



ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI KLİNİĞİ

Eğitim Sorumlusu: Doç. Dr. Nevin HATİPOĞLU

0-5 ARASI YAŞ AKUT GASTROENTERİTLİ ÇOCUKLARDA

NOROVİRÜS SIKLIĞININ ARAŞTIRILMASI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Rahma HOUSSEİN OMAR

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Nevin HATİPOĞLU

İSTANBUL-2017

TEŞEKKÜR

Eğitim sürem boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocam Sayın Doç. Dr. Sadık Sami HATİPOĞLU'na, Asistanlığım boyunca eğitimime katkıları bulunan Sayın Doç. Dr. Esra ŞEVKETOĞLU'na, tez çalışmalarım boyunca engin bilgilerinden ve yardımlarından dolayı Sayın Doç. Dr. Nevin HATİPOĞLU'na teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışmam boyunca bana destek veren Uzm. Dr. Zeynep ÇİZMECİ ve tüm mikrobiyoloji laboratuvar çalışanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

Sevgili uzmanlarıma, asistan arkadaşlarıma, kliniğimizin tüm hemşire ve personeline teşekkürlerimi sunarım.

Beni yetiştiren ve her zaman maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen annem Fatma HASSAN'a, babam Houssein OMAR'a, sevgili kardeşlerime, eşim Ali HOUSSEİN'e ve biricik kızım Amira'ya teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Rahma HOUSSEİN OMAR

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iv
TABLolar DİZİNİ	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. İSHAL TANIMI.....	2
2.2. İSHAL PATOGENEZİ.....	3
2.3. İSHAL MEKANİZMALARİ.....	4
2.3.a. Ozmotik İshaller.....	4
2.3.b. Sekretuvar İshaller.....	4
2.3.c. İnflamatuvar İshaller.....	4
2.3.d. Barsak Motilitesindeki Bozukluklara Bağlı İshaller.....	5
2.3.e. Anatomik veya Fonksiyonel Yüzey Alanının Azalmasına Bağlı İshaller.....	5
3. VİRAL GASTROENTERİTLER.....	5
3.1 VİRAL ETKENLER.....	5
4. NOROVİRUS.....	6
4.1. TARİHÇE.....	6
4.2. NOROVİRUSÜN YAPISI VE SINIFLANDIRILMASI....	7
4.3. NOROVİRUSÜN PATOGENEZİ.....	11
4.4. VİRAL REPLİKASYON ÖZELLİĞİ.....	12
4.5. NOROVİRÜSÜN İMMÜNOLOJİSİ.....	13
4.6. NOROVİSRUS ENFEKSİYONUNUN KLİNİK ÖZELLİKLERİ.....	13
4.6. a. Normal Klinik Presentasyonu.....	13
4.6.b. Atipik Norovirüs Kliniği.....	14
4.7. NOROVİRÜSÜN KAYNAK VE BULAŞ YOLLARI.....	16
4.8. NOROVİRUSÜN TANI YÖNTEMLERİ.....	16
4.9. NOROVİRÜS ENFEKSİYONUNUN TEDAVİSİ.....	20
4.10. KORUNMA.....	22
4.11. AŞI ÇALIŞMALARI.....	23
GEREÇ VE YÖNTEM	24
BULGULAR	25
TARTIŞMA	34
SONUÇ	38
KAYNAKLAR	39

KISALTMALAR

CDC: Centers for disease control and prevention

cDNA: Komplementer deoksiribonükleik asit

CRP: C Reaktif Protein

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

EİA: Enzim immuno Assay

ELİSA: Enzyme linked immuno sorbent assay

EM: Elektron mikroskop

ESPGHAN: European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition

İg: İmmunglobülin

İL: İnterlökin

NLV: Norwalk like virüs

NoV: Norovirus

ORS: Oral rehidratasyon sıvısı

RİA: Radyoimmunoassay

RNA: Ribo nükleik asit

RT-PCR: Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu

VLP: Virüs benzeri partiküller

VP2: Viral protein 2

VpG: Viral kapsid geni

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL 1:Norovirüsün kapsid yapısı.

ŞEKİL 2:Norovirüsün elektron mikroskopik görüntüsü.

ŞEKİL 3:Norovirüs sekansının yapısal dizisi ile hazırlanmış standart NoV sınıflandırması ağacı.

ŞEKİL 4:Norovirüs viral kapsid şekli.

ŞEKİL 5:Norovirüsün enfeksiyonuna bağlı olarak villusların kısalması.

ŞEKİL 6: Norovirüsün EM’de morfolojisi.

ŞEKİL 7:Cinsiyete göre yaş dağılımı.

ŞEKİL 8:Aylara göre hasta başvuru sıklığı.

ŞEKİL 9:Aylara göre rotavirüs ve norovirüs dağılımı.

TABLÖLER DİZİNİ

TABLÖ 1: Viral enfeksiyonların neden olduğu diyare

TABLÖ 2: Norovirüsün genetik çeşitliliği

TABLÖ 3: Akut gastroenteritli çocukların dehidratasyon değerlendirilmesi

TABLÖ 4: Cinsiyete göre rotavirüs ve norovirüs sıklığı

TABLÖ 5: Hastaların laboratuvar değerleri dağılımı

TABLÖ 6: Rotavirüs pozitifliğine göre laboratuvar değerleri dağılımı

TABLÖ 7: Norovirüs pozitifliğine göre laboratuvar değerlerinin dağılımı

TABLÖ 8: Tespit edilen patojene göre laboratuvar değerlerinin dağılımı

TABLÖ 9: Rotavirüs ve norovirüs pozitifliğine göre laboratuvar değerleri

TABLÖ 10: İshal etkenine göre acil servis ve serviste yatış süresi

ÖZET:

Giriş ve Amaç: Akut gastroenterit çocukluk çağında en sık görülen öldürücü hastalıklar arasında çok önemli yer almaktadır. Gelişmiş ülkelerde çocukluk çağı gastroenterit etkenleri arasında en sık viral etkenler bulunurken, gelişmekte olan ülkelerde, bakteriyel ve paraziter etkenlerin önemli yer aldığı bilinmektedir. Özellikle çocuk hekimlerinin bölgedeki gastroenterit etkenlerini bilmesi, tanıya yönelik araştırmalarda kolaylık getireceği, erken ve doğru tanı ile etkin tedavi fırsatı sağlayacağı ve antimikrobiyal tedavi gereken durumlarda antibiyotik seçimi için yol göstereceğinden yararlı olacaktır. Bu çalışma, Bakırköy Dr Sadi Konuk Eğitim Araştırma Hastanesi Çocuk Acil Polikliniğine başvuran akut gastroenteritli çocuklarda norovirüs insidansının belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Materyal ve Metod: Bu çalışmada hedef olarak 5 yaş altı akut gastroenterit kliniği ile hastaneye başvuran hastalar alındı. Başvuran hastaların dışkı örneklerinde ELİZA (enzyme linked immuno sorbent assay) yöntemiyle norovirüs, rotavirüs ve adenovirüs araştırıldı. Hastalarda eş zamanlı dehidratasyona yönelik biyokimyasal incelemeler ve enfeksiyon belirteçleri (üre, kreatinin, ürik asit, lökosit, trombosit, idrar dansitesi ve idrarda keton, C-reaktif protein) ve hastaneye yatış süreleri değerlendirildi. Dışkıda norovirüs saptanan olgularla rotavirüs saptanan olguların klinik ve laboratuvar bulguları karşılaştırıldı.

Bulgular: Bu çalışmada ishal nedeniyle 1 ay-5 yaş arası 72 hastanın dışkısında norovirüs antijenine bakıldı. Hastaların %58'i (n=43) erkek ve tüm hastaların yaş ortalaması 22.2 ± 20.6 ay olup ortalanca yaş 13 ay olarak tespit edildi. Hastaların %6.8'inde (n=5) norovirüs GI ve GII antijeni pozitif saptandı. Çalışmaya dahil edilen tüm ishalleri vakanın %94.6'sının kusması olduğu saptandı. Norovirüs pozitif olarak tespit edilen hastaların Nisan-Mayıs aylarında yoğunlaştığı görüldü. Norovirüs pozitif olan hastaların tetkiklerinde beyaz küre sayısı $18,800 \pm 5900/\text{mm}^3$ saptanırken nötrofil $13,700 \pm 6500/\text{mm}^3$ idi ve bu değerler rotavirüs ishalleri olanlarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek değerlerdeydi ($p<0.05$).

Sonuç: Norovirüs hizmet verdiğimiz bölgedeki çocuk hastalarda çok sık görülen bir ishal etkeni değildir. Akut enfeksiyon göstergesi olarak, rotavirüse göre daha fazla lökositoz yapma eğilimindedir. Rotavirüs aşısının kullanılmaya başlanmasının bir sonucu olarak norovirüs enfeksiyonunun rölatif olarak artacağı ve 0-5 yaş ishalleri arasında daha sık karşılaşacağımız bir viral etken olacağı kanaatindeyiz.

ABSTRACT

Background and Aim: Acute gastroenteritis is one of the most common fatal diseases in childhood. Viral pathogens are among the most common etiologies in developed countries of childhood gastroenteritis, while in developing countries, bacterial and parasitic agents are important. Particularly pediatricians should be aware of the gastroenteritis agents in the region because it will provide convenience, early diagnosis and effective treatment opportunities in diagnostic researches and will lead to the appropriate choice of antibiotics in cases where antimicrobial therapy is needed. This study was done in Bakırköy Dr Sadi Konuk Education and Research Hospital Pediatric Emergency Department to determine the incidence of norovirus in children with acute gastroenteritis.

Material and Methods: In this study, analysis of faeces of patients admitted to hospital with acute gastroenteritis clinic between 0 and 5 years of age in the region as a destination norovirus, rotavirus and adenovirus were investigated by ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) method. Patients were evaluated for dehydration biochemical analysis and infection markers (urea, creatinine, uric acid, leukocyte, platelet, urinary density and urine ketone, c-reactive protein) and hospitalization period. The laboratory results and clinical findings of patient with norovirus and rotavirus positive patients were compared.

Results: In this study, the norovirus, rotavirus and adenovirus antigens in feces were examined in 72 patients aged 1 month-5 years who applied due to acute diarrhea. 58% of the patients (n = 43) were male and all patients had a mean age of 22.2 ± 20.6 months and a median age of 13 months. We found that 6.8% (n = 5) of patients were positive for norovirus GI and GII antigen. It was determined that 94.6% of the cases with diarrhea enrolled to the study had vomiting. Norovirus positive patients were accumulated in April-May. In patients with norovirus infections WBC count were $18800 \pm 5900/\text{mm}^3$ and neutrophil counts were found to be $13700 \pm 6500/\text{mm}^3$ and these were statistically significant ($p < 0.05$).

Conclusion: Norovirus is not a frequent cause of diarrhea in our region.

Compared to rotavirus, norovirus has a tendency to cause more leukocytosis as a marker of acute infection. We believe that the routine use of rotavirus vaccine will lead to a relatively heightened incidence in norovirus infection and that between 0-5 year old children's diarrhea, it will be a more frequently encountered viral agent.

GİRİŞ

Tüm dünyada akut ishal ölümüne sebep olan enfeksiyöz hastalıklar içerisinde ikinci sırada yer almakta olup giderek artan hijyen koşullarına rağmen önemini halen korumaktadır. Alt solunum yolu enfeksiyonlarından sonra çocuklardaki yüksek morbidite ve mortalitenin ikinci en sık nedeni akut gastroenteritlerdir. Etkenler göz önüne alındığında enfeksiyöz ishallerde viral enteropatojenlerin %30-70'lere varan oranlarda ilk sırayı aldıkları bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda özellikle 0-5 yaş arası çocuklarda gastroenteritlerin en sık nedeninin rotavirüs, enterik adenovirüs serotip 40-41 ve norovirüsler olduğu gösterilmiştir.

Çocukluk çağında en sık viral gastroenterite yol açan etken rotavirüs olduğu bilinmektedir, ancak son yıllarda rotavirüsün aşılarının yaygınlaşması ile norovirüs sıklığı artmaktadır. Norovirüsler, epidemik gıda ve su kaynaklı viral gastroenteritlerin hem çocukluk çağında hem de tüm yaş gruplarının içerisinde en yaygın viraletiyolojik ajanlarından biri olarak kabul edilmektedir (1). Norovirüsün, yüksek gelirli ülkelerde beş yaş altındaki çocuklar arasında yaklaşık 900.000 poliklinik başvurusu ve 64.000 hastaneye yatışı gerektiren gastroenterit olgularına neden olduğu tahmin edilmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde ise, beş yaş altı çocuklar arasındaki şiddetli gastroenterit olgularının ~%12'sinden sorumludur ve her yıl 1.1 milyon çocuğun hastaneye yatışı ile 218.000 çocuğun ölümüne sebep olmaktadır (2). Norovirüsler, enfektif dozun düşük olması (18-1000 virüs), cansız yüzeylerdeki kalıcılığı ve geleneksel temizlik yöntemlerine dirençli olmaları ile enterik salgın patojeni olarak ideal özelliklere sahiptir (3).

