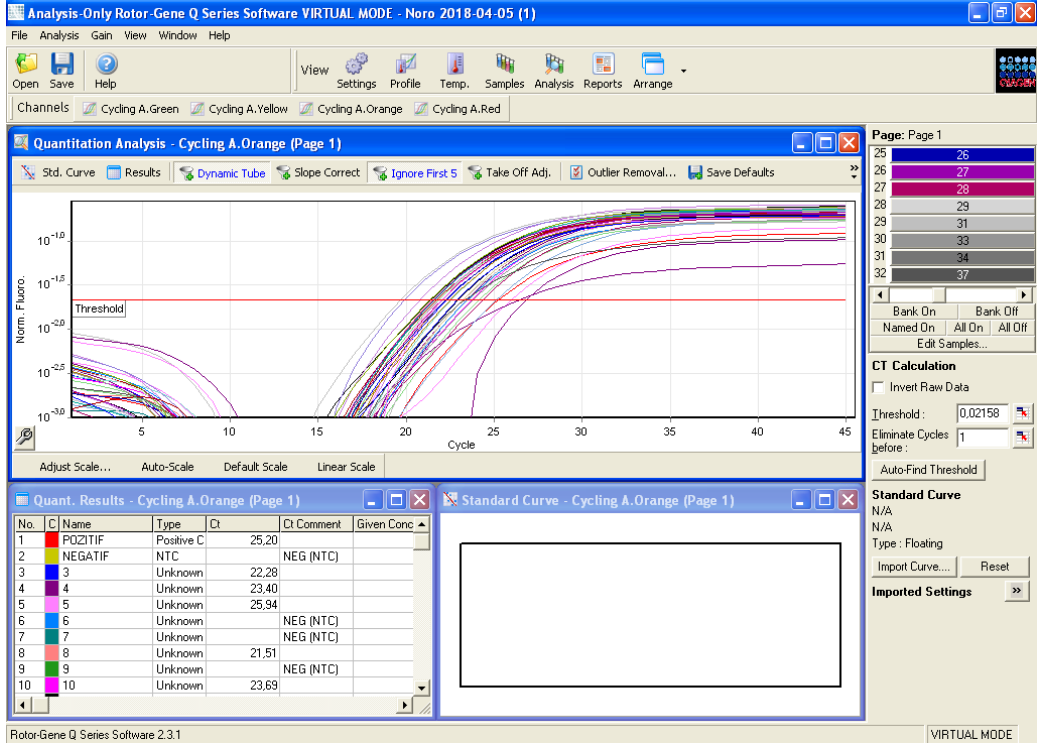
| TANIM | ZAMAN | SICAKLIK | DÖNGÜ SAYISI |
|--|-------|----------|--------------|
| Ters transkripsiyon | 10 dk | 45°C | 1 |
| İlk denatürasyon | 5 dk | 95°C | 1 |
| cDNA amplifikasyonu | | | |
| Denatürasyon | 10 sn | 95°C | 45 |
| Kaynaştırma- uzatma | 40 sn | 65°C * | |
| *bu aşamadan sonra işlem sonuçları elde edilir | | | |

PCR aşaması için örnek sayısına göre master mix hazırlanır. PCR kitinin kullanım kılavuzuna göre Master mix hazırlanışı tablodaki gibidir.

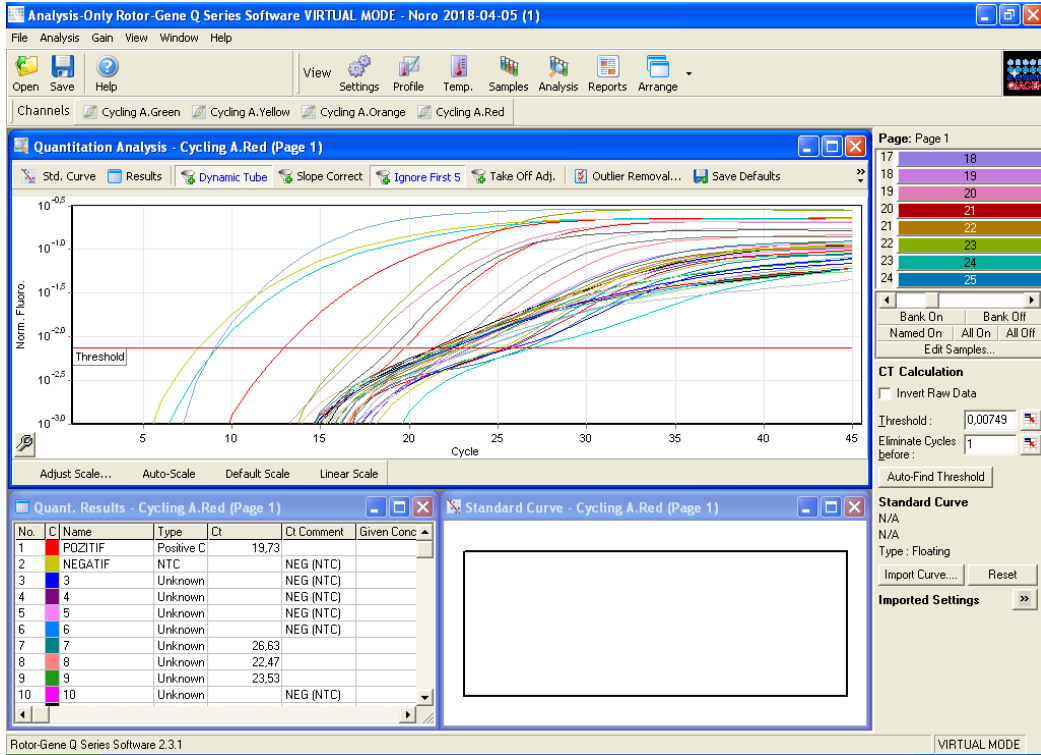
Tablo 4. Master mix hazırlanışı.

| Reaksiyon için hacim miktarı | Master mix hacimi |
|------------------------------|-------------------|
| 15.8 µl reaksiyon mix (A1) | 15.8 µl X (N+1) |
| 0.2 µl Enzim (A2) | 0.2 µl X (N+1) |
| 0.2 µl kontrol RNA (A5) | 0.2 µl X (N+1) |
| * (1:10 dilüe et: sulandır) | |

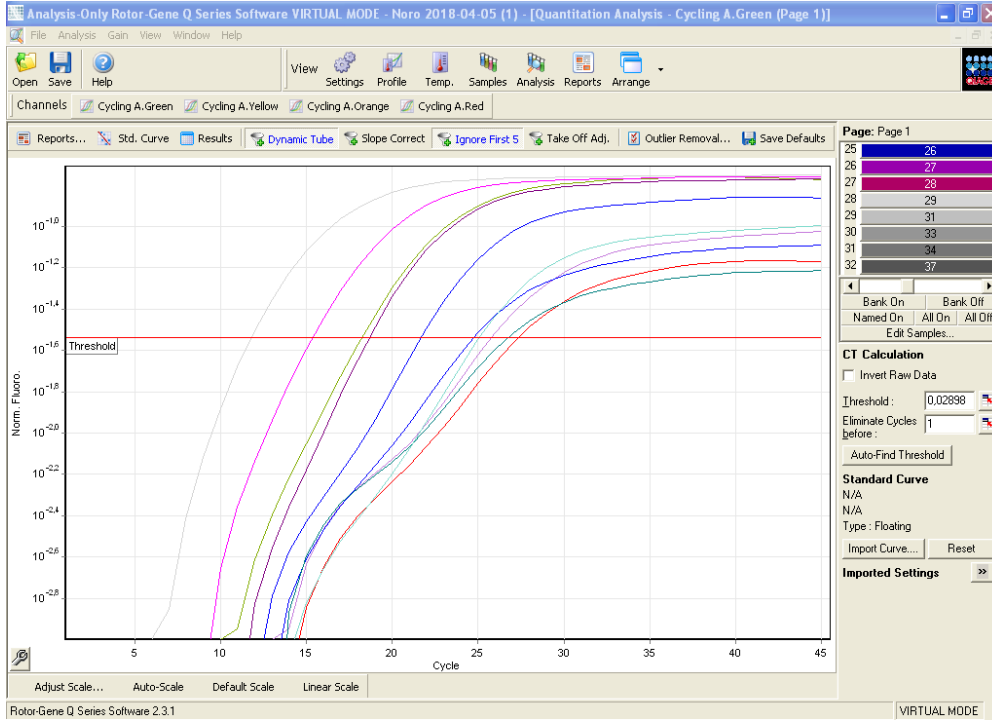
İzole edilen örnekler için örnek sayısının 2 fazlası kadar (pozitif ve negatif kontrol için) 100µl'lik PCR tüpü hazırlanır ve her bir PCR tüpüne 16 µl Master mix ve örnek numara sırasına göre her bir örnekten 4 µl eklenerek PCR tüpünün kapakları kapatılıp cihaza yerleştirildi. Yaklaşık 2 saatlik PCR aşamasından sonra sonuçlar analiz edilerek yorumlandı. Analiz ekran görüntüleri Şekil 3-5'de gösterilmiştir. Orange kanalı Rotavirüs, Red kanalı Adenovirüs, Green kanalı Norovirüs analizini göstermektedir.