Caliciviridae ailesinde yer alan Norovirüs cinsinde beş genogrup (GI-GV) yer alır ve bunlar arasında yaklaşık %46 nükleotid farklılığı vardır. İnsanları enfekte eden genogruplar GI (8 genotip), GII (19 genotip) ve GIV olup, dünya genelinde NoV salgınlarının en yaygın (> %85) nedeni GII.4 genotipidir (4). Son 15 yılda yeni GII.4 varyantları tanımlanmış ve bunların birkaçı salgınların sayısındaki küresel artış ile ilişkilendirilmiştir. Türkiye'de ise NoV prevalansı konusunda yapılmış fazla çalışma ve 2008 yılına kadar bildirilmiş herhangi bir norovirüs salgını bulunmamaktadır. Az sayıda yapılan çalışmalarda, GI ve GII genogrupları saptanmıştır. Ancak, genel olarak norovirüs ile ilgili Türkiye'de yeterli epidemiyolojik veri bulunmadığı için daha geniş boyutta çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (5).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ISHAL TANIMI

İshalin tanımı zordur, genellikle barsak alışkanlığındaki değişikliği ifade eder. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ishali 24 saatte üçten fazla sulu dışkılama, dışkının normal şeklinin kaybolması, miktarının 200 gram'dan fazla olması veya sadece anne sütü ile beslenen bebeklerde ise her zamankinden daha sık ve sulu dışkılama olarak tanımlamaktadır. “Akut ishal” genellikle iki haftadan daha az süren ishaldir, daha çok bakteriyel ve viral etkenlerin neden olduğu gastroenteritlerde görülür. İki haftadan uzun süren ishaller ise ‘kronik ishal’ olarak tanımlanır (6).Gelişmekte olan ülkeler başta olmak üzere dünyada yıllık ortalama iki milyon çocuğun ölümüne yol açan gastroenteritlerin %18 oranıyla alt solunum enfeksiyonundan sonra ikinci sırada ölüm olgularından sorumlu olduğu ifade edilmektedir(7,8).

Viral etkenler tüm gastroenteritlerin yaklaşık %70-80’ninin sorumlusudur ve viral etkenler arasında en sık görülen rotavirüstür (% 30-50) bunu calsivirüs ve astrovirüsler takip eder (2) (Tablo 1).

Tablo 1: Viral enfeksiyonların neden olduğu diyare.

Yetişkinlerde ve çocuklarda akut sporadik/endemik diyareler	Epidemik diyareler
Rotavirüs (çocuklarda)	Calcivirüs
Calcivirüs	Astrovirüs
Astrovirüs	Rotavirüs
Torovirüs	Adenovirüs

Pek çok farklı sınıflama yapılmasına karşın DSÖ ishalleri hastalıkları klinik olarak ayrılabilen ve farklı tedavi yaklaşımları gerektiren üç gruba ayırmaktadır: akut ishal, dizanteri ve persistan ishal (4). Akut başlayan ve 2 haftadan kısa süren (çoğunlukla 7 gün içinde sonlanan) ishal akut ishal olarak tanımlanmaktadır. Dışkıda kan yoktur ve bu vakalarda ölüm dehidratasyondan kaynaklanmaktadır. En sık etken mikroorganizmalar ise; rotavirüs, norovirüs, adenovirüs, enterotoksijenik E. coli, shigella, campylobacter jejuni ve Cryptosporidiumdur. Bazı yörelerde Vibrio cholerae 01, salmonella ve enteropatojenik E.

coli de sık rastlanan etkenlerdir. Bir aydan uzun süren ishal ise kronik ishal olarak tanımlanmaktadır. Bu vakalarda çoğunlukla altta yatan bir hastalık bulunmaktadır (4,5). Dizanteri kanlı dışkılama olarak tanımlanmaktadır. Barsakta mukozal hasar ve bakterial invazyon vardır. En sık etken shigella'dır. Ayrıca Campylobacter jejuni, daha nadir olarak da enteroinvazif E. coli veya salmonella etkindir. Entamoeba histolytica da dizanteriye yol açabilir. Akut başlayan ve on dört (14) günden uzun süren ishal persistan ishal olarak tanımlanmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde beş yaş altı çocuklarda ishallerin %3-20' si persistan ishal olarak seyretmektedir. En sık etken mikroorganizmalar; Enteroadherent E. coli, cryptosporidium, shigella, aeromonas, giardia ve salmonella'dır (5).

2.2. İshal patogenezi

İshal özellikle gelişmekte olan ülkelerde çocuk hastalıklarının ve ölümlerinin önde gelen nedenlerindendir. Her yıl dünya genelinde, %80'ni süt çocuğu olmak üzere beş milyondan fazla kişi akut gastroenterit nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Manevi, sosyal ve ekonomik kayıplara neden olan ishalin önlenmesi ve tedavi edilebilmesi için nedenleri ve patofizyolojisinin bilinmesi gerekir (4,5). Gastrointestinal sistemindeki, su ve tuz dengesinin bozulmasıyla klinik tablosu gelişen ishal; gaita sayısının, sıklığının veya şekilli özelliğinin kaybolması sıvı içeriğinin artması olarak tanımlanmaktadır. Bu tanım ile ishalin, gastrointestinal sistemin sindirim, emilim ve sekretuar özelliklerinin ortak etkisiyle ortaya çıktığı ifade edilmeye çalışılmıştır (6,7). Gastrointestinal sistemin farklı bölümlerinin kontrol edebilecekleri sıvı miktarları farklıdır. İncebağırsak yaklaşık olarak 8-9 litre sıvı absorpsiyonunu gerçekleştirirken, kalın barsak ince barsaktan kalan 1-2 litre sıvının emilimini yapar, ince barsak hastalıklarından dolayı kalın barsağa geçen sıvı miktarının 2-3 kat artışını, kalın barsak sıvı emilimini artırarak kompanse edebilir, ama miktarın daha fazla artması veya kalın barsak hastalıkları nedeniyle kalın barsak sıvı emiliminin azalması ishal olarak klinik tablo ortaya çıkar. İnce barsağın daha büyük miktarlarda sıvı kontrolü yapması nedeniyle özellikle süt çocukları ince barsağın etkilendiği hastalıklarda daha hızlı ve sık olarak dehidratasyon geliştirir. Süt çocuklarının gaitada sıvı kaybetmeleri halinde, günlük sıvı dönüşümünün ekstrasellüler sıvı komponentine oranı yetişkinlerin yaklaşık iki katı olduğundan dehidratasyon riskleri de daha yüksektir. Ayrıca süt çocuklarının gastrointestinal sistem epitel hücreleri su ve elektrolitlere daha geçirgindir (6,7,8).

1.İshal Mekanizmaları

İshal 5 farklı mekanizma ile oluşabilir (9,11).

a) **Ozmotik ishaller:** Barsak lümeninde emilmemiş maddelerin varlığı sonucu oluşan hipertonic ortam özellikle duodenum ve jejunumdan su çekilmesine neden olur. Kolonun normal ve kompansatuvar emme kapasitesi lümendeki artmış suyu emmek için yetersiz kalınca ishal ortaya çıkar. Enfeksiyöz ajanlar arasında Giardia, Cryptosporidium gibi protozoonlar barsak epitel hücrelerinin fırçamsı kenarlarını harap ederek malabsorbsiyon tablosuna ve sonuçta ozmotik ishale neden olabilirler (12).

b) **Sekretuvar ishaller:** Barsak sıvı sekresyonu iki iyonun, klor ve bikarbonatın aktif sekresyonu ile düzenlenir. En yalın şekli ile klor sekresyonu, enterositlerin vasküler yüzeyinde bulunan Na-K ATP'az aracılığıyla Na'u hücre dışına atarak, K'u hücre içine alması, bu şekilde oluşan sodyum (Na) farkı nedeniyle lümen ve vasküler yüzeyden Na ve Cl' un hücre içine girmesi ve hücre içi artmış Cl' un Ca bağımlı kanal aracılığıyla lümen içine salınımı ile olur. Bikarbonat sekresyonu, jejunumda benzer şekilde sağlanan Na farkı ile Na hücre içine girerken, hidrojen salınımı sağlanır. İleum ve kolonda ise klor bikarbonat değişimi ile alkalizasyon gerçekleşir. Bu salgılardaki değişiklikler ishal nedeni olabilir. Sekretuvar ishal nedenleri arasında V. cholera, E. coli, S. aureus, C. perfringens, B. cereus gibi bakterilerin toksinleri sayılabilir (9,11).

c) **İnflamatuvar ishaller:** İnflamasyon sonucu barsak mukoza hasarı ve mukozal hücre kaybı nedeniyle ortaya çıkar. Mikroorganizmaların inisyal kolonizasyonu, hücreye yapışma veya epitelyal invazyonundan sonra epitelyumdan ve subepitelyal miyofibroblastlardan interleukin 8 (İL-8) gibi değişik sitokinler salgılanmaya başlar. İL-8 sakin fagositleri aktive ederek fagositlerin toplanmasına sebep olur. İL-8 veya lümenal mikroorganizmalardan salgılanan kemotaktik peptidler barsak lümeninde yeterli konsantrasyona ulaştıklarında, nötrofiller epitelyumu geçerek kript apseleri oluştururlar. Fagositlerden salınan prostoglandinler, lökotrienler, platelet aktive edici faktörler ve hidrojen peroksit gibi mediatörler enterositler üzerine etki ederek ve enterik sinirleri uyararak intestinal segresyonu indüklerler. İnfeksiyon olduğunda immünglobulin E ve immünglobulin G antikolar reseptörleri ile etkileşirler ve sonuçta histamin, adenosin, prostaglandinler ve lökotrienler gibi mast hücre inflamatuvar mediatörlerinin patlayıcı tarzda salınımı gerçekleşir. Villüslerdeki atrofik değişiklikleri kompanse edebilmek için kriptalarda hiperplazi gelişir. Tam olgunlaşmamış hücreler villüs hücrelerinin yerini aldığı için emilim bozukluğu ortaya çıkar. Malabsorbsiyon sonucu

ozmotik ishal ve sekretuar ishale birlikte protein kaybı ve eksudasyonun da katkıda bulunduğu bir tablo ortaya çıkar (9,11,12).

d) **Barsak motilitesindeki bozukluklara bağlı ishaller:** Barsak motilitesinin artması besin maddelerinin barsak lümeninde kalış süresini, dolayısıyla emilim süresini kısalttığı için malabsorbsiyon ve ishale neden olur. Bu mekanizmanın etkili olduğu durumlar vagotomi, kolesistektomi, gastrektomi, hipertroidi ve diyabetik nöropatilerdir (12).

e) **Anatomik veya fonksiyonel yüzey alanının azalmasına bağlı ishaller:** Barsak rezeksiyonları, fistüller ve mukozal hastalıklar emilim yüzeyinin azalmasına ve barsaktan geçiş süresinin kısılmasına bağlı olarak malabsorbsiyon ve ishale yol açarlar (12).

3. Viral gastroenteritler

Gastroenterit etkeni olarak virüslerin önemi 1972 yılında Kapikian ve arkadaşlarının bir gastroenterit salgınına ait dışkı örneklerinde Norwalk virüsü keşfetmesiyle başlamıştır. Bu gelişmeyi takiben 1973 yılında Bishop ve arkadaşları yeni doğan ve küçük çocuklarda ciddi ishal ile ilişkili 70 nm büyüklüğünde human rotavirüsü keşfetmiştir. Bu müşkülpesent ajanlar hücre kültürü teknolojisinin yardımı olmadan sadece elektron mikroskopisi (EM) kullanılarak identifiye edilmiştir. Human Norwalk virüsleri hala hücre kültüründe üretilmemektedir. Rotavirüs dışkıda Flewett ve arkadaşları, Bishop ve arkadaşları ve diğerleri tarafından EM yöntemi ile tespit edilmişti (13). Norovirüsler büyük çocuklar ve erişkinlerde epidemik gastroenteritlerin en önemli sebebidir, fakat yeni doğan ve küçük çocuklarda ciddi gastroenteritlerden sorumlu olan rotavirüsten sonra ikinci sırada gelir. Rotavirüs yeni doğan ve küçük çocuklarda görülen diarenin en önemli etyolojik ajanıdır ve yaşamın ilk iki yılı boyunca ortalama %35-%50 oranında hastaneye yatışlara sebep olmaktadır (14).

3.1. Viral etkenler

İshal özellikle gelişmekte olan ülkelerde en önemli sağlık problemleri arasında yer almaktadır. İlk beş yaştaki her çocuğun yılda ortalama iki kez ishale yakalandığı düşünülürse, hastalığın ne kadar sık olduğu ve önem arz ettiği anlaşılabilir. Her yıl dünya üzerinde

ortalama 5-10 milyon çocuk ishal nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Bu ölümlerin önemli bir kısmı da viral nedenlere bağlıdır (13,14).

Yaklaşık 25-30 yıl öncesine kadar ishalin bilinen etkenleri bakteriler ve parazitlerdi. Vakaların büyük kısmında ise etken izole etmek mümkün değildi. Elektron mikroskopinin fekal örneklerde kullanılması sonucu, ishale neden olan spesifik virüsler tanımlanmaya başlamıştır. İlk olarak 1972’de Norwalk ajanı, 1978’de de rotavirüs ishalleri vakaların gaita örneklerinde tanımlandı. Daha sonraları bir çok virüs gastroenteritle ilişkili bulunmuştur. İshalde rolü olduğu kesin olarak belirlenmiş ajanlar rotavirüs, calicivirüs, astrovirüs ve enterik adenovirüslerdir (14,15).

NOROVİRÜS

1.TARİHÇE:

Virüslerin gastroenterit nedeni olduğundan 1940’lardan beri çoğu olgunun etiyolojisi bakteriyel ve parazitik ajanlara dayandırılmadığı için şüphelenilmekteydi. Kapikian ve arkadaşları tarafından 1972 yılında immün elektron mikroskopisinin kullanılmaya başlanmasıyla bir tanımlanmış ve açıkça bir diyare salgınıyla ilişkilendirilmiştir. Bu virüs 1968 yılında Norwalk, Ohio’daki bir ilkokulda ortaya çıkan salgından sonra ‘Norwalk virus’ olarak isimlendirilmiştir(16,17).

Daha sonraki zamanlarda, Caliciviridae ailesinin diğer üyeleri tanımlanmış ve bunlar NLV (Norwalk-like virus) adını almıştır. Norovirüs (NoV)vakalarını ilk tanımlayan pediatrist Dr. J Zahorsky olmuştur ve 1929’da Kasım-Mayıs arasında sporadik vakaları tanımlamıştır. İlk kez ‘‘Winter Vomiting Sickness’’ terimini kullandı.

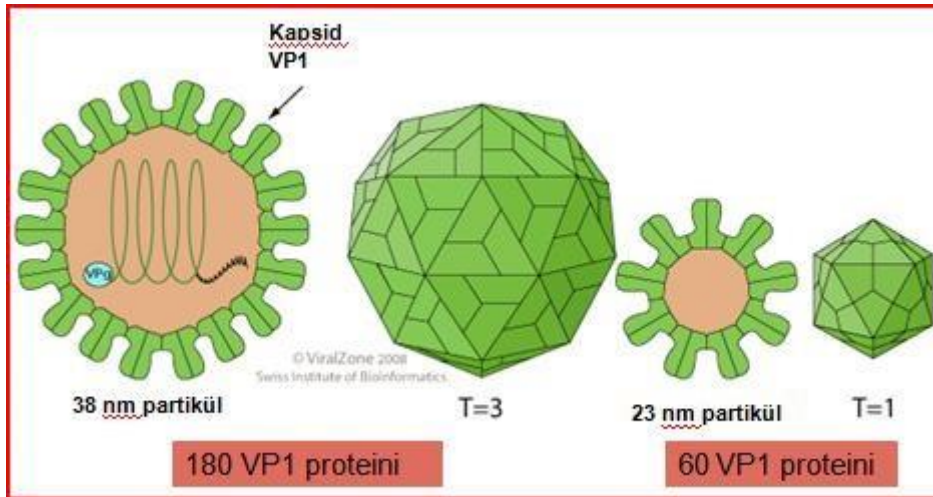
Norwalk virüsün 1991’de klonlanmasından önce her üyeye keşfedildiği bölgenin ismi verilmiştir. Bunlar Hawaii, Snow Mountain, Toronto, Bristol ve Montgomery county gibi virüslerdir. Uluslararası Virüs Taksonomisi Komitesi tarafından 1999 yılında ‘norovirüs’ olarak tekrar isimlendirilmiştir (17).

Norovirüsün tanınması ve ortaya konması hücre kültürünün yapılamaması veya bir hayvan modeli kullanılamaması nedeniyle gecikmiştir (18). Daha sonradan polimeraz zincir

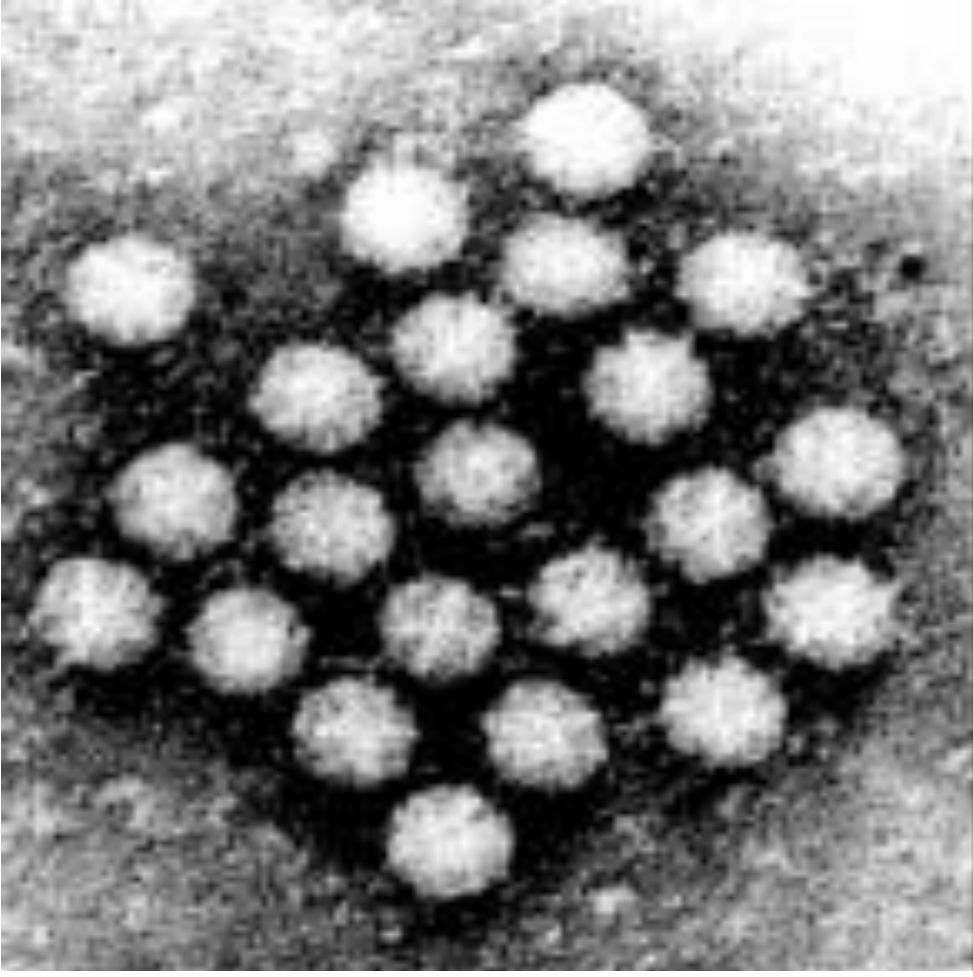
reaksiyonu (PZR) tekniklerinin gelişmesiyle NoV'un klonlanması ve sekansının yapılması sağlanmıştır(16).

2.YAPISI VE SINIFLANDIRILMASI

Gastroenterit yapan küçük yuvarlak yapılu virüsler elektron mikroskobu (EM) ile incelenebilir virüsler arasında calicivirüsler ilk sırada yer alırlar (19,20) ve 5 gruba ayrılır(lagovirüs, nebovirüs, vesivirüs,sapovirüsve norovirüs). Calicivirüslerin prototipi olan Norwalk virüsü elektron mikroskobu ile dışkıda görülmesi güç olan, küçük, yuvarlak bir virüstür. İmmün elektron mikroskopi ile dışkıda saptanması kolaydır. Norovirüs genomu, ~7.7 kb uzunluğunda, ilk olarak prototip Norwalk virüste karakterize edilmiş üç 'open reading frame – açık okuma bölgesi (ORF)', bir 3' UTR (untranslated region - translasyonu yapılamayan bölge) ve bir poli A kuyruğu içeren; tek zincirli, pozitif polariteli bir virüs olup RNA yapısındadır. Norovirüs kapsidi, VP1'in 90 dimerinin 38 nm boyutundaki ikozahedral yapısıdır (21,22). Rekombinant norovirüs-virüs-benzeri partiküllerinin üç boyutlu yapısı, ilk kez elektron kriyomikroskopisi ile tanımlanmıştır. Her virüs partikülü, kapsid proteininin 180 molekülünden oluşmaktadır (Şekil 1) (23).



şekil 1: Norovirus Kapsid Yapısı(8).



şekil 2: Norovirüsün elektron mikroskopik görüntüsü.

Noroviruslar caliciviridae ailesinde bulunan 38 nm çapında, tek zincirli, zarfsız, küçük yuvarlak, ikozahedral virüslerdir. Viral kapsid geninin (VP1) filogenetik analizine dayanan GI'den GV'e kadar 5 genogrup içermektedir, bunlardan sadece üçü insanda hastalık yapar (I, II, ve IV). Viral capsid proteine göre de norovirüs 25 farklı genotipe ayrılır (24) yanı her genogrup sekans benzerliği ve filogenetik analizlerine göre genotip olarak adlandırılan genetik kümeler ayrılmaktadır. GI genogrubu 8 genotipe, GII genogrubu 17 genotipe ayrılırken; GIII genogrubu 2 genotipten, GIV ve GV genogrupları ise 1'er genotipten oluşmaktadır (Tablo 2) (şekil 4). Bazı NoV'ların genomik sekanslarının analizi, farklı genogruptaki suşların birbirine sadece %51-56 oranında benzediğini; aynı genogruptaki suşlarda ise %69-97 oranında nükleotid benzerliği olduğunu göstermiştir (25,26,27).

Tablo 2: Norovirüsün Genetik Çeşitliliği.

Norovirüsün Genogrupları				
GI	GII	GIII	GIV	GV
GI.1, GI.2, GI.3, GI.4, GI.5, GI.6, GI.7, GI.8	GII.1, GII.2, GII.3, GII.4, GII.5, GII.6, GII.7, GII.8, GII.9, GII.10, GII.11, GII.12, GII.13, GII.14, GII.15, GII.16, GII.17	GIII.1 GIII.2	GIV.1	GV.1

Norovirüs genogrupları ve genetik kümeleri nümerik olarak sınıflandırılır. Genogrubu belirten Romen rakamını genetik küme numarası takip etmektedir. Örneğin, GII genogrubunun 4. genetik kümesinde olan bir virüs GII.4 olarak adlandırılmaktadır. Önceden, norovirüs suşları genellikle salgının çıktığı bölgeye göre isimlendirilmekte ve her izolat için rutin olarak suş/yıl/ülke isimlendirmesi (NV/93/ABD) kullanılmakta iken günümüzde Caliciviridae familyasının içinde genogruplara ayrılarak sınıflandırılmaktadır (28,29).

Prototip suş olan Norwalk virüs GI.1 olarak sınıflandırılmıştır. GII.4 genotipi dünyadaki NoV salgınlarından en çok sorumlu tutulan en yaygın genotiplerden biridir. GII.4 varyantlarının hızlı gelişimi küresel epidemilerle ilişkili yeni suşların ortaya çıkmasına neden olmaktadır (30).



şekil 3:MrBayes programı kullanılarak 68 NoV sekansının yapısal dizisi ile hazırlanmış standart NoV sınıflandırması ağacı. Ağaç topolojisi 1 000 000 jenerasyon baz alınarak değerlendirilmiştir. Prototip suşlar koyu yazılmıştır. Kare içindeki sayılar genotip numarasını göstermektedir.



Şekil 4: norovirüsün viral capsid şekli (Kaynak 79'dan değiştirilerek alınmıştır).

3. Norovirüsün patogenezi:

Bağırsak epitel hücreleri intakt kalır ama villüslerinde kısalma, villüs hücrelerinde harabiyet, lamina propriada mononükleer ve polimorfonükleer hücre infiltrasyonu görülür. Bu değişiklikler malabsorpsiyona yol açar özellikle de d-ksiloz yağ ve laktoz içeren gıdalarda. Klinik çalışmaların gösterdiğine göre, enfeksiyonda şiddetli şekilde yağlı dışkılamaya ve geçici karbonhidrat malabsorpsiyonuna neden olacak şekilde ince bağırsaktaki fırça kenarı enzimatik aktiviteleri (alkalin fosfataz, sükras, trehalaz) azalmaktadır. Midede HCl, pepsin ve intrinsik faktörün salgılanması, bu histolojik değişikliklerle ilişkilidir. Buna karşın, gastrik boşaltma geç olmaktadır. Midedeki hareketliliğin azalmasının, bu gastroenteritteki bulantı ve kusmadan sorumlu olabileceği öne sürülmektedir. Gastrik fundus, antrum, kolon mukozası veya iyileşme dönemindeki biyopsi örneklerinde histolojik değişiklik görülmemiştir. İnce bağırsağın patogenezdaki rolünün ne ölçüde olduğu henüz bilinmemektedir; çünkü yapılan çalışmalar sadece proksimal ince bağırsağı incelemektedir ve replikasyon yeri belirlenememiştir (31).

Norovirüs, apikal villus enfeksiyonuyla ilişkili olduğu için; villusların düzleşmesine hücre proliferasyonunun azalması neden olabilmektedir.

Norovirüs enfeksiyonlu hastaların intestinal biyopsi örnekleri kullanılarak yürütülen bir çalışmada villus uzunluğunun, villus epitelinin emici yüzeyi küçülerek %25 oranında azaldığı; kript uzunluğunun ise değişmediği görülmüştür (şekil 5) (32).



Şekil 5: Norovirüs enfeksiyonuna bağlı olarak villilerin kısalması (32).

4.4. Viral replikasyon

Norovirüsün replikasyonu Sitoplazmada gerçekleşir. Virüsün konak reseptörüne tutunması, virüsün klatrin ve kaveolin bağımsız endositozuna aracılık eder. Virüs soyulur ve viral genomik RNA konak hücrenin stoplazmasına salınır. Vpg viral RNA'dan uzaklaştırılır ve genomik ssRNA (+)'dan bir dsRNA genomu sentezlenir. DsRNA genomun transkripsiyonu ve replikasyonu gerçekleşir. Böylece viral mRNA'lar/yeni ssRNA(+) genomları elde edilir. Subgenomik RNA'nın translasyonu ile kapsid proteini ve VP2 elde edilir. Yeni virüs partiküllerinin montajı ve konak hücre lizisi ile sonlanır.

4.5. NOROVİRUSUN İMMUNOLOJİSİ

Norovirüse immün yanıtı ile ilgili az bilgi bulunmaktadır. Bu virüslere karşı bağışıklık sistemi karmaşıktır ve tam olarak anlaşılmış değildir. İnsanlarda yapılan çeşitli bağışıklık çalışmalarında, NoV'a karşı kısa süreli bağışıklık gözlenmiştir (74,75).

Gönüllülerle yapılan araştırmalarda enfeksiyonu geçirmiş insanların 6-15 hafta içinde aynı virüsl ile tekrar enfekte olmadığı tespit edilmiştir. Ancak salgınların gösterdiğine göre; bir NoV suşuyla enfekte olmak, farklı bir suşla yeniden enfekte olmayı engellememektedir (76).

Salgınlarda tanımlanan NoV'a özgü antikor izotipleri IgG, IgM ve IgA'dır. Enfeksiyonun başlangıcından 5 gün sonra bu antikor titrelerinde artış gözlenmektedir. Norovirüse özgü IgG seviyeleri, bazı verilerin IgG seviyelerinin pik yapmasının 7 haftayı bulduğunu göstermesine rağmen, 3 hafta sonra maksimuma ulaşmaktadır. İmmünglobulin A ve IgM pikleri, genellikle 2. haftada, IgG'den daha erken meydana gelmektedir. Norovirüse özgü IgM seviyeleri, 2-4 ay içinde enfeksiyondan önceki haline dönmektedir. İmmünglobulin A ise 1-2 ay boyunca seviyesini korumakta, 3. ayda eski seviyesine dönmektedir (76).