Şekil 3. Orange kanalı Rotavirüs Analiz ekranı görüntüsü.



Şekil 4. Red kanalı Adenovirüs Analiz ekranı görüntüsü.



Şekil 5. Green kanalı Norovirüs Analiz ekranı görüntüsü.

3.7. İSTATİSTİK

Çalışmamızda hastalara ait örneklerin PCR-ICT sonuçlarının frekans analizleri, Pearson korelasyon testi (r değeri), ROC curve testi, sensitivite (duyarlılık) ve spesifite (özgüllük) hesaplamaları yapılmıştır. Pearson korelasyon analizinde; $r < 0.2$ ise çok zayıf ilişki yada korelasyon yok, $0.2-0.4$ arasında ise zayıf korelasyon, $0.4-0.6$ arasında ise orta düzeyde korelasyon, $0.6-0.8$ arasında ise yüksek korelasyon, $0.8 >$ ise çok yüksek korelasyon olduğunu göstermektedir. ICT testlinin mültipleks PCR'a göre göre tanısal performansını belirlemek için ROC eğrisi altındaki alan (AUC), duyarlılık, özgüllük ve pozitif ve negatif prediktif değerler hesaplandı. Hesaplanan AUC değeri 1'e yaklaştıkça testin referans yönteme uyumu açısından daha değerli kabul edilmektedir. Çalışmalarda IBM SPSS 22.0 versiyonu (IBM Corp., Armonk, NY, ABD) kullanılmıştır. p değeri < 0.05 anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Sağlık Bakanlığı Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Merkez Kampüsü ve Doğumevi Kampüsü poliklinik, acil ve yatan hasta servislerine 2015-2016 yıllarının ilkbahar kış döneminde başvuran çocuk hastalardan gaita örnekleri alınmıştır. Alınan gaita örnekler immünokromatografik test ile Rotavirus ve Adenovirus açısından test edilmiştir. Bu örnekler içinden 84 tanesi PCR yöntemi ile Rotavirus, Adenovirus ve Norovirus açısından araştırılmıştır. İmmünokromatografik test sonucu ve PCR yöntemi Adenovirus ve Rotavirus sonuçları karşılaştırılmıştır.

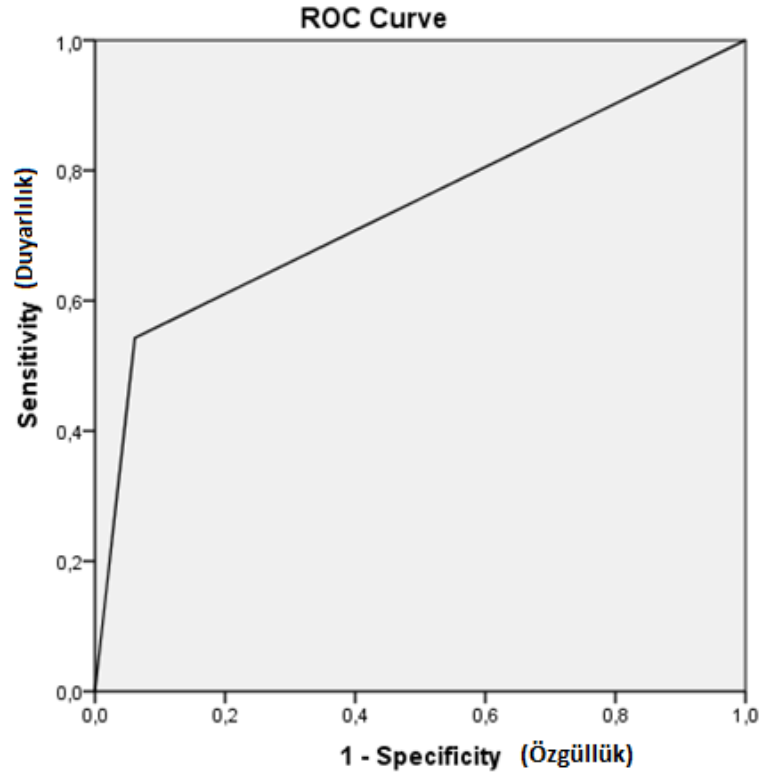
Çalışmaya dahil edilen 84 hastanın demografik verileri incelendiğinde; 42'sinin (%50) kız, 42'sinin (%50) erkek hasta olduğu; 57'sinin (%67.9) 0-24 ay arası, 16'sının (%19) 25-60 ay arası, 11'inin (%13.1) ise 60 ay üstü hastalar olduğu belirlenmiştir. Bu hastaların 17'sinin (%20.2) kırsalda, 67'sinin (%79.8) kentte yaşadığı; 60'ının (%71.4) şebeke suyu, 2'sinin (%2,4) kuyu suyu, 11'inin (%13.1) şişe damacana suyu, 5'inin (%6) kaynatma su, 6'sının (%7.1) ise arıtma suyu kullandığı tespit edilmiştir. Ayrıca 79'unun (%94) tarım-hayvancılık ilişkisi olmadığı ve 5'inin (%6) tarım-hayvancılık ilişkisi olduğu; 83 hastanın aşısız, 1 hastanın ise Rotavirus aşısı olduğu anket verileri doğrultusunda belirlenmiştir. 84 hastanın hastane verileri incelendiğinde 34'ünün (%40.5) poliklinik, 20'sinin (%23.8) yatan hasta ve 30'unun (%35.7) acil servise başvurduğu tespit edilmiştir (Tablo 5).

Tablo 5. Hastalara ait demografik veriler.

| Demografik özellikler | SAYI | YÜZDE | |
|-----------------------------------|----------------|--------------|------|
| YAŞ | 0-24 AY | 57 | 67,9 |
| | 25 AY-60 AY | 16 | 19 |
| | 60 AY ÜZERİ | 11 | 13,1 |
| | Total | 84 | 100 |
| CİNSİYET | ERKEK | 42 | 50 |
| | KIZ | 42 | 50 |
| | Total | 84 | 100 |
| KLİNİK | POLİKLİNİK | 34 | 40,5 |
| | YATAN | 20 | 23,8 |
| | ACİL | 30 | 35,7 |
| | Total | 84 | 100 |
| YAŞADIĞI YER | KIRSAL | 17 | 20,2 |
| | KENT | 67 | 79,8 |
| | Total | 84 | 100 |
| KULLANILAN SU | ŞEHİR ŞEBEKESİ | 60 | 71,4 |
| | KUYU | 2 | 2,4 |
| | ŞİŞE/DAMACANA | 11 | 13,1 |
| | KAYNATMA | 5 | 6 |
| | ARITMA | 6 | 7,1 |
| | Total | 84 | 100 |
| TARIM HAYVANCILIK İLİŞKİSİ | VAR | 5 | 6 |
| | YOK | 79 | 94 |
| | Total | 84 | 100 |
| AŞI | EVET | 1 | 1,2 |
| | HAYIR | 83 | 98,8 |
| | Total | 84 | 100 |

Çalışmaya dahil edilen 84 hastaya ait gaita örneğinin (Rota/Adeno en az biri pozitif 67 örnek ve 17 negatif örnek) Rotavirus sonuçları; ICT yöntemi ile 62'si (%74) pozitif, 22'si (%26) negatif; gerçek zamanlı PCR yöntemi ile 49'u (%58.5) pozitif, 35'i (%41.5) negatif olarak tespit edilmiştir. Rotavirus için ICT ve PCR sonuçları sayı ve yüzdeler şeklinde Tablo 6'da verilmiştir. Rotavirus için ICT ve PCR sonuçları analiz edildiğinde iki test arasında anlamlı uyum olduğu ancak orta düzeyde uyum olduğu gözlenmiştir (Rotavirus ICT/Rotavirus PCR $r:0.540$, $p<0.001$). Gerçek zamanlı PCR referans yöntem kabul edildiğinde; Rotavirus ICT

duyarlılığı; %93, özgüllüğü; % 54.3, PPD; %74, NPD; %76.4 olarak hesaplanmıştır. ICT testi ile Rotavirus için 3 örnekte (%3.5) yanlış negatif, 16 örnekte (%19) ise yanlış pozitif olduğu tespit edilmiştir. Rotavirüs ICT/PCR ROC eğrisi Şekil 6'da gösterilmiştir (AUC değeri; 0.741).

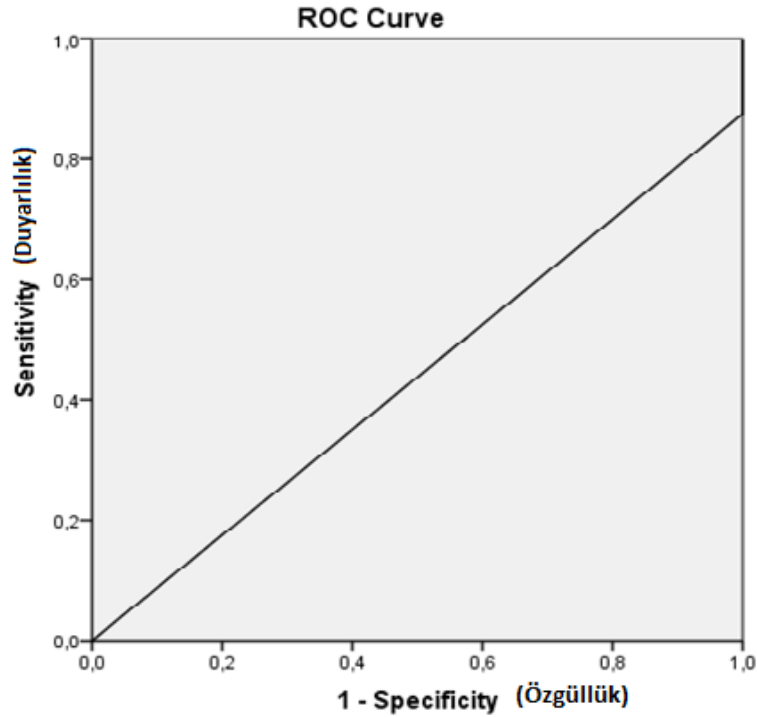


Şekil 6. Rotavirüs ICT/PCR ROC eğrisi.

Tablo 6. Rotavirus için gerçek zamanlı PCR ve ICT pozitif-negatif sayı ve yüzdeleri.

| | | ROTA GERÇEK ZAMANLI PCR | | | | Total |
|----------|---------|-------------------------|------|---------|------|-------|
| | | POZİTİF | | NEGATİF | | |
| | | N | % | N | % | |
| ROTA ICT | POZİTİF | 46 | 55 | 16 | 19 | 62 |
| | NEGATİF | 3 | 3,5 | 19 | 22,5 | 22 |
| Total | | 49 | 58,5 | 35 | 41,5 | 84 |

Çalışmaya dahil edilen 84 hastaya ait gaita örneğinin (Rota/Adeno en az biri pozitif 67 örnek ve 17 negatif örnek) Adenovirus sonuçları: ICT yöntemi ile 5'i (%6) pozitif, 79'u (%94) negatif; gerçek zamanlı PCR yöntemi ile 40'ı (%48) pozitif, 44'ü (%52) negatif olarak tespit edilmiştir (Tablo 8). Adenovirus için ICT ve PCR sonuçlarının sayı ve yüzdeler Tablo 7'da verilmiştir. Adenovirus için ICT ve PCR sonuçları analiz edildiğinde iki test arasında anlamlı uyum olduğu ancak oldukça zayıf/düşük düzeyde uyum olduğu gözlenmiştir (Adenovirus ICT/Adenovirus PCR r: 0.264, $p < 0.016$). Gerçek zamanlı PCR (RT-PCR) referans yöntem kabul edildiğinde; Adenovirus ICT duyarlılığı; %12.5, özgüllüğü; %100, PPD; %100, NPD; %55.7 olarak hesaplanmıştır. ICT Adenovirus sonuçlarından 35'inin (%42) yanlış negatif olduğu tespit edilmiştir. Adenovirüs ICT/PCR ROC eğrisi Şekil 7' de gösterilmiştir (AUC değeri; 0.438).



Şekil 7. Adenovirüs ICT/PCR ROC eğrisi.

Tablo 7. Adenovirus için gerçek zamanlı PCR ve ICT pozitif-negatif sayı ve yüzdeleri.

| | | ADENO GERÇEK ZAMANLI PCR | | | | Total |
|-----------|---------|--------------------------|----|---------|----|-------|
| | | POZİTİF | | NEGATİF | | |
| | | N | % | N | % | |
| ADENO ICT | POZİTİF | 5 | 6 | 0 | 0 | 5 |
| | NEGATİF | 35 | 42 | 44 | 52 | 79 |
| Total | | 40 | 48 | 44 | 52 | 84 |

Çalışmamıza dahil edilen 84 hastada (Rota/Adeno en az biri pozitif 67 örnek ve 17 negatif örnek) sadece gerçek zamanlı PCR yöntemi ile Norovirus araştırılabilmış olup, bu 84 hastanın Norovirus sonuçları: 11'i (%13) pozitif, 73'ü (%87) ise negatif olarak bulunmuştur (Tablo 8).

Tablo 8. Hastaların (n=84) gerçek zamanlı PCR ve ICT yöntemlerine göre Rotavirus, Adenovirus ve Norovirus sonuçları.

| | | POZİTİF | | NEGATİF | |
|-------|-----|---------|----|---------|----|
| | | n | % | n | % |
| ROTA | ICT | 62 | 74 | 22 | 26 |
| | PCR | 49 | 58 | 35 | 42 |
| ADENO | ICT | 5 | 6 | 79 | 94 |
| | PCR | 40 | 48 | 44 | 52 |
| NÖRO | PCR | 11 | 13 | 73 | 87 |

PCR yöntemiyle test edilen örneklerden 23 tanesinde Adenovirüs ve Rotavirüs birlikte pozitif olarak tespit edilmiştir. ICT yöntemiyle Rota/adenovirüs bakımından negatif çıkan 17 örnek PCR yöntemiyle incelendiğinde; 6 tanesi Adenovirüs pozitif, 1 tanesi Rotavirüs pozitif, 1 tanesi ise Adenovirüs ve Norovirüs birlikte pozitif olduğu saptanmıştır.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Başta Rotavirus, Adenovirus ve Norovirus gibi virüsler olmak üzere virüsler, gastroenterit olgularının önde gelen etkenleri arasındadır. Diyare halen tüm dünyada ilk sıralarda yer alan ölüm nedenleri arasındadır. Dolayısıyla, ishal/diyare vakalarında hızlı ve doğru bir şekilde tanı konulması ve sıvı kaybının yerine konulması gerekir. Ülkemizde viral gastroenterit etkenlerinin tanısında kullanılan yöntemlerin karşılaştırıldığı az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu tez çalışmasında adı geçen viral gastroenterit virüslerinin tanısında kullanılan testlerin mukayese edilmesi amaçlanmıştır.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda kullanılan tanı yöntemleri ve bildirilen oranlar aşağıda özetlenmiştir. Bunlar;

0-5 yaş arası gastroenteritli çocuklarda ICT ile Rotavirus antijeni pozitifliği; %12.2-38.9, Adenovirus antijeni pozitifliği; %4,3-8.2, Rotavirus-Adenovirus birlikte pozitifliği %0.3-0,86 oranında bildirilmiştir. (İpek, Paketçi, Bozaykurt ve Seren 2009, Balcı-Işık, Polat, Çevüt, Canural, Görüşen ve Sarı 2010, Tapırsız'ın 2010, Balkan, Çelebi, Çelebi ve Altoparlak 2012, Şanal'ın 2013, Iraz ve Ceylan 2013, Yarkın, Yıldırım, Çelik, Demirhindi ve Köksal 2016).

0-16 yaş arası çocuklarda ICT yöntemi ile 2009-2012 yıllarında %16.7-31.8 oranında Rotavirus antijeni pozitif bulunmuştur (Atalay, Kandemir ve Gökahmetoğlu 2013, Berk ve Kayman'ın 2011). Diğer bir çalışmada aynı yöntemle aynı yaş grubunda Adenovirus pozitifliği %1-4.4, Rotavirus-Adenovirus birlikte pozitifliği %0.4 oranında bildirilmiştir (Kurtoğlu, İnci, Özdemir ve Baykan 2010, Tekin 2010, Yüksel, Çelik, Güngördü, Ziver, İzmirli, Yakar, Sarıbaş, Aslan ve Kocazeybek 2011).

Ülkemizde ICT yöntemi dışında ELISA ve PCR gibi yöntemlerin kullanıldığı sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Bunlar aşağıda sunulmuş olup, yapılan taramalarda ICT ve PCR yöntemlerinin karşılaştırmasının yapıldığı bir çalışmaya ulaşılamamıştır.