Yapılan araştırmalara göre IgM yeni geçirilen NoV enfeksiyonunu göstermektedir (74). Fekal sekretuar IgA (sIgA) antikorları da semptomatik hastalık için bir marker olarak öne sürülmektedir (75).

4.6. NOROVİRUSUN KLİNİĞİ

4.6.a.Normal klinik presentasyonu

Hastalığın tipik prezantasyonu çocuklarda anı başlayan kusma, sulu ishal , kan mukus içermeyen ishal, karın ağrısı ve mide bulantısıdır. Kusma epizodlarının insidansı yüksek ve anormal gastrik motor fonksiyonun sebep olduğu gastrik boşalmada gecikme söz konusudur (30). Bazen de sistemik belirtiler ateş, myalji, baş ağrısı ve üst solunum yolu semptomları görülebilir. 12-48 saatlik bir inkübasyon döneminden sonra 1-11 gün süren bir hastalık yaparlar. Vakaların çoğu 24-60 saatte kendiliğinden sonlanabilir. Ancak, enfekte insanlar semptomlar geçtikten yaklaşık 8 hafta sonrasına kadar yüksek viral yükü ($\sim 10^{12}$ NoV/g dışkı) virüsyaymaya devam edebilmektedirler (33). Hastalık genellikle epidemiler yapar. Kalabalık topluluk halinde bulunan yerlerde, bakımevlerinde, aile içinde çabuk yayılır (34). Yüzme

havuzu veya yiyeceklerden kaynaklanan salgınlar yapabilirler. Norovirüs çok bulaşıcı özelliği olduğu için salgınlara sebep olur (35).

Yetişkinlerde genellikle hastalığın belirgin özelliği olarak diyare görülmekte iken, çocuklarda bulantı ve kusma diyareden daha çok ön plana çıkmaktadır (16).

Enfeksiyon kendi kendisini sınırlamakta ve hastaların çoğu sekelsiz bir şekilde iyileşmektedir. Ancak, hidrasyon sağlanamayan hastalar hastane başvurusunu gerektiren elektrolit bozukluğuna yol açan dehidratasyon riski taşımaktadırlar. Yeterli sıvı alamayan hastalarda, ölümcül elektrolit bozukluğu ortaya çıkarak ölüm görülebilmektedir (16). Dehidratasyon semptomları ise deri turgor tonusunda bozulma, göz kürelerin çökmesi, idrar miktarında azalma, ağız ve boğaz kuruluğu ve ayağa kalkınca baş dönmesidir(36).

4.6.b.Atipik norovirüs kliniği

Norovirüs özellikle prematür infantlarda; nekrotizan enterokolite neden olur. Bazı vakalarda enfeksiyon sonrası irritable barsak sendromu gelişebilir. Uzun süren ishalde kilo kaybı, dehidratasyon, ve malnütrisyon ortaya çıkabilir. Ayrıca inflamatuvar barsak hastalığı olanlarda kanlı diyare görülebilir. Benign infantil nöbetler, ensefelopati, ,dissemine intravasküler koagülopati, bağışıklığı baskılanmış ve transplant hastalarında ciddi enfeksiyonlar bildirilmiştir. Norovirüs enfeksiyonları kronikleşebilir, bu durumda viral RNA gaita örneklerinde aylar yıllarca pozitif kalır. Allogenik hemopoetik kök hücre ve böbrek alıcılarında 1 yılda %20 kronik norovirüs enfeksiyonunu gelişebilir. Primer immun yetmezliği olan ve hastaneye yatırılan hastaların gaita örneklerinde en sık tespit edilen patojen norovirüslerdir (28,37).

4.7.NOROVİRUSUN KAYNAK VE BULAŞ YOLLARI

Salgınların çoğu gıda ve su kaynaklıdır. Kaynak genelde enfekte gıda işçileridir. Enfekte gıda işçilerinin çiğ sebze ve meyvelere, hazır yiyeceklere çıplak elleriyle dokunmasıyla enfekte olur. İstiridye meyve, sebze işlenmiş ve pişmiş gıdalar da kontamine olabilir. Su kaynaklı salgınlar ise kanalizasyon ile kirlenmiş kuyular ve arıtılmamış kullanım sularına bağlı oluşur (38). Norovirüs dirençli bir virüs olup aylarca çevrede kalabilir ve yaygın kullanılan dezenfektanlara dirençlidir. Mükemmel bir insan patojeni ('perfect human pathogens') olarak tanımlanır. Norovirüs insandan insana yayılımı için bilinen geçiş yolları, fekal-oral yol, kontamine yiyecekler ve sular, aerosol şeklinde kusma materyali ve kontamine olmuş çevresel yüzeylerdir (39). Enfekte bir birey ile temas en büyük risk faktörüdür. Semptomların rezolüsyonundan sonra da gaitada yüksek miktarda virüs saçılmaya bir süre devam eder. Ayrıca norovirüsün aerosolize kusmuk parçacıkları ile bulaş yapma geniş kitleye potansiyeli mevcut. Norovirüs 3 metreden fazla uzağa gidebiliyor.

4.8.NOROVİRÜSÜN TANI YÖNTEMLERİ

Norovirüsler dışkıda, hastalığın başlangıcından itibaren 3 hafta kadar saptanabilmektedir. Ancak, bir gastroenterit salgını etkeninin NoV olarak doğrulanması için örneklerin diyarenin başlangıcından itibaren 7 gün içerisinde toplanması gerekmektedir. Duyarlılık 7-14 gün arasında düşmektedir. Gaita örneklerin geç toplanması ve elverişsiz çalışma şekli, kullanılan yöntemin duyarlılığı ve özgünlüğünde sorunlara yol açabilmektedir ve epidemiyolojik araştırmaların sonuçlarını etkileyebilmektedir(40,41). Kesin tanı dışkıda virüs veya antijenlerinin, serumda antikor titresinde dört kat artışın gösterilmesi ile konur.

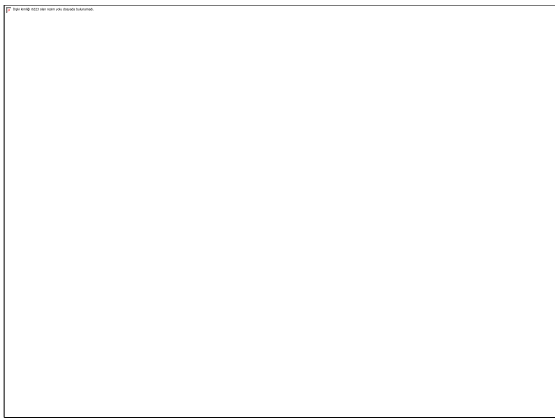
Fekal örneklerin toplanamadığı durumlarda kusma örneklerinin test edilmesi NoV tespitini arttırmaktadır, ancak hem dışkı hem kusma örneklerinin toplanması zaman kaybına neden olacaktır (42). Ayrıca, NoV'un ağız çalkalama suyundan da saptanabildiği Kirby ve ark.larının bir çalışmada gösterilmiştir. Bu da NoV'ün oral-oral olarak bulaştığını da göstermektedir (43).

4.8.1 Özgöl Tanı Yöntemleri

Norovirüsler hücre kültüründe üretilmediği için, tanıda başka yöntemler benimsenmiştir. Uzun yıllardır en çok elektron mikroskopisi (EM), revers transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ve inhouse enzim-bağlı immünosorbent assay (ELISA) yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin arasında RT-PCR en duyarlı tanı yöntemidir. Revers Transkriptaz-PCR' a alternatif olarak piyasada daha pahalı olan ticari enzim immünoassay (EIA) kitleri de bulunmaktadır(40). Ancak; NoV'ların yüksek genetik ve antijenik çeşitliliğin, laboratuvar tanısında problemler ortaya çıkarmaktadır (44).

4.8.2-Elektron Mikroskopisi

Fekal örneklerin elektron mikroskopisi ile incelenmesi yoğun emek isteyen, teknik olarak zahmetli, nisbeten duyarsız, hastalığın başlangıcından itibaren 2-3 gün içerisinde saptanabilen morfolojik olarak farklı virüs partiküllerinin görünümüne dayanan bir yöntemdir (45).Elektron mikroskopisi, bir gram dışkıda yaklaşık 10^6 NoV partikülü saptama sınırına sahiptir ve tecrübeli personel gerektirmektedir (18). Norovirüsler elektron mikroskopunda, yuvarlak Şekilli ve dış yüzeyinde içe doğru çukurlu bir yapıda (kupa formu) olmasıyla ayırt edilmektedir (şekil 6)(46).



şekil 6: Norovirüsün EM'deki morfolojisi (46)

Norovirüslerin tanısı için geliştirilen ilk immünolojik test immün elektron mikroskopisidir (IEM) (16). Bu teknikte virüsün tespitini arttırmak için immün serum kullanılmaktadır.

İmmün serum, dışkı süspansiyonundaki viral partikülleri bir araya toplayıp vurgulamaktadır. Spesifik antikorların varlığında ortaya çıkan virüs kümesi, virüsün tespitine olanak sağlamakta ve tanı imkanını geliştirmektedir (1).

Elektron mikroskopisinin tanıda hala kullanılmasına rağmen, NoV'un klonlanması ve dizi analizinin yapılması ile tanıda daha çok moleküler yöntemler kullanılmaya başlanmıştır (16).

4.8.3. SEROLOJİK YÖNTEMLER

A-ANTİJEN SAPTAMA

Antijen saptanmasına dayanan ve büyük skalalı kullanıma uygun olarak geliştirilen ilk immünolojik yöntemler, radyo immünoassay (RIA) ve daha sonra enzim immünoassay (EIA) yöntemleri olmuştur (31). Antijen saptayan, rekombinant kapsidlere karşı arttırılmış hiperimmün antiserumların kullanımına dayanan enzim-bağlı immünosorbent yöntemler, genellikle tipe özgüdür ve sadece aynı veya genetik olarak benzer genotiplerin suşlarını saptayabilmektedir (45). Fakat, yüksek antijenik çeşitlilik, tipe özgü ve duyarlı EIA protokollerinin geliştirilmesinde zorluk ortaya çıkarmaktadır (47). ELISA yöntemleri genellikle karmaşık malzeme ihtiyacı olmayan, uygulaması kolay yöntemlerdir (19). Saptama sınırı, 1 ml dışkıda 10^4 - 10^5 viral partikül olarak değerlendirilmektedir. Bu yöntemle norovirüsün kapsid proteini (antijeni) saptanmaktadır (44). Virüs-benzeri partiküller (VLP) morfolojik ve antijenik olarak doğal virionlara benzemektedir. Bu nedenle, NoV enfeksiyonunun serolojik tanısı için ELISA yöntemlerinin geliştirilmesinde VLP'ler kullanılmaktadır(48).

İdeal bir NoV saptama yöntemi, ELISA gibi hızlı ve duyarlı olmalıdır. Ancak, son zamanlarda ELISA yöntemleriyle NoV tespitinin duyarlılık ve özgünlüğündeki ilerlemelere rağmen bu tanısal testlerin duyarlılıkları hala RT-PCR' dan daha düşüktür(33).

B-ANTİKOR SAPTAMA

Rekombinant VLP'lerin antijen olarak kullanıldığı, antikor yanıtını saptayan EIA'lar da IgG, IgM ve IgA serolojik yanıtlarını karakterize etmek için geliştirilmiştir. Fekal örneklerde

antikor saptayan EIA testleri ile virüse özgü IgA veya IgM antikorları tespit edilebilmektedir. Enfeksiyondan 8-11 gün sonra, virüse özgü IgA ve IgG titrelerinde önemli miktarda artış görülmektedir. IgG antikor titresi, hastalığın ilk 5 günündeki akut evre ile akut evreden 3-6 hafta sonraki nekahat evresi arasında 4 kat artmaktadır. Virüse özgü IgM antikorları ise 2 hafta içerisinde saptanabilmektedir (16, 31).

4.8.4-MOLEKÜLER YÖNTEMLER

Norovirüs genomu, 1990 yılında klonlanmış ve karakterize edilmiştir. Bu sayede NoV tanısında moleküler yöntemler de kullanılmaya başlanmıştır. Hibridizasyon yöntemleri EIA yöntemlerine benzer şekilde 1 ml dışkı örneğinde $\sim 10^4$ - 10^5 viral partikülü saptayacak kapasitededir. Revers Transkriptaz-PCR yöntemleri ise, genellikle daha az sayıdaki virüs miktarını (10-40 genomik kopya) saptayabilmektedir (31). Norovirüs salgınlarını tanımlamak için kullanılan RT-PCR, altın standart yöntem olarak nitelendirilmektedir (45).Ama günümüzde ne yazık ki, rutin klinik laboratuvarların birçoğu hala bu testi maliyet nedeniyle çalışma olanağına sahip değildir (33).

Moleküler yöntemlerin oldukça duyarlı, özgün ve hızlı olmasının yanında, viral ajanların bu tekniklerle saptanması karmaşık malzemeler ve kalifiye personel gerektirmesi de bir dezavantaj oluşturur (18). Duyarlılığı yüksek olmasına rağmen, tek zincirli viral RNA'nın kararsızlığı ve ideal olmayan koşullarda saklandığı zaman bozulması, fekal örneklerden RNA izolasyonunun zor olması, amplifikasyondaki inhibitörlerin varlığı ve RNaz kontaminasyonu nedeniyle yöntemde sorunlar olabilmektedir (33,45).RT-PCR yönteminin duyarlılığı, kullanılan primerlere bağlıdır, belirli primerlerle daha geniş aralıktaki NoV genotiplerinin amplifikasyonu yapılabilmektedir.