Özdemir ve ark, Mersin ilinde yaptıkları çalışmada 0-6 yaş arası 363 akut gastroenteritli çocuğun gaita örneğinde sandviç ELISA yöntemi kullanarak Rotavirus, Adenovirus ve Astrovirus araştırmış; 161 (%44.4)'inde viral etken bulmuş; viral etkenlerin %72.6 (117)'sının Rotavirus, %23.6'sının (38) Adenovirus ve %3.7'sinin (6) Astrovirus olduğunu bildirmişlerdir (Özdemir, Delialioğlu ve Emekdaş 2010). Diğer bir çalışmada aynı yaş grubu için ICT ile %12.4 Rotavirus, %1.9 Adenovirus ve %0.5 Rotavirus-Adenovirus birlikte pozitifliği tespit edilmiştir (Şafak 2014).

Samancı ve ark, 0-18 yaşları arasında ishal şikayetiyle başvuran 55035 hastanın gaita örneğinde EIA yöntemiyle %14.1 oranında Rotavirus antijeni tespit edilmiştir (Samancı, Köşker, Çelik ve Araç 2018). Diğer bir çalışmada aynı yaş grubu için ICT ile % 15.5 Rotavirus pozitifliği rapor edilmiştir (İlkaç, Şahin, Nazik ve Öngen 2012).

Demiray ve ark.'nın ICT yöntemi ile çalışmada toplamda 7994 çocuk hastadan %5.7'sinin Rotavirus, %2.2'sinin Adenovirus antijeni pozitif olduğu bildirilmiştir (Demiray ve ark. 2016). Akhter ve ark'nın çalışmasında; 50 hasta çocuğun gaita örneğinde PCR çalışılmış ve 31 örnekten 12 tanesinde viral etken saptanmış olup; viral etkenlerin 8'inin (%67) Norovirus, 2'sinin (%17) Rotavirus, 1'inin (%8) Sapovirus ve 1'inin de (%8) ise Astrovirus olduğu belirtilmiştir. Akhter ve ark. çalışmalarında diğer çalışmalardan farklı sonuç almalarının sebebinin kullanılan yöntemlerin farklılığından ve bölgesel farklılıktan olabileceğini düşünmüşlerdir (Akhter ve ark. 2014).

Altındış ve ark'nın 2016'da yayınlanan çalışmasında 0-6 yaş arası çalışmaya dahil edilen örnekler ELISA, RT-PCR ve immünokromatografik test yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır. 150 çocuğun gaita örneği immünokromatografik kaset

test ile araştırılmış, 60 (%40)'ında Rotavirus pozitif bulunmuştur. Rotavirus'un RT PCR ile araştırıldığı 95 olgunun da 15'inde (%15.8) pozitiflik belirlenmiştir. Adenovirus varlığı açısından immünokromatografik yöntemle değerlendirilen 122 gaita örneğinin 6'sında (%4.91) pozitiflik tespit edilmiştir. 92 örnek ELISA test ile araştırılmış 21'inde (%22.8) Norovirus pozitif olarak saptandığı bildirilmiştir (Altındış ve ark. 2016).

Kırdar ve ark'nın çalışmasında; Rotavirus ve Adenovirus antijen testi ile çalışılan toplam 502 dışkı örneğinde Rota/Adenovirus pozitif bulunan 80 örnek PCR yöntemi ile Rotavirus, Norovirus, Astrovirus, Adenovirus ve Bocavirus etkenleri araştırılmıştır. Bu çalışmada antijen testi ile araştırılan 80 dışkı örneğinin 74'ü (%92.5) Rotavirus ve 6'sı (%7.5) Adenovirus olarak bulunmuştur. Mültipleks PZR yöntemi ile araştırıldığında ise 72 (%90) Rotavirus, 6 (%7.5) Norovirus etkeni tespit edilmiştir. Astrovirus ve Adenovirus tespit edilmemiştir (Kırdar, Kahyaoğlu, Yazıcı ve Aydın 2017).

0-5 yaş arası gastroenteritli 251 çocuktan alınan gaita örneği ELISA yöntemi ile araştırılmış ve PAGE ve PCR yöntemi kullanılarak Rotavirus serotiplendirmesi yapılmıştır. Gaita örneklerinden 53 (%21.1)'ünde ELISA ile Rotavirus antijeni tespit edilmiş ve tiplendirme çalışması sonucunda 53 örneğin 31 (%58.5)'inde G tipi, 24 (%45.3)'ünde ise P tipi rotavirüs bulunduğu bildirilmiştir (Meral, Bozdayı, Özkan, Dalgıç, Alp ve Ahmed 2011).

Literatürde mevcut olan uluslararası çalışmalara bakıldığında; viral gastroenterit etkenlerinin farklı metotlarla araştırıldığı ve yöntemlerin karşılaştırıldığı az sayıda çalışma bulunduğu görülmüştür.

Ticari olarak üretilen Rotavirus/Adenovirus ICT kitlerinin prospektüslerinde belirtilen duyarlılık ve özgüllük oranları genellikle %100'e yakın değerlerdir (<https://jcm.asm.org/content/jcm/suppl/2014/12/17/JCM.02251-14.DCSupplemental/zjm999093925so1.pdf> Erişim Tarihi: 08.05.2019). Ancak bizim çalışmamızda düşük duyarlılık ve özgüllük oranları saptanmıştır. Buna benzer şekilde; literatürde Rotavirus ishallerinin tanısında ICT yönteminin duyarlılığının

düşük bulunduğu bazı çalışmalarda rapor edilmiştir (Manjula 2013). Weitzel ve ark. çalışmasında; ICT sonuçlarının PCR sonuçlarına kıyasla duyarlılık ve özgüllüğünü Rotavirus için % 75 ve %95, Adenovirus için %22 ve %84 olarak rapor etmişlerdir (Weitzel, Reither, Mockenhaupt, Stark, Ignatius, Saad, Korkor, Bienzle and Schreier 2007). Literatürde bulunan az sayıda çalışmalardan bir kısmında düşük ve bir kısmında yüksek oranlar bildirilmiştir (Khamrin, Tran, Chan-it, Thongprachum, Okitsu, Maneekarn and Ushijima 2011, Ye, Lambert, Grimwood, Roczo-Farkas, Nimmo, Sloots, Kirkwood, Whileya 2015).

Literatürdeki başka bir çalışmada; yöntemler arasındaki genel uyum oranları rotavirüs için %91.5 ve adenovirüs için %85.5 olarak rapor edilmiştir. Multipleks RT-PCR referans alındığında; ICT yönteminin bizim sonuçlarımızın aksine Adenovirus tanısında performansının yüksek olduğunu belirtmişlerdir (Jayoung Kim, Hyun Soo Kim, Han-Sung Kim, Jae-Seok Kim, Wonkeun Song, Kyu Man Lee, Sunhwa Lee, Kyoung Un Park, Woochang Lee and Young Jun Hong, 2013). Bizim çalışmamızda ICT yöntemi ile Adenovirus için %42 oranında yanlış negatiflik saptanmıştır.

Multipleks RT-PCR, epidemiyolojik çalışmalarda kullanılan önemli bir tanı tekniği haline gelmiştir. RT-PCR yöntemiyle, P ve G tiplerinin belirlenmesine izin verir genotiplendirme ile farklılıklarının daha iyi tanımlanması sağlanır (Dormitzer 2015, <https://www.sciencedirect.com> Erişim Tarihi: 08.05.2019).

Dışkı örneklerinde Rotavirus saptanması için yedi ticari Rotavirus antijen tesinin in house PCR yöntemiyle karşılaştırıldığı bir çalışmada, test duyarlılıkları %80 ile %100 arasında iken, özgüllükleri bir ticari ICT kiti için %54.3 ve diğer analizler için %99.4 ile %100 arasında bulunmuştur. Bu nedenle, bir ticari ICT kiti dışında, diğerleri Rotavirus tespiti için genellikle güvenilir olarak rapor edilmiştir. (Ye, Lambert, Grimwood, Roczo-Farkas, Nimmo, Sloots, Kirkwood, Whileya 2015).

ELİSA yöntemini referans alan çalışmalarda; ICT yönteminin ELISA ile uyumunun yüksek olduğu, özgüllük ve duyarlılığının yüksek, ucuz, kolay temin edilebilen,

okunması kolay, hızlı ve kullanışlı olduğu vurgulanmıştır (Depierreux, Coppe, Leclipteux 2000, Crehalet, Vandenesch, Freydıere 2006, Dhiman, Devi, Singh, Devi 2015). Yine ELISA ile ICT yönteminin karşılaştırıldığı bir çalışmada Adenovirus tanısında ICT'nin tercih edilebileceği vurgulanmıştır (Eita 2012).

Grimwood ve ark. 1981-1992 yılları arasındaki çalışmada 4.473 örnek Elektron Mikroskobu ile incelenmiş; Adenovirus görülen örnekler daha sonra EIA çalışılmış, 154 pozitiflik görülen örneğin 138'inde (% 3,4) Adenovirus tespit edilmiştir. Aynı dönemdeki 1.553 (%34.7) çocuğun dışkılarında ise Rotavirus tespit edildiği raporlanmıştır (Grimwood, Carzino, Barnes ve Bishop 1995). Bu çalışma oldukça eski tarihli olup, günümüzde elektron mikroskopisi yöntemi rutin çalışmalarda kullanılmamaktadır.

Bizim kullandığımız ticari ICT (True line) testi ile ilgili literatürde başka bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Çalışmamızda kullandığımız gerçek zamanlı PCR kiti ile dışkı örneklerinde viral gastroenterit etkenlerinden Rotavirus, Adenovirus ve Norovirus (G1, G2) kalitatif olarak saptanabilmektedir. Bilindiği üzere ülkemizde ve dünyada Norovirus tanısı için yaygın olarak kullanılan günlük bir rutin tanı kiti bulunmamaktadır. Son yıllarda giderek yaygınlaşan çok sayıda bakteriyel, viral ve parazit etkeninin bir arada analiz edilebildiği moleküler test panelleri bulunmaktadır. Bu testlerin fiyatının yüksek olması gibi bir dezavantajı olmasına rağmen kullanımı hızla yaygınlaşmaktadır. Astrovirus, Sapovirus ve Norovirus etkenlerini de birkaç saat gibi kısa bir sürede saptayabilmeleri ise önemli bir avantajdır.

En sık karşılaşılan viral gastroenterit etkenleri Rotavirus ve Adenovirus tanısı için çok yaygın olarak ICT kullanılmaktadır. Ancak çalışmamızda da görüleceği üzere; ICT ile Rotavirus ve Adenovirus negatif sonuç alındığında diğer gastroenterit etkeni virüslerin klinik tablodan sorumlu olabileceği göz ardı edilmemelidir. Nitekim gerçek zamanlı PCR ile 84 hastanın 11'inde (%13) Norovirus pozitif sonuç alınmıştır.

Sonuç olarak;

Ülkemizde, viral gastroenterit tanı yöntemlerinin karşılaştırıldığı az sayıda çalışmanın literatürde mevcut olduğu görülmüştür.

ICT ve gerçek zamanlı PCR yöntemleri arasında her iki parametre için de anlamlı olmakla beraber Rotavirus için orta ve Adenovirus için düşük düzeyde uyum olduğu saptanmıştır.

ICT yöntemi ile Adenovirus için %42 oranında yanlış negatiflik, Rotavirus için %19 oranında yanlış pozitiflik saptanmıştır. ICT; ucuz, hızlı sonuç alınan, kullanışlı, pratik, donanım gerektirmeyen, küçük laboratuvarlara ve kitle taramalarına uygun bir testtir.

ICT ile Rotavirus ve Adenovirus için negatif sonuç alındığında diğer gastroenterit etkeni virüslerin de klinik tablodan sorumlu olabileceği göz ardı edilmemelidir.

Gerçek zamanlı PCR daha duyarlı ve özgül bir yöntem olsa da pahalı, daha yavaş, donanım gerektiren ve her laboratuvarında kullanılamayan bir yöntemdir.

Ülkemizde ve dünyada Rotavirus ve Adenovirus ICT ve PCR test yöntemlerinin karşılaştırıldığı daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Ağın M., (2010), Akut Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirüs Sıklığı ve Kıyaslamalı Maliyet Analizi, Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Bursa, (Danışman: Prof. Dr. Mustafa K. HACIMUSTAFAOĞLU)
- Akçalı A., (2013), Virüsler ve Laboratuvar Tanısı, İçinde: *Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvar Kitabı*, Editör: Altındış M., Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, Syf: 223-252.
- Akhter S., Türegün B., Kıyan M., Gerçek D., Güriz H., Şahin F., (2014). Beş Yaş Altı Çocuklarda Gastroenterite Neden Olan Yedi Farklı RNA Virusunun Araştırılması, *Mikrobiyol Bul*; 48(2): 233-241.
- Alaşehir E.A., Balıkçı A., Topkaya A.E. (2014). Akut Gastroenteritli Çocuk Hastalarda Rotavirüs Antijen Pozitifliği Ve Pozitifliğin Demografik Verilerle İlişkisi, *Ankem Derg* 2014;28(2):41-43.
- Altındış M., Küçükkurt Ş., Kalaycı R., Aslan F. G., Bükülmez A., Yoldaş Y., (2016), Akut Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirus, Enterik Adenovirus ve Norovirus Sıklığı, *Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi*, Cilt 1, Sayı 1, 1-12.
- Altunay H. (2007), *Viroloji İçinde: Algoritma Serisi Tus İçin Özet Mikrobiyoloji*, Editör Aydın A., Tumer Danışmanlık ve Yayıncılık, İstanbul, 2007, Syf 133-180.
- Angel J., Franco M. A, Greenberg H. B. (2007), Rotavirus Vaccines: Recent Developments and Future Considerations, *Nat Rev. Microbiol.*; 5: 529-39.
- Aras, Z., (2011), Mikrobiyolojide Kullanılan Hızlı Tanı Yöntemleri, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 68 (2), 97 – 104.
- Atalay M.A., Kandemir İ., Gökahmetoğlu S., (2013), Üçüncü Basamak Bir Hastanedeki Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirüs Enfeksiyonu Sıklığı, *Dicle Tıp Dergisi*, 40(2):212-215.
- Aydın H., (2014), Erzurum Bölgesinde 0-5 Yaş Arası Gastroenteritli Çocuklarda Tespit Edilen Rotavirusların Moleküler Tiplendirilmesi, Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Erzurum (Danışmanı: Prof. Dr. Osman AKTAŞ).

- Aydın Z., (2016), Rotavirüs Gastroenteriti ile Takip Edilen Çocuk Hastalarda Hematolojik Parametrelerin İrdelenmesi, Adıyaman Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Adıyaman, (Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Habip Almış).
- Aydoğan H. (2016), Burdur İlindeki Süt İşletmeleri Çalışanlarında Astrovirüs, Norovirüs Ve Rotavirüs Varlığının Araştırılması, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Burdur, (Danışman: Doç. Dr. Oğuz GÜRSOY, II. Danışman: Prof. Dr. Mehmet KALE)
- Balcı-Işık Y., Polat Y., Çövüt İ.E., Canural R., Görüşen İ., Sarı F., (2010), Denizli’de 0-5 Yaş Arası Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirüs Ve Adenovirüs Tip 40/41 Sıklığı, Yeni Tıp Dergisi ,27(1):15-17.
- Balkan Ç. E. (2011), Erzurum Ve Çevresinde 0-5 Yaş Arası Çocuklarda Rotavirüs Prevalansı’nın Araştırılması, Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum, (Danışman: Prof. Dr. Selahattin ÇELEBİ).
- Balkan, Ç. E., Çelebi, D., Çelebi, Ö., Altoparlak, Ü., (2012), Erzurum’da 0-5 Yaş Arası Çocuklarda Rotavirus Ve Adenovirus Sıklığının Araştırılması, Türk Mikrobiyol Cem Derg, 42(2): 51-54.
- Bass D.M. (2004), Rotavirus and Other Agents of Viral Gastroenteritis. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (Eds). Nelson Textbook of Pediatrics 17th ed, WB Saunders Co: Philadelphia, p. 1081-1083.
- Başköy S., (2017), Rotavirüs Gastroenteriti Nedeniyle Hastaneye Yatırılan Çocuk Olguların Değerlendirilmesi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Uzmanlık Tezi, İzmir, (Danışman: Doç. Dr. Dilek Yılmaz Çiftdoğan)
- Bayraktar, B., Toksoy, B., Bulut, E., (2010), Akut Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirus Ve Adenovirus Saptanması, Klimik Dergisi, 23(1) 15-7.
- Berk E, Kayman T. (2011), Akut Gastroenteritli Çocuk Hastalarda Rotavirüs Sıklığı, *ANKEM Derg*;25(2): 103-106. <http://dx.doi.org/10.5222/ankem.2011.103>
- Biçer S., Şahin G.T., Koncay B., Gemici H., Engerek N. Ulucaklı Ö., Özlü N., Şiraneci R., (2009), Çocuklarda Adenovirüs Gastroenteriti Olgularının Sıklığı, Bakırköy Tıp Dergisi ,5(1):6-10.