Bu bilgiler ışığında, norovirüs tanısında kullanılan en duyarlı ve hızlı yöntem pahalı olmakla birlikte, real time RT-PCR gibi gözükmemektedir. Rutin laboratuvarlarda maliyet açısından ELISA yönteminin tercih edilmesine rağmen RT-PCR yöntemi ELISA' ya göre oldukça duyarlı bir yöntem olarak kabul görmektedir.

4.9.NOROVİRUSUN TEDAVİSİ:

Dünya genelinde 2,2 milyon insanın ishal nedeniyle öldüğü ve beş yaşından küçük çocuklarda görülen 10,4 milyon ölümün % 17'sine ishalleri hastalıkların neden olduğu bildirilmektedir

(12).Norovirüsün, yüksek gelirli ülkelerde beş yaş altındaki çocuklar arasında yaklaşık 900.000 poliklinik başvurusu ve 64.000 hastaneye yatışı gerektiren gastroenterit olgularına neden olduğu tahmin edilmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde ise, beş yaş altı çocuklar arasındaki şiddetli gastroenterit olgularının ~%12'sinden sorumludur ve her yıl 1.1 milyon çocuğun hastaneye yatışı ile 218.000 çocuğun ölümüne yol açmaktadır (2).

Akut gastroenteritlere bağlı morbidite ile mortalitenin önleminde en önemli unsur tedavinin gecikmemesi ve doğru bir şekilde uygulanması önemlidir. En sık ve en önemli komplikasyon dehidratasyon olmasından dolayı en önemli tedavi dehidratasyon tedavisidir. Doğru tedavinin uygulanması için önce dehidratasyonun derecesi bilinmeli, onun için DSÖ tarafından önerilen sınıflama dünya genelinde standart olarak kabul edilmektedir (Tablo 3) (49).

Tablo 3: Akut gastroenteritli çocuklarda dehidratasyon sınıflandırılması (49).

	HAFİF	ORTA	AĞIR
Mental durum	İyi,uyanık	Normal,bitkin,ya da huzursuz	Apatik,letarjik,bilinç kapalı
Susama hissi	Normal	Artmış,sıvı almaya istekli	Su içecek gücü yok,ağızdan sıvı alamıyor
Kalp hızı	Normal	Normal yada artmış	Taşikardi yada ağır olgularda bradikardi
Nabızlar	Normal	Normal yada azalmış	Zayıf, filiform ya da palpe edilemiyor
Solunum	Normal	Normal,hızlı	Derin
Gözler	Normal	Hafif çökük	Belirgin çökük
Gözyaşı	Var	Azalmış	Yok
Ağız mukozası ve dil	Nemli	Kuru	Parşömen gibi
Turgor	Normal	Azalmış ancak 2'sn den kısa sürede normale dönüyor	Çok azalmış normale dönmesi 2 sn'den uzun sürüyor.
Kapiller doluş	Normal	Uzamış	Uzamış ve azalmış

Ekstremiteler	Sıcak	Ilık	Soğuk,benekli,siyano tik
İdrar çıkışı	Normal yada azalmış	Azalmış	Minimal
Ağırlık kaybı	%3-5	%5-10	>%10

Hafif dehidratasyon: Hasta uyanık ve susama hissi yok, Nabız, solunum, kan basıncı, turgor, idrar akımı, müköz membranlar, kapiller dolum zamanı normaldir.30-50cc/kg sıvı ihtiyacı var. ORS ile verilir. Oral alımı yoksa nazogastrik sondası ile verilebilir (49).

Orta dehidratasyon: Huzursuzluk var, Göz küreleri çökük, Susuzluk, iştahla içme arzusunu, deri katlantısının yavaş kaybolması(1-2sn). Sıvı açığı tahminen 60-90cc/kg. 4 saat içinde ORS oral verilir (49).

Ağır dehidratasyon: Letarjik ya da bilinci kapalı, göz küreleri çökmüş, su içememe ya da çok az içebilme, deri katlantısının çok yavaş kaybolması. Sıvı açığı tahminen 100cc/kg'dir. Önce 20 cc/kg/doz dengeli sıvı %0,9 sodyum klorür ya da Ringer Laktat verilir, yeterli periferik perfüzyon sağlanana kadar tekrarlanabilir. İdame ve defisit hesaplanarak iv sıvı tedavisi devam edilir. Oral tolerans sağlanır sağlanmaz ORS'eye geçilir. Her sulu dışkılamadan sonra 10cc/kg, her kusma sonra 2cc/kg ORS verilir (49).

Hastalara DSÖ ve ESPGHAN tarafından da önerilen düşük sodyum konsantrasyonlu ve ozmolaritesi düşük ORS solüsyonları kullanılabilir. Akut gastroenteritli çocukların %95'inde ORS tedavisi yeterli olmakla beraber bazı vakaların İV tedavi endikasyonu olmaktadır, bu endikasyonlar: Hemodinamik şok, ileus, glikoz malabsorpsiyonu olan hastalar, şiddetli kusma, dışkılama hızı 10cc/kg/saatten hızlı olması ve ORS tedavisine rağmen düzelmeyen vakalardır (49).

Akut gastroenteritli hastaların çoğu ayaktan tedavi edilir fakat bazı hastaların yatırılarak tedavi olması gerekir, en önemli yatış endikasyonu ağır dehidratasyondur. Diğer endikasyonlar ise 2 aylıktan küçük hastalar, aile tedavi uyumsuzluğu olan çocuklar, ORS tedavisini tolere edemeyen hastalar, ORS tedavinin rağmen kötüleşen hastalar, persistan ishali olan ağır malnutrisyonlu hastalardır (49).

Norovirüs'e bağılı oluşan gastroenteritin tedavi etmek için uygun bir antiviral ilaç bulunmamaktadır. Enfeksiyonda destek tedavinin üzerinde durulmaktadır, özellikle dehidratasyon önlenmeli ve tedavi edilmelidir. Hidrasyon, izotonik sıvılarla oral sıvı replasmanı yapılarak devam ettirilmelidir(16,33).

Baş ağırsı, kas krampları ve bulantının semptomatik tedavisi için analjezik ve antiemetik ilaçlar kullanılabilir. Semptomatik tedavi dışında NoV gastroenteritlerinin tedavisinde etkinliğinin çalışıldığı direkt bir klinik çalışma bulunmamaktadır (16,33).

4.10. KORUNMA

Norovirüsün yayılmasının kolay olmasına rağmen, ortadan kaldırılması oldukça zordur. Bu ajanlar oldukça enfektif olduğu için el yıkama ve kontamine materyalin uzaklaştırılması veya dezenfeksiyonu, aile içindeki veya bir kurumdaki bulaşı azaltabilmektedir. Ancak, basit deterjan temizliği enfekte yüzey ve cisimleri NoV'tan arındırmak için yeterli değildir. Norovirüs 60°C'ye kadar dayanır. 85-90°C'de 90 saniyede inaktive olur. 10 ppm klora kadar dayanıklı; >10 mg/L Klor 30 dakika veya uzun sürede inaktive olabilir. GII enfeksiyonu aynı genotip ile tekrar enfeksiyona karşı bir dereceye kadar korunma sağlar. El yıkama alışkanlığının edinilmesi, meyve ve sebzeleri iyice yıkanması, deniz ürünlerinin iyi pişirilmesi. Kusmuk ve dışkıyı dikkatle bertaraf edilmesi önemli bir husustur. Yavaşça tek kullanımlık havlu ile temizleyip, tek kullanımlık poşetlere koyularak atılması gerekmekte çünkü hava ile bulaş söz konusudur. Kontamine alanları çamaşır suyu ile dezenfekte edilmeli.

Özetle; sıcak su ve sabunla elleri yıkamak, şüpheli suları kaynatarak içmek ve yiyecekleri iyice pişirmek gibi basit ama etkili önlemler ile NoV enfeksiyonundan korunmak mümkündür(16). Semptomların sona ermesinden sonra da en az üç gün bulaştırıcılık devam eder bu nedenle çocuklar bu sürede okula gitmemeli, yemek sektöründe çalışanlar çalışmamalı.

4.11.AŞI ÇALIŞMALARI

Henüz norovirüse karşı bir aşı geliştirilememiştir, ancak virüs-benzeri partiküllerin (VLP) kullanıldığı çeşitli çalışmalar yapılmıştır ve araştırmalar devam etmektedir. Aşı deneylerinde Norwalk virüs (GI.1) kapsamlı bir şekilde çalışılmış ve böcek ile bitki hücrelerinde üretilen Norwalk VLP'lerinin (NVLP) fare ve insanlara oral veya intranasal olarak verildiği zaman; sistemik ve mukozal anti-NV antikorlarının üretimini stimüle ederek, immünojenik özellik gösterdiği saptanmıştır (54).

Rekombinant kapsit protein aşıları çalışmaları devam etmektedir. Aşılarda en çok kullanılanlar VLP'ler ve P partikülleridir. GI.4 kapsidi (ORF2) antijenik değişim gösterir. Trangenik bitki bazlı norovirüs aşıları. Norovirüs P partikül ve kombinasyon aşıları , trivalan norovirüs rotavirüs kombinasyon aşıları, iki valanlı norovirüs VLP aşı çalışmaları devam etmektedir.

Lucero ve arkadaşları tarafından haziran 2017 de yayınlanan bir araştırmada, artan gastroenterit etkeni olan norovirüs aşı çalışmalarının devam ettiği, özellikle 5 yaş altı çocuk popülasyonunda gerekliliği vurgulamıştır. Çalışmada bir aşı çalışmasının faz 2 klinik aşamasında olduğu diğer çalışmaların da prelinik aşamasında olduğu kaydedilmiştir. (55)

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmamız prospektif ve hastane bazlı bir çalışmadır. İstanbul'da yapılan çalışmada, Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi çocuk acil servisine kusma ve ishal şikâyetiyle başvuran hastalar dâhil edildi.

Çalışmada Aralık 2016- Haziran 2017 tarihleri arasında 0-5 yaş hasta grubu ele alındı. Çalışma hastaları başvuru bazlı alındı, çocuk acil plikliniğimize gastroenterit bulguları ile gelen hastalar çalışmaya alındı. Bazı hastaların farklı zamanlardaki başvuruları farklı ay veya yılda ve farklı semptomlar ile olabildiğinden her biri ayrı olgular olarak değerlendirildi. Çalışmanın yöntemi gereği başka semptom veya kronik hastalık olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Hastaların yaş, cinsiyet, başvuru ayı, müşahade süresi, tetkiklerinde tam kan sayımında (beyaz küre sayısı, nötrofil sayısı, trombosit sayısı) , üre, kreatinin , ürik asit , C-Reaktif Protein, idrar dansitesi ve idrarda keton değerleri, dışkıda rotavirüs, norovirüs ve adenovirüs bakıldı.

Çalışmada elde edilen veriler SPSS 20.0 for Windows paket programında analiz edildi. Sürekli değişkenlerden normal dağılım gösterenler ortalama±standart sapma, normal dağılım göstermeyenler ortanca (en düşük-en yüksek) şeklinde ifade edildi. Normal dağılım histogram ve Kolmogorov Smirnov testi ile değerlendirildi. Kategorik değişkenler sayı (yüzde) ile ifade edildi. İki grup ortalaması arasındaki farkın anlamlılığı normal dağılmayan verilerde Mann Whitney-U testi ile, ikiden fazla grupta Kruskal Wallis Testi ile değerlendirildi. Kategorik değişkenlerde iki grup arasındaki farkın anlamlılığı Ki-Kare testi ile değerlendirildi. $p < 0.05$ düzeyi anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Toplamda 72 hasta mevcuttu. Bu hastalardan birisi 4 defa, 10'u 2 defa başvurmuştu. Bu şekilde toplamda 85 başvuru değerlendirmeye alındı. Tüm hesaplamalar 85 başvuru üzerinden yapıldı.

Hastaların ortalama yaşı 22.2 ± 20.6 ay idi, ortanca yaş 13 ay idi (1-96 ay aralığında). Hastaların %58.1' i (n=43) erkek idi. Erkek ve kızların cinsiyete göre yaş dağılımı Şekil 7' de gösterilmiştir.



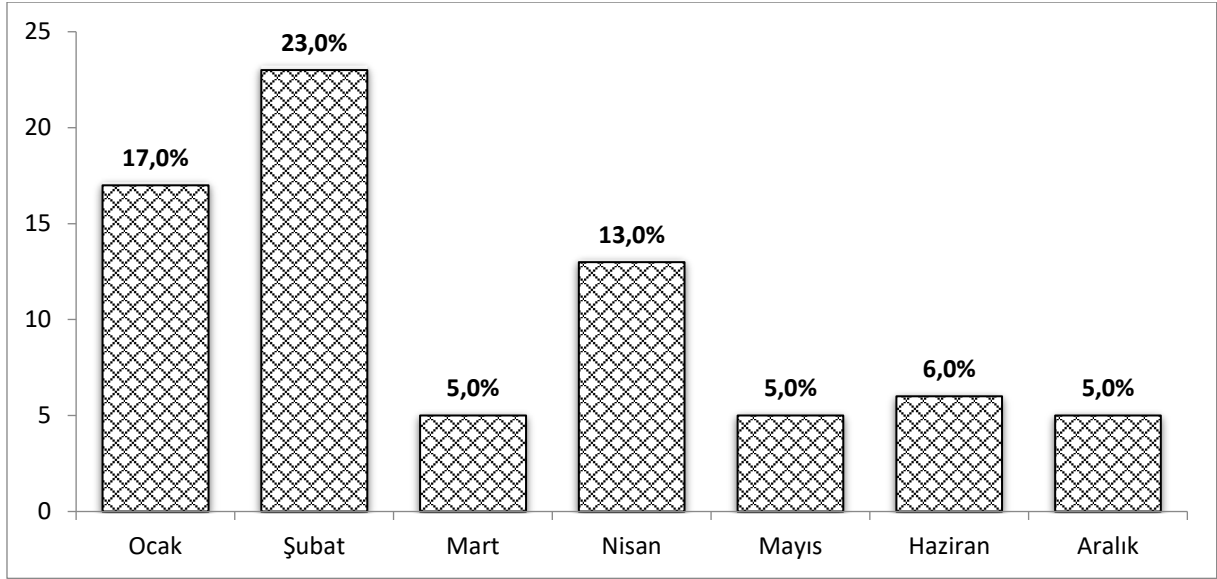
Şekil 7.Cinsiyete göre yaş dağılımı.