- Brown M., (1990), Laboratory identification of adenoviruses associated with gastroenteritis in Canada from 1983 to 1986. *J Clin Microbiol*; 28: 1525-1529.
- Clark B, McKendrick M., 2004; A review of viral gastroenteritis. *Curr Opin Infect Dis* 17(5): 461-9.
- Coşar Ö. S. (2017), Hastanemizde Akut Gastroenterit Tanısıyla Yatan Etiyolojisinde Rotavirüs Enfeksiyonu Olan ve Olmayan Hastaların Yatış Maliyetlerinin Hesaplanması ve Karşılaştırılması, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Uzmanlık Tezi, İzmir, (Danışman: Doç. Dr. İlker Devrim)
- Crehalet H., Vandenesch F., Freydiere M.A, (2006), Rapid Detection Of Rotavirus İn Children: Comparison Of Vikia® Rota-Adeno And Diarlex® MB, Two İmmunochromatographic Tests, Bacteriology Laboratory - Hôpital Debrousse, Lyon University Hospital, Lyon, France, 16th ECCMID, p:634.
- Çelikkan B.N., (2011), 2008-2009 Yılları Arasında Başvuran Rotavirüs İshalli Olgularımızın Retrospektif Analizi, İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, İstanbul, (Danışman: Prof. Dr. M. Alp Özkan).
- Demiray T., Topçu M., Aydemir Ö., Karakeçe E., Köroğlu M., Elmas B., Altındış M., (2016). Prevalance Of Rotavirus And Adenovirus In Children With Akut Gastroenteritis, *J Immunol Clin Microbiol*; 1(2)
- Depierreux C., Coppe P., Leclipteux T., (2000), Comparison Of A Immunochromatographic Test For The Simultaneous Detection Of Rotavirus And Adenovirus In Stools, Journées francophones de virologie - Facultés des Saints- Pères à Paris Journées francophones de virologie - 6 & 7 avril 2000.
- Dessemelberger U. (1999). Viral Gastroenterit, *Current Opinion in infect, Dis.*;11:565.
- Dhiman S., Devi B., Singh K., Devi P., (2015). Comparison of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and Immunochromatography for Rotavirus Detection in Children Below Five Years with Acute Gastroenteritis, *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2015 Sep, Vol-9(9): DC06-DC09.
- Dormitzer P. R.,(2015), Rotaviruses, in: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases (Eighth Edition), 2015. <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/rotavirus>

- Eita G., (2012), Performance Evaluation Of Detecting Adenovirus By Using Rapid Diagnostic Kits Among Japanese People, *J Infect Chemother* 18:361–369. DOI 10.1007/s10156-011-0346-7.
- Erdoğan Ö., (2011), Rotavirüs Gastroenteriti Olan Çocuklarda İki Farklı Probiyotiğin Etkinliklerinin Karşılaştırılması, Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, İstanbul, (Danışman: Yard.Doc. Dr. Bilge Tanyeri).
- Francesca R., Giulia C., Antonella S., Kodjo M.G.A., Antonio P., Fausto B., (2013), Comparison Of İmmunologic And Molecular Assays For The Diagnosis Of Gastrointestinal Viral İnfections, *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, Volume75, Issue1; 110-111. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.09.016>
- Franco M.A., Angel J., Greenberg H.B., (2006). Immunity and Correlates of Protection for Rotavirus Vaccines, *Vaccine*, 2718-2731.
- Glass R.I., (2006), New hope for defeating rotavirus, *Scien Am*; 20: 47-55.
- Green KY, Chanock RM, Kapikian AZ., (2001), Human caliciviruses, pp: 841-74. In: Knipe DM, Howley PM (eds), *Fields Virology*. 2001, 4th ed. Lippincott-Raven, Philadelphia.
- Grimwood K, Carzino R, Barnes GL, Bishop RF (1995). Patients with enteric adenovirus gastroenteritis admitted to an Australian pediatric teaching hospital from 1981 to 1992. *J Clin Microbiol*; 33: 131-136.
- Harsi CM, Rolim DP, Gomes SA, et al. (1995). Adenovirus genome types isolated from children with gastroenteritis in Sao Paulo, Brazil. *J Med Virol*; 45: 127-134.
- Iraz M., Ceylan A., (2013), Akut Gastroenteritli 0-5 Yaş Arası Çocuklarda Rotavirüs Sıklığı, *Ankem Dergisi* ,27(1):2-6.
- İlkaç M., Şahin A., Nazik H., Öngen B., (2012), Akut Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirüs Sıklığının Araştırılması Ve Rotavirüs Sezonunun Takibi: Beş Yıllık Sonuçlarının Değerlendirilmesi, *Ankem Dergisi*, 26(1):25-29.
- İnan N., Ünsür E. K., Demirel A., Mamçu D., Sönmez E., Arısoy A.,(2014),Akut Viral Gastroenterit Öntanılı Vakalarda Rotavirus, Adenovirus Ve Norovirus Sıklığının Araştırılması, *Ankem Derg*, 28(1):14-19.

- İpek İ.Ö., Paketçi C., Bozaykurt A., Seren L., (2009), Bir Yaş Altı Çocuklarda Rotavirüs Gastroenteriti, Zeynep Kamil Tıp Bülteni, 40(1):33-36.
- Keser M. (2009). Akut İshal Tanısı İle Hastaneye Yatırılan Beş Yaşından Küçük Çocuklarda Rotavirus Sıklığı ve Klinik Özellikler. İ. Ü. Tıp Fakültesi, Yan Dal Uzmanlık Tezi, İstanbul, (Danışman: Prof. Dr. Nuran Salman).
- Khamrin P, Tran D.N., Chan-it W., Thongprachum A., Okitsu S., Maneeakarn N., Ushijima H., (2011), Comparison of the Rapid Methods for Screening of Group A Rotavirus in Stool Samples, Journal Of Tropical Pediatrics, Vol. 57, No. 5, 375-377.
- Kırdar S, Kahyaoğlu F, Yazıcı V, Aydın N. (2017), Antijen Testi ile Rotavirus Pozitif Bulunan Dışkı Örneklerinde Pzr ile Viral Gastroenterit Etkenlerinin Araştırılması. J Biotechnol and Strategic Health Res.;1(3):88-93.
- Kim J., Kim H. S., Kim H. S., Kim J-S., Song W., Lee K. M., Lee S., Park K. U., Lee W., Hong Y J., (2013), Evaluation of an Immunochromatographic Assay for the Rapid and Simultaneous Detection of Rotavirus and Adenovirus in Stool Samples, Ann Lab Med 2014;34:216-222.
- Koopmans M, von Bonsdorff CH, Vinje J, de Medici D, Monroe S., (2002), Foodborne viruses. FEMS Microbiol Rev; 26: 187-205.
- Kosek M, Bern C, Guerrant RL. (2003). The global burden of diarrhoeal disease as estimated from studies published between 1992 and 2000. Bull World Health Organ, 81:197-204.
- Köksal A.O., Köksal T., (2013), Ankara’da 0-5 Yaş Arası Akut Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirüs Sıklığı, Yeni Tıp Dergisi ,30(2):121-123.
- Kurtoğlu M. G., İnci A., Özdemir M., Baykan, M., (2010), Çocukluk Yaş Grubunda Adenovirus Gastroenteritlerinin Mevsimlere Ve Yaşlara Göre Dağılımı, Türk Mikrobiyol Cem Derg , 40(3): 157-162.
- Kurugöl Z. (2001). İzmir’de Beş Yaş Altı Çocuklarda Rotavirüs Gastroenteriti: Sıklık, Klinik, Risk Faktörleri, Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Anabilim Dalı Yandal Uzmanlık Tezi, İzmir (Danışman: Prof. Dr. Cihangir Özkımay).
- Kurugöl, Z. (2007). Rotavirüs Aşılı. Turk Ped Arş 2007; 42 Özel Sayı: 36-42)
<http://dergipark.gov.tr/download/article-file/141261>

- Logan C, O’Leary JJ, O’Sullivan N. (2007), Real-time reverse transcription PCR detection of norovirus, sapovirus and astrovirus as causative agents of acute viral gastroenteritis. *J Virol Methods*; 146(1-2): 36-44.
- Manjula G., (2013), Comparison Of Immunochromatography With RT-PCR For Detection Of Rotavirus In Fecal Samples, Department of Microbiology, Tirunelveli Medical College, Dr.N.Palaniappan (Dr.N.Palaniappan).
- Mead PS, Slutsker L, Dietz V, et al. 1999, Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis*; 5: 607-25.
- Meral M., (2010), Rotavirusun 0-5 Yaş Arası Çocuklarda Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Pzr) Yöntemi İle Serotiplendirilmesi Ve Poliakrilamid Jel Elektroforezi İle Elektroferotiplendirilmesi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, (Danışman: Doç. Dr. Gülendem BOZDAYI)
- Meral M., Bozdayı G., Özkan S., Dalgıç B, Alp G., Ahmed K., (2011), Akut Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirus Prevalansı, Serotip Ve Elektroferotip Dağılımı, *Mikrobiyoloji Bülteni*,45(1):104-112.
- Mercan S. K., (2009), Çocuklarda Rotavirüse Bağlı İshallerde Oral Çinko Tedavisinin Hastalığın Seyri Üzerine Etkisi, Sağlık Bakanlığı Ok Meydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı Ve Hastalığı Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul, (Danışman: Uz. Dr. Yeşim Acar).
- Mitchell D.K., Pickering L.K., (1998). Gastroenteritis, *Krugman’s Infectious Diseases of Children*, In: Katz S.L., Gershon A.A., Hopes P.J.(eds), 10th ed, 1998,116-139.
- Özdemir S., Delialioğlu N., Emekdaş G., (2010), Akut Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirus, Adenovirus ve Astrovirus Sıklığının Araştırılması ve Epidemiyolojik Özelliklerinin Değerlendirilmesi *Mikrobiyoloji Bülteni* ,44(4):571-578.
- Öztaş S., (2014), Akut Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirus ve Adenovirus Sıklığı ve Rotavirusun Moleküler Epidemiyolojisi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar, (Danışman:Yrd. Doç. Dr. Gülşah AŞIK)

- Öztürk R. Reovirus, Rotavirus. In: Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M, eds. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 3. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2008: 1717-1727.
- Pamuk G. I. (2010). Rotavirus Gastroenteritine Bağlı Akut İshal Nedeniyle Hastanede Yatan Çocuklarda Klinik Özellikler. Fatih Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Ankara, (Danışman: Prof. Dr. Sadi Türkay).
- Parashar U., Quiroz E.S., Mounts AW, Monroe S.S, Fankhauser RL, Ando T., Noel J.S., Bulens S.N., Beard S.R., Li J.F., Bresee J.S., Glass R.I., (2001), Centers for Disease Control and Prevention. "Norwalk-like viruses": public health consequences and outbreak management. MMWR; 50 (No. RR-9): 1-17.
- Parashar UD, Gibson CJ, Bresse JS, et al.(2006) Rotavirus and severe childhood diarrhea. Emerg Infect Dis.;12:304–306.
- Parashar UD, Hummelman EG, Bresee JS, Miller MA, Glass RI. (2003). Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. Emerg Infect Dis; 9: 565–572.
- Pazdiora P, Svecova M, Jelinkova H, Taborska J., (2002), Diagnosis of rotavirus infections--comparison of various methods, Epidemiol Mikrobiol Imunol. Aug;51(3):95-7.
- Roman E, Wilhelmi I, Colomina J, et al. (2003). Acute viral gastroenteritis: proportion and clinical relevance of multiple infections in Spanish children. J Med Microbiol; 52: 435-440.
- Samancı S., Köşker M., Çelik M., Araç E., (2018), Akut Gastroenteritli Çocuk Hastalarda Rotavirüs Enfeksiyonu Sıklığı, Van Tıp Derg 25(4): 441-444.
- Scott-Taylor TH, Hammond GW. (1995). Local succession of adenovirus strains in paediatric gastroenteritis. J Med Virol; 45: 331-338.
- Serter D. (1997). Virüs, Riketsiya ve Klamidya Hastalıkları. Nobel Tıp Kitapevi. İzmir;5:244
- Soydan E., (2018), Rotavirüs İshali Nedeni İle Hastaneye Yatırılan 1-60 Ay Arası Çocuklarda İshal Gelişimine Etki Eden Faktörlerin Belirlenmesi, Rotavirüs İshalinin Klinik ve Laboratuvar Verilerinin Değerlendirilmesi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Uzmanlık Tezi, İzmir, (Danışman: Doç. Dr. Süleyman Nuri Bayram)

- Sökücü S, Saner G, Süoğlu Ö, Elkabes B. (2002). Sindirim Sistemi Hastalıkları. In: Neyzi O, Ertuğrul T (eds). Pediatri (3. baskı) Cilt 2. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2002: 775-784.
- Sulañ E. (2009). 6 Ay – 2 Yaş Grubu Çocuklardaki İshal Vakalarında Rotavirüs Enfeksiyonu Prevalansının Araştırılması. C. Ü. Tıp Fakültesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, Sivas, (Danışman: Prof. Dr. Asım Gültekin).
- Summaries of Infectious Diseases, Adenovirus Infections. In: Pickering LK(Ed). American Academy of Pediatrics Red Book: 2003 Report of the Committee on Infectious Diseases. 26th ed. Elk Grove Village, IL; 2003: p. 190-192.
- Şafak B., (2014), Akut Gastroenteritli Çocuk Hastalarda Rotavirus ve Adenovirus Sıklığı, ACU Sağlık Bil Derg, (2):121-124.
- Şanal L., (2013), 0-5 Yaş Arası Akut Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirüs Ve Adenovirüs Sıklığının Belirlenmesi, Ortadoğu Tıp Dergisi ,5(2):73-77.
- Tapısız A.A., (2010), Akut Gastroentriti Olan 5 Yaş Altı Çocuklarda Rotavirüs Suşlarının Per ile Tiplendirilmesi ve Belirlenen Tiplerin Klinik Ağırlık Derecesi ile İlişkisi, Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Yandal Uzmanlık Tezi, Ankara, (Danışman: Prof. Dr. Ülker Doğru).
- Tat E., (2018), Erzincan Mengücek Gazi Eğitim Ve Araştırma Hastanesine 2012-2016 Yılları Arasında İshal Şikayeti İle Başvuran 0-5 Yaş Arası Çocuklarda Rotavirüs Ve Adenovirüs Sıklığının Coğrafi Özellikler Ve Enfeksiyon Zamanı Da Göz Önünde Bulundurularak Değerlendirilmesi, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzincan, (Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Barış GÜLHAN).
- Tekin A., (2010), Mardin’de ki Akut Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirüs Ve Enterik Adenovirüs Sıklığı, Journal Of Clinical And Experimental Investigations, 1(1):37-40.
- Torun E., (2009), Bölgemizde Akut Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirus İnfeksiyonlarının Moleküler Epidemiyolojisi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana, (Danışman: Prof. Dr. Fügen YARKIN)

- Tran A, Talmud D, Lejeune B, et al. 2010. Prevalence of rotavirus, adenovirus, norovirus, and astrovirus infections and coinfections among hospitalized children in northern France. *J Clin Microbiol*; 48(5): 1943-6.
- Tuğcu A. U. (2010), Rotavirus Aşısının Klinik Etkinliğinin Ve Yan Etkilerinin Değerlendirilmesi, Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara, (Danışmanı: Prof. Dr. Figen Şahin).
- Turcios RM, Widdowson MA, Sulka AC, Mead PS, Glass RI. (2006), Reevaluation of epidemiological criteria for identifying outbreaks of acute gastroenteritis due to norovirus: United States, 1998-2000. *Clin Infect Dis*; 42: 964-9.
- Uhnoo I, Wadell G, Svensson L, Johansson ME. (1984). Importance of enteric adenoviruses 40 and 41 in acute gastroenteritis in infants and young children. *J Clin Microbiol*; 20: 365-372.
- Uyar Y., Çarhan A., Özkaya E., Ertek M., (2008). Türkiye’de 2008 Yılında Ortaya Çıkan İlk Norovirus Salgınının Laboratuvar Sonuçlarının Değerlendirilmesi, *Mikrobiyol Bul* 2008; 42: 607-615.
- Uysal G, Doğru U, Aysev D, Karabiber N. (1997). *Campylobacter jejuni* gastroenteritis in Turkish children. *Infection* ; 25: 159-62.
- Ward R. L., Bernstein D. I., (1994), Protection Against Rotavirus Disease After Natural Rotavirus Infection. US Rotavirus vaccine Efficacy Group. *J Infect Dis.*, 169: 900-4.
- Weitzel T., Reither K., Mockenhaupt P.F, Stark K., Ignatius R., Saad E, Korkor A., Bienzle U., Schreier E., (2007), Field Evaluation of a Rota- and Adenovirus Immunochromatographic Assay Using Stool Samples from Children with Acute Diarrhea in Ghana, *Journal Of Clinical Microbiology*, Aug. 2007, P. 2695–2697.
- WHO: The treatment of diarrhoea: a manual for physicians and other senior health workers, WHO/CDR/95.3. Geneva: World Health Organization, 1995.
- Wilhelmi I, Roman E, Sánchez-Fauquier A. (2003). Viruses causing gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect*; 9(4):247-62
- Wilks D, Parrington M, Rubenstein D, (2003). *The Infectious Diseases Manuel*, 2. baskı, Black WellScience Ltd. Berlin, 350-1