Hastaların %94.6' sında (n=70) kusma vardı, ishal oranı ise %100 olarak bulundu. Çünkü çalışmaya dahil edilen vakaların tümünde ishal şartı arandı.

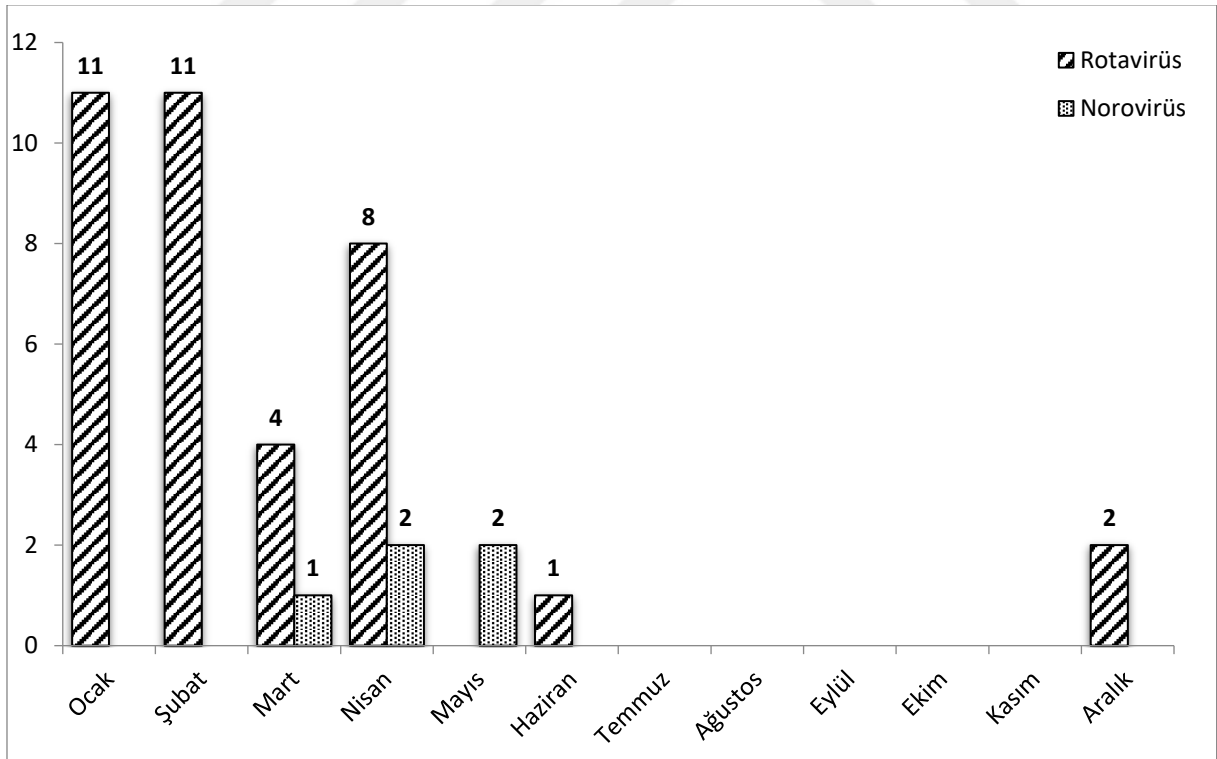
Hastaların hiçbirisine adenovirüs tespit edilmedi, %50' inde (n=37) rotavirüs tespit edildi, %6.8' inde (n=5) norovirüs tespit edildi, 2 hastada ise hem rotavirüs hem de adenovirüs birlikte tespit edilmiştir.



Başvuru aylarında bakıldığında en sık başvuru şubat ayında idi (Şekil 8).



Şekil 8. Aylara göre hasta başvuru sıklığı



Şekil 9. Aylara göre rotavirüs ve norovirüs dağılımı

Hastalarda tespit edilen virüs tipinin cinsiyete göre dağılımı Tablo 4’ de gösterilmiştir. Rotavirüs ve norovirüs her iki cinsiyette bezer sıklıkta görülmekteydi (Tablo 4).

Tablo 1. Cinsiyete göre rotavirüs ve norovirüs görülme sıklıkları

	Toplam	Cinsiyet		p
		Kız	Erkek	
Rotavirüs	37 (%50)	17 (%54,8)	20 (%46,5)	0,480
Norovirüs	5 (%6,8)	3 (%9,7)	2 (%4,7)	0,395

p<0.05 düzeyi anlamlıkabul edildi.

Hastaların başvuru sırasında bakılmış olan laboratuvar değerlerinin ortalama, ss, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri Tablo 5’ de gösterilmiştir.

Tablo 5. Hastaların laboratuvar değerleri dağılımı

	Ortalama	SS*	Ortanca	Minimum	Maksimum
Lökosit (x10 ³ /uL)	12,10	4,94	11,68	2,67	28,50
Nötrofil (x10 ³ /uL)	6,77	4,79	5,63	0,59	22,20
Trombosit (x10 ³ /uL)	328	107	323	113	638
Üre (mg/dL)	27	14	25	5	99
Kreatinin (mg/dL)	0,39	0,45	0,33	0,15	4,10
Ürik asit (mg/dL)	5,52	1,96	5,30	1,60	11,70
CRP (mg/dL)	2,27	2,97	0,99	0,01	11,98
İdrar dansitesi	1018	9	1020	1001	1036
İdrarda keton	1,4	1,5	1	0	4

*: standart sapma

Hastaların %50' inde (n=37) rotavirüs tespit edildi. Rotavirüs pozitifliğine göre laboratuvar değerleri dağılımı Tablo 6' de gösterilmiştir. Rotavirüs pozitif olanlarda ürik asit ve idrar dansitesi belirgin olarak daha yüksek idi (p değerleri sırasıyla **<0.001** ve **0.048**). Diğer laboratuvar değerleri rotavirüs pozitif ve negatif olan hastalarda benzerdi.

Tablo 6. Rotavirüs pozitifliğine göre laboratuvar değerleri dağılımı.

	ROTAVİRÜS		p
	Negatif (Ortalama±SS)	Pozitif (Ortalama±SS)	
WBC(x10 ³ /uL)	12,9±5,6	11,3±3,9	0,206
Nötrofil(x10 ³ /uL)	7,4±5,7	6±3,5	0,574
Trombosit(x10 ³ /uL)	311,1±115,6	344,9±96,6	0,166
Üre (mg/dL)	24,7±12,7	30,1±15,7	0,127
Kreatinin (mg/dL)	0,4±0,6	0,3±0,1	0,581
Ürik asit (mg/dL)	4,5±1,6	6,3±1,8	<0,001
CRP (mg/dL)	2,5±3,4	1,9±2,4	0,593
İdrar dansitesi	1015,5±9	1020,7±8,3	0,048
İdrarda keton	1,1±1,3	1,7±1,5	0,133

p<0.05 düzeyi anlamlı kabul edildi.

Hastaların %6.8' inde (n=5) norovirüs tespit edildi. Norovirüs pozitifliğine göre laboratuvar değerleri dağılımı Tablo 7' te gösterilmiştir. Norovirüs pozitif olanlarda WBC ve nötrofil düzeyi belirgin olarak daha yüksek iken (p değerleri sırasıyla **0.005** ve **0.010**), trombosit düzeyi belirgin olarak daha düşük idi (**p=0.048**). Diğer laboratuvar değerleri norovirüs pozitif ve negatif olan hastalarda benzerdi.

Tablo 7. Norovirüs pozitifliğine göre laboratuvar değerleri dağılımı

	NOROVİRÜS		p
	Negatif (Ortalama±SS)	Pozitif (Ortalama±SS)	
WBC (x10 ³ /uL)	11,6±4,5	18,8±5,9	0,005
Nötrofil (x10 ³ /uL)	6,2±4,2	13,7±6,5	0,010
Trombosit (x10 ³ /uL)	334,6±106,4	237,2±78,4	0,048
Üre (mg/dL)	27,7±14,5	23,6±13,2	0,546
Kreatinin (mg/dL)	0,3±0,4	0,3±0,1	1,000
Ürik asit (mg/dL)	5,5±1,9	4,6±0	0,603
CRP (mg/dL)	2,1±2,8	3,2±4,7	0,451
İdrar dansitesi	1017,8±9,2	1017,2±6,8	0,932
İdrarda keton	1,4±1,5	1±1,1	0,663

p<0.05 düzeyi anlamlı kabul edildi.

Tablo 8. Tespit edilen patojene göre laboratuvar değerleri dağılımı

	Hiçbirisi	Rotavirüs	Norovirüs	Rotavirüs & Norovirüs
WBC (x10 ³ /uL)	12,09±5,01	11,14±4,03	22,05±5,58	14±0,28
Nötrofil (x10 ³ /uL)	6,53±4,88	6±3,62	18,05±3,62	7,26±2,49
Trombosit (x10 ³ /uL)	319,76±114,26	349,05±97,72	213±98,06	273,5±31,81
Üre (mg/dL)	25,08±12,54	30,28±16,12	21,33±17,89	27±4,24
Kreatinin (mg/dL)	0,43±0,65	0,34±0,1	0,42±0,23	0,31
Ürik asit (mg/dL)	4,59±1,63	6,38±1,88	4,6±0	
CRP (mg/dL)	2,39±3,2	2,01±2,45	4,6±6,14	1,15±1,39
İdrar dansitesi	1015,74±9,31	1020,66±8,61	1013±2,82	1021,5±7,77
İdrarda Keton	1,11±1,39	1,8±1,6	1±1,41	1±1,41

Tablo 9. Rotavirüs ve Norovirüs pozitifliğine göre laboratuvar değerleri

	Hiçbirisi X Rotavirüs	Hiçbirisi X Norovirüs	Rotavirüs X Norovirüs
WBC ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0,384	0,009	0,006
Nötrofil ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0,957	0,006	0,004
Trombosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0,242	0,119	0,037
Üre (mg/dL)	0,177	0,521	0,244
Kreatinin (mg/dL)	0,497	0,697	0,892
Ürik asit (mg/dL)	0,001	0,795	0,212
CRP (mg/dL)	0,792	0,330	0,210
İdrar dansitesi	0,082	0,730	0,251
İdrarda keton	0,120	1,000	0,497

WBC ve nötrofil düzeyi sadece rotavirüs varlığında belirgin olarak değişmezken norovirüs varlığında hem sadece rotavirüs varlığına hem de patojen tespit edilmeyen ishal tiplerinden daha yüksek değerlerde idi (Tablo 9). Trombosit düzeyi sadece rotavirüs veya sadece norovirüs varlığında diğer ishal nedenlerine göre belirgin farklılık göstermezken norovirüste trombosit değerleri rotavirüse göre daha düşük idi (**p=0,037**). Ürik asit düzeyi rotavirüste diğer ishal nedenlerine göre belirgin olarak daha yüksek idi (**p=0,001**).

Hastaların %4,1' i (n=3) ayaktan tedavi verilerek taburcu edilmiştir, bu hastaların tümünde rotavirüs ve norovirüs negatif olarak tespit edilmiştir. Hastaların %87,8' i (n=65) acil serviste belirli bir süre takip ve tedavi sonrasında taburcu edilmiştir. Bu hastaların acil serviste ortalama takip süresi 11,12±6,55 saat, ortanca süre 10 saat (3-29 saat aralığında) idi. Hastaların %8,1' i (n=6) servise yatırılarak tedavi edilmiştir. Bu hastaların serviste ortalama takip süresi 5,50±1,05 saat, ortanca süre 5,5 gün (4-7 gün aralığında) idi.

Tablo 10. İshal etkenine göre acil servis ve serviste yatış süresi

	Acil serviste takip süresi (saat)			Yatış süresi (Gün)		
	n (%)	Ort±SS	Ortanca (min-max)	n (%)	Ort±SS	Ortanca (min-max)
Hiçbirisi	27 (79,4)	9,3±6,5	7(2,5-29)	4 (11,8)	5,2±1,2	5(4-7)
Rotavirüs	34 (97,1)	12,2±6,1	13(4,5-28)	1 (2,9)	6	6
Norovirüs	2 (66,7)	12,7±8,8	12,7(6,5-19)	1 (33,3)	6	6
Rotavirüs & Norovirüs	2 (100)	14±11,3	14(6-22)			
P		0,117			0,635	

p<0.05 düzeyi anlamlı kabul edildi.

İshal etkenine göre acil serviste takip süresi ve serviste yatış süresinde belirgin farklılık yoktu (sırasıyla p=0,117 ve p=0,635).

TARTIŞMA

Gastrointestinal sistemin viral enfeksiyonları, özellikle çocuk popülasyonunda akut dehidratasyona sebep olan diyare ile sonuçlanan, dünya genelinde ve Türkiye’de çocukları etkileyen önemli bir halk sağlığı sorunudur (56).

Dünya genelinde 2,2 milyon insanın ishal nedeniyle öldüğü ve beş yaşın altındaki çocuklarda görülen 10,4 milyon ölümün yıllık ~1.8 milyon yani % 17’sine ishaller hastalıklarının neden olduğu bildirilmiştir (57). İnfeksiyöz ishaller arasında viral gastroenteritler önemli bir yer tutmaktadır. Bu gastroenteritlerde rastlanan patojenler rotavirüs başta olmak üzere adenovirüsler, norovirüsler ve astrovirüslerdir (58,59).