- Wolffs PF, Bruggeman CA, van Well GT, van Loo IH., 2011, Replacing traditional diagnostics of fecal viral pathogens by a comprehensive panel of real-time PCRs. *J Clin Microbiol*; 49(5): 1926-31.
- Yargın F., (2012), Viral Gastroenteritler İçinde: *Moleküler Klinik Ve Tanısal Viroloji*, Editörler Us A. D., Ergüroy K., Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 2012, syf 217-250.
- Yarkın F., Yıldırım D., Çelik Ü. S., Demirhindi H., Köksal F., (2016), The distribution of Rotavirus G and P genotypes in children with acute gastroenteritis in Cukurova region, Turkey, *J Immunol Clin Microbiol*; 1(1).
- Yazıcı V., Manzur Y., Akbulut A., (2013). Akut Gastroenteritli Olgularda Rotavirus ve Enterik Adenovirus, *Klimik Dergisi*; 26(1): 13-6.
- Yazıcı V., Yıldız Manzur Y., Akbulut A., (2013), Akut Gastroenteritli Olgularda Rotavirus ve Enterik Adenovirus İnfeksiyonlarının Sıklığının Araştırılması, *Klimik Dergisi*, 26(1): 13-6.
- Ye S., Lambert S. B., Grimwood K., Roczo-Farkas, S., Nimmo G. R., Sloots T. P., Kirkwood C. D., Whileya D. M., (2015), Comparison of Test Specificities of Commercial Antigen-Based Assays and In-House PCR Methods for Detection of Rotavirus in Stool Specimens, *Journal of Clinical Microbiology*, January 2015 Volume 53 Number 1: 295-297.
- Yılmaz İ., (2013), Akut İshalli Çocuklarda Nörovirüs, Rotavirüs ve Adenovirüs Sıklığı, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, İstanbul, (Danışman: Prof.Dr. Nuran Salman).
- Yüksel P., Çelik D.G., Güngördü Z., Ziver T., İzmirli S, Yakar H., Sarıbaş S., Aslan M., Kocazeybek B., (2011), Çocukluk Yaş Grubu Gastroenteritlerinde Rotavirus Antijen Pozitifliğinin Değerlendirilmesi, *Klimik Dergisi*, 24(1):48-51.
- Zafer R., (2010), Edirne İli Hastaneleri Çocuk Servislerinde Çalışan Hemşirelerin Rotavirüs Gastroenteriti Hakkında Farkındalık Düzeyinin Arttırılması, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, (Danışman: Prof.Dr. Suzan Yıldız).

EKLER

Ek 1: Anket Formu Örneği

Sıra no:.....

Tarih :...../.../20...

ÇOCUKLARDA ROTA ADENO NOROVİRUS ENFEKSİYONU SORGULAMA FORMU (2014-2015 KIŞ)

Ad soyad :

Dosya No:

Cinsiyet :

Doğum tarihi(G/A/Y):...../...../20....

Yaş:

Adres-tel :

Semptom : () İshal () Kusma () Ateş () Karın ağrısı () Diğer

Hastalığın Başlama Tarihi :

Örnek Alınış Tarihi :...../...../20.....

Yaşadığı yer : () Kırsal () Kent

İçme suyu : () Şehir şebekesi () Kuyu () şişe-Damacana suyu ()

Kaynatılıyor

Tarım yada hayvancılık ile ilişki: () Var () Yok

Hasta nerede görüldü: () poliklinik () yatan hasta () Acil

Rotavirüs aşısı 2 doz oldu mu : () Hayır () Evet ise () Rotateq, () Rotarix

Ek 2: Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 22/01/2015-808



T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Tıp Fakültesi Dekanlığı

Sayı : 16214662/050.01.04/14
Konu : Etik kurul Başvuru Dosyası Hk.

Sayın Prof. Dr. Mustafa ALTINDIŞ
Sağlık Bakanlığı Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

İlgi : 05.01.2015 tarihli ve 15 sayılı başvurunuz

Destekleyicisi olduğunuz "Gastroenterit nedeni virüslerin Moleküler Yöntemlerle Saptanması" isimli klinik araştırma başvuru dosyanız ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup; etik ve bilimsel açıdan sakınca bulunmadığına etik kurul üyelerince karar verilmiştir ve uygun bulunmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.

Doç.Dr. Pelin TANYERİ
Etik Kurulu Başkanı

EK :
21.01.2015 tarih ve 17 sayılı Etik Kurul Kararı (3 sayfa)

Güvenli Elektronik
İmzalı Aslı ile Aynıdır.
22.01.2015.

Zübeyde KAÇAL
Etik Kurul Sekr.

Evrakı Doğrulamak için : <http://193.140.253.232/envision.Sorgula/BelgeDogrulama.aspx?V=BE6EH09F>

Fakülte Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi
Dekanlığı, Korucuk Kampüsü, Korucuk, Adapazarı/Sakarya
Tel:264 295 6630 Faks:264 295 6629
E-Posta :tip@sakarya.edu.tr Elektronik Ağ :www.tip.sakarya.edu.tr



Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Mücahide TOPÇU
Doğum yeri ve tarihi : Adapazarı /1987
Uyruğu : T.C.
Medeni durumu : Bekar
İletişim adresi ve telefonu : Karaman Mah. Adapazarı
Yabancı dili : İngilizce

II- Eğitimi (tarih sırasına göre yeniden eskiye doğru)

Yüksek Lisans: Sakarya Üniversitesi/Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Tibbi Mikrobiyoloji
(2014-..)

Eğitim programı: Sakarya Üniversitesi / Eğitim Fakültesi / Pedagojik Formasyon
(Ocak 2016 - Şubat 2017)

Lisans : Sakarya Üniversitesi/Fen-Edebiyat Fakültesi/Biyoloji Bölümü
(2006-2010)

Lise : Hacı Zehra Akkoç Kız Lisesi (2001-2005)

III- Ünvanları (tarih sırasına göre eskiden yeniye doğru)

IV- Mesleki Deneyimi

1. As Eczanesi- Part Time ve Tam Zamanlı Çalışan (2007,2008)
2. Sakarya Yenikent Devlet Hastanesi- Laboratuar Stajyeri (2008,2009)
3. Özel Zirve Dershanesi - Fen Bilgisi ve Biyoloji Öğretmeni (2011)
4. Biyolab Tarımsal Biyoteknoloji San. Tic. Ltd.Şti. - Biyolog (2011-2012)
5. Enyeni Enerji Arge ve Mühendislik - Ön Muhasebe (2012-2013)
6. Aykut Yiğit Ortaokulu- Fen ve Teknoloji Öğretmeni (Şubat-Haziran 2014)
7. Ozanlar Ortaokulu - Fen Bilimleri Öğretmeni (Şubat-Haziran 2016)
8. Yunus Emre Anadolu Lisesi - Biyoloji ve Sağlık Bilgisi Öğrt. (Mart-Haziran 2017)
9. IMKB Mehmet Akif Ersoy M. T. A. Lisesi - Biyoloji ve Sağlık Bilgisi Öğrt. (Şubat- Haziran 2018)
10. Yunus Çiloğlu M. T. A. Lisesi - Biyoloji ve Sağlık Bilgisi Öğrt. (Şubat 2019)

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Poster: Karakeçe E., Terzi H.A., Aydemir Ö., Topçu M., Köroğlu M., Çiftci İ.H., Altındış M., 2015, Akut Gastroenteritli Hastalarda Rotavirüs ve Adenovirüs Antijenlerinin Araştırılması, 30. Ankem Kongre Kitabı, 143-144(PS-049).

Makale: Demiray T., Topçu M., Aydemir Ö., Karakeçe E., Köroğlu M., Elmas B., Altındış M., 2016; Prevalance Of Rotavirus And Adenovirus In Children With Akut Gastroenteritis, J Immunol Clin Microbiol; 1(2)

VII- Bilimsel Etkinlikleri

VIII- Diğer Bilgiler

Sertifikalar: Bilgisayar İşletmeni Sertifikası

İşaret Dili Eğitimi (Uzaktan)

GLP(İyi Laboratuar Uygulamaları)

GMP(İyi Üretim Uygulamaları)

Katılım Belgeleri: Tıpta Güncel Flow Sitometri Uygulamaları (10 Aralık 2014)

Sağlık Bilimlerinde Araştırma Planlaması ve Bilimsel Makale Yazımı Veriden Yayına Modül I-II(24 Aralık 2014, 11 Mart 2015)