Tanı imkanlarının gelişmesi, de moleküler yöntemlerin kullanılmaya yaygınlaşmasıyla norovirüsler (NoV) her yaş grubundaki tüm epidemik gastroenteritlerin yaklaşık %50’sine ve bakteriyel olmayanların %90’ından fazlasına sebep olarak, epidemik gastroenteritlerin önde gelen nedeni olarak belirlenmiştir. Goodgame tarafından kaleme alınan bir makalede, akut infeksiyöz ishallerle başvuran yetişkinlerde yaklaşık %20 sıklıkla, çocuklarda ise %7-9 oranında etkenin norovirus olduğu belirtilmektedir(60). Her yıl NoV’un gelişmiş ülkelerdeki çocuklar arasında hastane yatışını gerektiren 64 000 ishal vakasına, 900 000 ayaktan poliklinik başvurusuna ve gelişmekte olan ülkelerde 5 yaş altı çocuklarda 200 000’e varan ölüme neden olduğu tahmin edilmektedir (61).

Son yıllarda, rotavirüs aşısının 2006 ve 2007 yıllarında uygulanmaya başlanmasından sonra rotavirüse bağlı akut gastroenteritlerinin azalması ve norovirüs gastroenteritlerinin sıklığının arttığını görmekteyiz (62,63).

Literatüre göre, norovirüs gastroenteritleri çocuklardaki tüm akut gastroenteritlerin ortalama olarak %6,9-39,2 den sorumludur. Birçok ülkede NoV’lar gastroenteritli hastalardan alınan dışkı örneklerinin rutin analiziyle çalışılmamaktadır. Bu nedenle NoV enfeksiyonundan kaynaklanan sorunlar ile ilgili verilerimiz sınırlıdır ve gerektiği kadar önemsenmemektedir(64).

Türkiye’de ve dünyada Norovirüs sıklığını araştıran çeşitli çalışmalar vardır, çalışmamıza dahil edilen hastaların norovirüse bağlı ishal sıklığı %6,8 olarak saptadık ve literatüre benzerlik göstermektedir.

Türkiye’de yapılan çalışmalardan 2002-2004 İstanbul üniversitesi Cerrahpaşa tıp Fakültesinde bu konu ile yapılan uzmanlık tezinde çocuklarda hastane kaynaklı ishallerde norovirüs sıklığı %6.9 oranında bulunmuştur (65).

2014 yılında İstanbul Yeditepe Üniversitesi çocuk Hastanesinde yapılan bir çalışmada çocuk acil ünitesine ishal nedeniyle başvuran ve gaitada norovirüs, rotavirüs ve adenovirüs antijeni bakılmış, 0-16 yaş 644 hasta incelenmiş, rotavirüs %12,7; norovirüs %9,8 ve adenovirüs %4,9 olarak saptanmıştır. İlk iki yaş öne çıkan etken norovirüs, 2-5 ve 6-16 yaş arası ise rotavirüs majör patojen olarak karşımıza çıkmaktadır (66).

1027 ishallerli hastada yapılan bir çalışmada norovirus sıklığı n:112 (%10,9) norovirüs pozitif saptanmış ve vakaların %67 si 1-24 ay arasındaydı. Hastaların %97,2 diyare, %95,4 kusma, %65,1 karın ağrısı şikayeti mevcuttu. Hastaların lökosit ve nötrofil değerlerinde norovirüs negatif olanlara göre anlamlı yükseklik mevcuttu (67).

Avrupa’da yapılan çalışmalarda ise çocuklarda en düşük sporadik NoV gastroenteriti prevalansı %6.5 ile Macaristan’da; en yüksek prevalans ise %39.2 ile İtalya’da ve %29 ile Finlandiya’da görülmektedir(64). Amerika Birleşik Devletleri’nde yürütülen çalışmalardaki ortalama NoV sıklığı ise %12 olarak tespit edilmiştir (68).

Daniel C.Payne ve arkadaşlarının Mart 2013’ te Amerika’da 1295 hasta ile yaptığı bir çalışmada norovirüs 278 (%21) rotavirüs ise 152 (%12) pozitif sonuçlanmış. Kontrol hasta grubun ise %4 norovirüs %1 de rotavirüs pozitif olması de asemptomatik enfeksiyonun çok az olduğunu kanıtlamaktadır (69).

Gürol ve arkadaşları, İstanbul Yeditepe Üniversitesi Hastanesi’ne 01.01.2009-01.08.2010 tarihleri arasında akut gastroenterit şikayeti ile başvuran hastalardan alınan dışkı örneklerinde norovirüs genogrup I ve genogrup II antijenlerine karşı ortak reaksiyon veren immünokromatografik hızlı tanı kitiyle NoV antijeni varlığını araştırmışlardır. Toplam 1500 dışkı örneğinin 162 (%10.8)’sinde NoV GI/GII antijeni tespit edilmiştir (70).

Başka bir çalışmada akut gastroenteritli 240 hastanın pcr yöntemiyle gaitada analizi ile viral etkenler araştırıldı. Hastaların n:56(%42,8) norovirüs; n: 44(%33,6) rotavirüs; n:29(%22,1) adenovirüs; n:21(%16) parechovirüs;n: 5(%3,8) sapovirüs; n:1(%0,8) aichivirüs pozitif olarak saptandı. Rotavirüs kış aylarında pik yaparken norovirüs daha ziyade yaz aylarında yaygın olarak görülmektedir (77).

Bizim çalışmamızda ise, toplam 74 akut gastroenterit nedeniyle başvuran vakadan alınan dışkı örnekleri ELISA testiyle çalışılmış ve bunların 5 (%6,8)'i daha önce belirtilen benzer çalışmalarla (65;66) uyumlu olarak NoV GI/GII antijeni bakımından pozitif olarak saptanmıştır. Bu değer, Türkiye' de ve dünya literatüründeki çalışmalardan elde edilen rakamlar aralığında %6.9-39.2(60,64,65,67,68,70) bulunmaktadır.

Çalışmaya 74 hasta dahil edildi. Hastaların ortalama yaşı 22.2 ± 20.6 ay idi, ortanca yaş 13 ay idi (1-96 ay aralığında). Hastalar yaş gruplarını baz alarak sınıflama yapıldığında ELISA pozitifliği yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0.05$), ancak norovirüs antijen pozitif saptanan hasta grubunun tamamı 24 ayın altında. Dünya literatürüne baktığımızda buna benzer sonuçların Oldak ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarından da elde edildiğini görmekteyiz (64).

Kayoko ve arkadaşlarının 2015 te yaptığı çalışmada norovirüs hastalığından en çok etkilenen 6-23 ay yaş grubu olduğunu kaydetmiş. Norovirüs gastroenteritine karşı geliştirilecek aşılarda bu yaş grubuna yönelik olmasının önemi vurgulanmıştır(73).

Bu durumun, o yaş grubundaki çocukların dış çevre ile tanışma ve yürümeye başlaması dolayısı ile kontamine yüzeylerle temas olasılığının artmasına bağlı olabileceğini düşündürmektedir.

Hastaların %58.1' i ($n=43$) erkek idi, çalışmamızdaki kız ve erkek hastalar sonuçları açısından ayrı ayrı değerlendirildiğinde cinsiyet grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p > 0.05$). Bu durum da norovirüsün cinsiyete bağlı olmayan bir enfeksiyon etkeni olduğunu doğrulamaktadır.

Norovirüs ELISA sonuçları mevsimlere göre incelendiğinde, norovirüs pozitif vakaların mart, nisan, mayıs aylarında olduğu görülmektedir. Dünya literatürüne bakıldığında norovirüsün daha çok kış mevsiminde ve ilkbaharın başlarında salgınlar meydana getirdiği görülmektedir. Bununla beraber, akut gastroenteritlerin mevsimsel bir dağılım göstermediği ve yılın her döneminde etken olabilecekleri de belirtilmektedir(71).

Akut gastroenterite sebep olan norovirüs enfeksiyonunda kusma ve ishal önemli belirtilerlerdendir (27). Norovirüs antijeni saptanan hastaların %94,6 inde kusma görülürken, ishal tümünde görülmüştür. İshal varlığına göre norovirüs ELISA

pozitifliği yönünden neredeyse hastaların tümünde ishal olduğundan istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Hastaların %4.1' i ($n=3$) ayaktan tedavi verilerek taburcu edilmiştir, bu hastaların tümünde rotavirüs ve norovirüs negatif olarak tespit edilmiştir. Hastaların %87,8' i ($n=65$) acil serviste belirli bir süre takip ve tedavi sonrasında taburcu edilmiştir. Bu hastaların acil serviste ortalama takip süresi $11,12\pm6,55$ saat, ortanca süre 10 saat (3-29 saat aralığında) idi. Hastaların %8,1' i ($n=6$) servise yatırılarak tedavi edilmiştir. Bu hastaların serviste ortalama takip süresi $5,50\pm1,05$ saat, ortanca süre 5,5 gün (4-7 gün aralığında) idi. Çalışmaya dahil edilen hastaların rotavirüs ve norovirüs pozitif acil serviste gözlem sürelerine bakıldığında sırasıyla ortalama 13 saat ve 12.7 saat olarak saptadık. Bu da sporadik norovirüs gastroenteritlerin rotavirüs ishali ile yakın sonuçlar olduğunu göstermektedir.

Bir gastroenterit salgınının etkenine 'norovirüs' tanısı konulabilmesi için öncelikli olarak 'Kaplan Kriterleri' dikkate alınmaktadır. Bu kriterlerden biri de dışkıda bakteriyel patojen olmamasıdır (72). Bizim çalışmamızda da ELISA pozitif hastaların hiçbirinde bakteriyel bir patojen tespit edilmemiştir.

Çalışmamızda literatür ile paralel olarak çocukluk çağında en sık ishal nedeni rotavirüs; ikinci sıklıkta ise norovirüs saptandı (66).

Hastaların %50' inde ($n=37$) rotavirüs tespit edildi. Rotavirüs pozitifliğine göre laboratuvar değerleri dağılımı Tablo 3' de gösterilmiştir. Rotavirüs pozitif olanlarda ürik asit ve idrar dansitesi belirgin olarak daha yüksek idi (p değerleri sırasıyla <0.001 ve 0.048). Diğer laboratuvar değerleri rotavirüs pozitif ve negatif olan hastalarda benzerdi.

Hastaların %6.8' inde ($n=5$) norovirüs tespit edildi. Norovirüs pozitif olanlarda olmayanlara göre WBC ve nötrofil düzeyi belirgin olarak daha yüksek iken (p değerleri sırasıyla 0.005 ve 0.010), trombosit düzeyi belirgin olarak daha düşük idi ($p=0.048$). Diğer laboratuvar değerleri norovirüs pozitif ve negatif olan hastalarda benzerdi(67).

Trombositopeni le ilgili yayın danış.....

Sonuç

Çocukluk çağında akut gastroenteritler, solunum yolu enfeksiyonlarından sonra ikinci sırada yer almaktadır. Akut gastroenteritlerin en sık nedeni viral etkenler, viral etkenlerin en sık nedeni ise rotavirüs ikinci sırada ise norovirüs gelmektedir. Türkiyede ve tüm dünyadaki norovirüs prevalansı araştırmalarıyla uyumlu olan çalışmamızda, %6,8 oranında saptadığımız norovirüs GI ve GII enfeksiyonlarının 0-5 yaş arası çocuklarda bakteriyel olmayan gastroenterite yol açan önemli bir etken olduğu gösterilmiştir.

Norovirüs özellikle yaşamın ilk iki yılında görülen ve hem morbidite oranını hem de ekonomik yükü önemli oranda etkileyen önemli bir çocukluk çağı hastalığıdır. Bu enfeksiyonun gastrointestinal sistemde etki göstermesi ayrıca bir öneme sahip çünkü çocukların bu dönemde kusma ve ishal kliniğinden dolayı gıda alamama, malabsorpsiyon ve sonuç olarak geçici büyüme duraksaması meydana gelmektedir. Akut gastroenterit bulguları olan çocukta gaita örneklerinden norovirüs antijeninin bakılması doğru tanıyı koyarak gereksiz antibiyotik kullanılması önlemiş olacaktır.

Norovirüs, dünyada ülkeler arası seyahatlerin artması ve benzeri sebeplerle hızla yayılmaktadır. Özellikle son dönemde etkin rotavirüs aşısının kullanımıyla, norovirüsün görülme sıklığının daha da artacağını düşünmekteyiz. Bu nedenle norovirüsün rutin tanı laboratuvarlarında çalışılması ve gerekli önlemlerin alınması gerekmektedir. Bu doğrultuda çalışmamızla, bölgemiz çocuklarındaki norovirüs insidansı belirlenerek önemli epidemiyolojik veriler elde edilmiştir.

Kaynaklar:

1. Thornton AC, Jennings-Conklin KS, McCormick MI. Noroviruses: agents in outbreaks of acute gastroenteritis. *Disaster Management Response* 2004; 2(1): 4-9.
2. Patel MM, Widdowson MA, Glass RI, Akazawa K, Vinje J, Parashar UD. Systematic literature review of role of noroviruses in sporadic gastroenteritis. *Emerg Infect Dis* 2008; 14(8): 1224-31. 1224-1231.
3. Donaldson EF, Lindesmith LC, Lobue AD, Baric RS. Norovirus pathogenesis: mechanisms of persistence and immune evasion in human populations. *Immunol Rev* 2008; 225: 190-211.
4. Bull RA, White PA. Mechanisms of GII.4 norovirus evolution. *Trends Microbiol* 2011; 19(5): 233-40.
5. Ozkul AA, Kocazeybek BS, Turan N, et al. Frequency and phylogeny of norovirus in diarrheic children in Istanbul, Turkey. *J Clin Virol* 2011; 51(3): 160-4.
6. Steiner T, Guerrant R. Principles and syndromes of enteric infections. In: Mandell G, Dolin R, Bennett J. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 7th ed. 2010:1335-1350.
7. Farthing M, Salam MA, Lindberg G, Dite P, Khalif I, Salazar-Lindo E, Ramakrishna BS, Goh KL, Thomson A, Khan AG, Krabshuis J, LeMair A; WGO. Acute diarrhea in adults and children: a global perspective. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 2013, 47:12-20.
8. Farthing M, Lindberg G, Dite P, Khalif I, Salazar-Lindo E, Ramakrishna BS, Goh K., Thomson A, Khan AG. Acute diarrhea. World Gastroenterology Organisation (WGO). World Gastroenterology Organisation practice guideline: March 2008. http://www.omge.org/assets/downloads/en/pdf/guidelines/01_acute_diarrhea.pdf. 22 May 2014.
9. Koo HL, Ajami N, Atmar RL, Dupont HL. Noroviruses: the principal cause of foodborne disease worldwide. *Discov Med* 2010; 10(50): 61-70.
10. Huang XY, Su J, Lu QC: A large outbreak of acute gastroenteritis caused by the human norovirus GII.17 strain at a university in Henan Province, China. *Infect Dis Poverty*. 2017 Feb

11. http://www.who.int/child-adolescent-health/OVERVIEW/CHILD_HEALTH/child_epidemiology.htm
12. World Health Organization (WHO). The Global Burden of Disease 2004 Update, WHO Press, Geneva (2008).
13. Gomez HF, Cleary TG. Cholera. In: Behrman RE, Kliegman RM, Arvin AM (eds). Nelson Textbook of Pediatrics (15th ed) Philadelphia: WB Saunders Co. 1996:798-800.
14. Zarakolu P, Aktepe OC, Güvener E: Çocukluk çağı ishallerinde etken olarak *Campylobacter jejuni* sıklığının araştırılması. Mikrobiyoloji Bülteni 1999;33(3):157-161.
15. Ashkenazi S, Cleary TG. Salmonella infections. In: Behrman RE, Kliegman RM, Arvin AM (eds). Nelson Textbook of Pediatrics (15th ed) Philadelphia: WB Saunders Co. 1996:784-790
16. Thornton AC, Jennings-Conklin KS, McCormick MI. Noroviruses: Agents in Outbreaks of Acute Gastroenteritis. Disaster Manage Response 2004; 2: 4-9.
17. Ustaçelebi ğ, Abacıoğlu H, Badur S. Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji. 1. Baskı Ankara: Güneş Kitabevi; 2004. s. 249-253.
18. Bruin E, Duizer E, Vennema H, Koopmans MPG. Diagnosis of norovirus outbreaks by commercial ELISA or RT-PCR. J Virol. Methods 2006; 137: 259-264.
19. Markell EK, John DT, Krotoski WA. In: Medical parasitology 8th ed. WB Saunders Comp; 1999:24-55.
20. Çelebi S, Ayyıldız A, Babacan M, Tuncel ME: İvegen ishalleri 0-2 yaş grubu çocuklarda enteropatojenlerin bulunma oranları. İnfeksiyon dergisi 1992;6:31-4.
21. Asanaka M, Atmar RL, Ruvolo V, Crawford SE, Neill FH, Estes MK. Replication and packaging of Norwalk virus RNA in cultured mammalian cells. PNAS 2005; 102(29): 10327-10332.

22. Herbst-Kralovetz M, Mason HS, Chen Q. Norwalk virus-like particles as vaccines. *Expert Rev Vaccines* 2010; 9(3): 299-307.
23. SIB, Swiss Institute of Bioinformatics. Hulo C, Masson P, Castro EC, Mercier PL. Swiss Prot Group, http://viralzone.expasy.org/all_by_species/194.html
24. Red book infection diseases.
25. Donaldson EF, Lindesmith LC, Lobue AD, Baric RS. Norovirus pathogenesis: mechanisms of persistence and immune evasion in human populations. *Immunol Rev* 2008; 225: 190–211.
26. Zeng D, Ando T, Fankhauser RL, Beard RS, Glass RI, Monroe SS. Norovirus classification and proposed strain nomenclature. *Virology* 2006; 346: 312 – 323.
27. Koo HL, Ajami N, Atmar RL, Dupont HL. Noroviruses: The Principal Cause of Foodborne Disease Worldwide. *Discov Med.* 2010; 10(50): 6170.
28. Schorn R, Höhne M, Meerbach A, et al. Chronic norovirus infection after kidney transplantation: molecular evidence for immune-driven viral evolution. *Clin Infect Dis* 2010; 51: 307–314
29. Shioda K, Kambhampati A, Hall AJ, Lopman BA. Global age distribution of pediatric norovirus cases. *Vaccine* 2015; 33:4065.
30. Siebenga JJ, Vennema H, Zheng D, Vinjé J, Lee BE, Pang X, 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.
31. Atmar RL, Estes MK. Human Caliciviruses. In: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG, editors. *Clinical Virology*. 3 rd ed. Washington: American Society for Microbiology; 2009. p. 1109-1121.
32. Hodges K, Gill R. Infectious diarrhea, cellular and molecular mechanisms. *Gut Microbes* 2010; 1(1): 4-21.

33. Koo HL, Ajami N, Atmar RL, Dupont HL. Noroviruses: The Principal Cause of Foodborne Disease Worldwide. *Discov Med*. 2010; 10(50): 61-70.
34. Division of Viral Diseases, National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Centers for Disease Control and Prevention. Updated norovirus outbreak management and disease prevention guidelines. *MMWR Recomm Rep* 2011; 60:1
35. Barclay L, Park GW, Vega E, et al. Infection control for norovirus. *Clin Microbiol Infect* 2014; 20:731.
36. National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Division of Viral Diseases. April 12, 2012. <http://www.cdc.gov/norovirus/about/symptoms.html>
37. Roddie C, Paul JPV, Benjamin R, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and norovirus gastroenteritis: a previously unrecognized cause of morbidity. *Clin Infect Dis* 2009;49:1061-68.
38. An outbreak of norovirus gastroenteritis in a county in Turkey. *Journal of Microbiology and Infectious Diseases* / 2014; 4 (1): 26-29 JMID doi: 10.5799/ahinjs.02.2014.01.0119.
39. Norovirus vaccines and potential antinorovirus drugs: recent advances and future perspectives, Jacob Kocher and Lijuan Yuan, *Future Virol*. 2015; 10(7): 899–913.doi: 10.2217/fvl.15.57.
40. De Medici D, Suffredini E, Crudeli S, Ruggeri FM. Effectiveness of an RT-booster-PCR method for detection of noroviruses in stools collected after an outbreak of gastroenteritis. *J Virol Methods* 2007; 144: 161-164.
41. Plantenga MS, Shiferaw B, Keene WE, Biggs C, Terry JM, Grenz L, et al. Specimen collection and confirmation of norovirus outbreaks. *Emerg Infect Dis* 2011; 17(8): 1553-1555.
42. Kirby A, Ashton L, Hart IJ. Detection of norovirus infection in the hospital setting using vomit samples. *J Clin Virol* 2011; 51: 86-87.
43. Kirby A, Dove W, Ashton L, Hopkins M, Cunliffe NA. Detection of norovirus in mouthwash samples from patients with acute gastroenteritis. *J Clin Virol* 2010; 48: 285-287.
44. Kele B, Lengyel G, Deak J. Comparison of an ELISA and two reverse transcription polimerase chain reaction methods for norovirus detection. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011; 70: 475-478.

45. Richards AF, Lopman B, Gunn A, Curry A, Ellis D, Cotterill H, et al. Evaluation of a commercial ELISA for detecting Norwalk-like virus antigen in faeces. *J Clin Virol* 2003; 26: 109-115.
46. Rohayem J, Bergmann M, Gebhardt J, Gould E, Tucker P, Mattevi A, et al. Antiviral strategies to control calicivirus infections. *Antiviral Res* 2010; 87: 162-178.
47. Duizer E, Pielaat A, Vennema H, Kroneman A, Koopmans M. Probabilities in norovirus outbreak diagnosis. *J Clin Virol* 2007; 40: 38-42.
48. Shirato H. Norovirus and Histo-Blood Group Antigens. *Jpn J Infect Dis* 2011; 64: 95-103.
49. King CK, Glass R, Bresee JS, Duggan C; Centers for Disease Control and Prevention. Managing acute gastroenteritis among children: oral rehydration, maintenance, and nutritional therapy. *MMWR Recomm Rep*. 2003 Nov 21;52(RR-16):1-16.
50. Scipioni A, Mauroy A, Ziant D, Saegerman C, Thiry E. A SYBR Green RT-PCR assay in single tube to detect human and bovine noroviruses and control for inhibition. *Virology J* 2008; 5: 94-101.
51. Kageyama T, Kojima S, Shinohara M, Uchida K, Fukushi S, Hoshino FB, et al. Broadly reactive and highly sensitive assay for Norwalk-like viruses based on real-time quantitative reverse-transcription PCR. *J Clin Microbiol* 2003; 41(4): 1548-1557.
52. Vinje J, Vennema H, Maunula H, von Bonsdorff C-H, Hoehne M, Schreier E, et al. International Collaborative Study To Compare Reverse Transcriptase PCR Assays for Detection and Genotyping Noroviruses. *J Clin Microbiol* 2003; 41(4): 1423-1433.
53. 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.
54. Herbst-Kralovetz M, Mason HS, Chen Q. Norwalk virus-like particles as vaccines. *Expert Rev Vaccines* 2010; 9(3): 299-307.
55. Lucero, Yalda, and Roberto Vidal. "Norovirus vaccines under development." *Vaccine* (2017).
56. Oldak E, Sulik A, Rozkiewicz D, Liwoch-Nienartowicz N, Zawadzka E. Norovirus and Rotavirus- Two major causative agents of sporadic viral gastroenteritis in hospitalized Polish children. *Adv Med Sci* 2009; 54(2): 183-186.
57. World Health Organization (WHO). The Global Burden of Disease 2004 Update, WHO Press, Geneva (2008).

58. Diarrhoeal diseases (updated february 2009).
http://www.who.int/vaccine_research/diseases/diarrhoeal/en/index4.html
59. Ferreira, Mônica Simões Rocha, et al. "Assessment of gastroenteric viruses frequency in a children's day care center in Rio De Janeiro, Brazil: a fifteen year study (1994–2008)." *PloS one* 7.3 (2012): e33754.
60. Goodgame R. Norovirus gastroenteritis. *Curr Gastroenterol Rep*. 2006;8(5): 401-408.
61. Patel MM, Widdowson MA, Glass RI, Akazawa K, Vinje J, Parashar UD. Systematic Literature Review of Role of Noroviruses in Sporadic Gastroenteritis. *Emerg Infect Dis* 2008; 8: 1224-1231.
62. Payne, Daniel C., et al. "Norovirus and medically attended gastroenteritis in US children." *New England journal of medicine* 368.12 (2013): 1121-1130.
63. Hemming, Maria, et al. "Major reduction of rotavirus, but not norovirus, gastroenteritis in children seen in hospital after the introduction of RotaTeq vaccine into the National Immunization Programme in Finland." *European journal of pediatrics* 172.6 (2013): 739-746.
64. Oldak E, Sulik A, Rozkiewicz D, Liwoch-Nienartowicz N. Norovirus infections in children under 5 years of age hospitalized due to the acute viral gastroenteritis in northeastern Poland. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012; 31(4): 417-422.
65. Özdamar M. Pediatrik nozokomiyal ishallerde viral etkenlerin saptanması. Uzmanlık tezi, İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. İstanbul,2004.
66. Bicer, Suat, et al. "A retrospective analysis of acute gastroenteritis agents in children admitted to a university hospital pediatric emergency unit." *Jundishapur Journal of Microbiology* 7.4 (2014).
67. Çöl, D., et al. "Relative frequency of norovirus infection in children with acute gastroenteritis." *Minerva pediatrica* 67.1 (2015): 19-24.
68. Ferreira MSR, Victoria M, Carvalho-Costa FA, Vieira CB, Xavier MPTP, Fioretti JM, Andrade J, Volotao EM, Rocha M, Leite JPG, Miagostovich MP. Surveillance of Norovirus Infections in the State of Rio De Janeiro, Brazil 2005–2008. *J Med Virol* 2010; 82: 1442–1448.
69. Payne, Daniel C., et al. "Norovirus and medically attended gastroenteritis in US children." *New England journal of medicine* 368.12 (2013): 1121-1130.
70. Gürol Y, Tekkanat Tazegün Z, Özen AO, Öksüz B, Acuner İÇ, Yanıkkaya Demirel G, Çelik G. Akut Gastroenterit Nedeni ile Başvuran Hastaların

Dışkılarında Norovirus Antijeninin ve Genogruplarının Araştırılması. XXXIV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi; 7-11 Kasım 2010; Girne, KKTC. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti; 2010.

71. Albayrak N, Yağcı Çağlayık D, Altağ AB, Korukluoğlu G, Ertek M. 2009 yılı akut viral gastroenterit verilerinin değerlendirilmesi. Turk Hij Den Biyol Derg 2011; 68 (1): 9-15.
72. Said MA, Perl TM, Sears CL. Gastrointestinal Flu: Norovirus in Health Care and Long-Term Care Facilities. Clin Infect Dis 2008; 47: 1202-8.
73. Shioda, Kayoko, et al. "Global age distribution of pediatric norovirus cases." Vaccine 33.33 (2015): 4065-4068.
74. Lindesmith L, Moe C, LePendü J, Frelinger JA, Treanor J, Baric RS. Cellular and humoral immunity following Snow Mountain Virus Challenge. J Virol 2005; 79(5): 2900–2909.
75. Souza M, Cheetham SM, Azevedo MSP, Costantini V, Saif LJ. Cytokine and antibody responses in gnotobiotic pigs after infection with human norovirus genogroup II.4 (HS66 strain). J Virol 2007; 81(17): 9183-9192.
76. Leon JS, Souza M, Wang Q, Smith ER, Saif LJ, Moe CL. Immunology of Norovirus Infection. Immunity Against Mucosal Pathogens 2008.
77. Bozkurt, Derya, et al. "Eight different viral agents in childhood acute gastroenteritis." Turkish Journal of Pediatrics 57.1 (2015).
78. Prasad et al, The structure of the capsid protein is shown as oriented such that the top is at the exterior of the capsid and the bottom face the inferior.