



T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİMDALI

**ÇOCUK YAŞ GRUBUNDA GÖRÜLEN GASTROENTERİTLERDE
VİRAL VE BAKTERİYEL ETKENLERİN KLASİK VE MOLEKÜLER
YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

Dr. Ayşegül TÜMGÖR

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Fügen Yarkın**

ADANA- 2010



T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİMDALI

**ÇOCUK YAŞ GRUBUNDA GÖRÜLEN GASTROENTERİTLERDE
VİRAL VE BAKTERİYEL ETKENLERİN KLASİK VE MOLEKÜLER
YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

Dr. Ayşegül TÜMGÖR

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Fügen YARKIN**

**Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Rektörlüğü Araştırma Fonu TF.2009.LTP.14
numaralı proje olarak desteklenmiştir.**

ADANA- 2010

TEŞEKKÜR

Mikrobiyoloji Anabilim Dalında asistanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocalarıma, çalışmaya başladığımız andan itibaren bilgisini ve desteğini esirgemeyen, tezimin hazırlanmasında benden yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım sayın Prof. Dr. Fügen Yarkın'a; Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr.Fatih Köksal'a, eğitim sürem boyunca pek çok şey paylaştığım değerli çalışma arkadaşlarıma, hayatım boyunca beni destekleyen anne ve babama, sevgili eşim Gökhan'a sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmamı, TF.2009.LTP.14 no'lu proje ile destekleyen Ç.Ü. Rektörlüğü Araştırma Fonu'na da teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO LİSTESİ	IV
ŞEKİL LİSTESİ	V
KISALTMA LİSTESİ	VI
ÖZET-ANAHTAR SÖZCÜKLER	VIII
ABSTRACT-KEYWORDS	IX
1-GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tanım	3
2.2. Tarihçe	5
2.3. Epidemiyoloji	6
2.4. Patogenez	8
2.4.1. İshal mekanizmaları	8
2.4.2. İnfeksiyöz Gastroenteritlerin Patogenezinde Rol Oynayan Mekanizmalar	10
2.4.2.1. Viral Gastroenteritlerin Patogenezi	13
2.4.2.2. Bakteriyel Gastroenteritlerin Patogenezi	15
2.5. Etiyolojik Ajanlar	22
2.5.1. Viruslar	22
2.5.1.1. Rotavirus	23
2.5.1.2. Enterik adenovirus	26
2.5.1.3. Norovirus	27
2.5.1.4. Astrovirus	29
2.5.1.5. Diğer Gastroenterit Etkeni Viruslar	30
2.5.1.6. Akut Viral Gastroenteritlerde Tanı	31
2.5.2. Bakteriler	37
2.5.2.1. Escherichia coli	37
2.5.2.2. Shigella	40
2.5.2.3. Campylobacter	41
2.5.2.4. Salmonella	43
2.5.2.5. Diğer Gastroenterit Etkeni Bakteriler	45
2.5.2.6. Akut Bakteriyel Gastroenteritlerde Tanı	46
2.5.3. Parazitler	51
2.6. Akut Gastroenteritlerde Tedavi ve Korunma	52
2.6.1. Akut Gastroenteritlerde Tedavi	52
2.6.2 Akut Gastroenteritlerde Korunma	54
3. GEREÇ VE YÖNTEM	56
3.1. Dışkı Örneklerinin toplanması	56
3.2. Rotavirus, Adenovirus, Norovirus ve Astrovirus antijenlerinin ELISA testi ile dışkı örneklerinde araştırılması	57
3.3. Rotavirus RNA'sının RT-PCR ile araştırılması	59

3.3.1. Dışkı örneklerinden RNA'nın ekstraksiyonu	59
3.3.2. Rotavirus VP7 ve VP4 genomunun tespiti için iki aşamalı RT-PCR testi	60
3.4. Rotavirus G genotiplemesi için RT-PCR testi	63
3.4.1. G genotiplemesi için multipleks seminested PCR testi	63
3.5. Rotavirus P genotiplemesi için RT-PCR testi	64
3.5.1. P genotiplemesi için multipleks seminested PCR testi	64
3.6. Agaroz jel elektroforezi ve görüntüleme	65
3.7. Shigella, Salmonella, Escherichia coli ve Campylobacter kültürde üretilmesi	66
3.7.1. Shigella, Salmonella, Escherichia coli ve Campylobacter ekimi ve üremelerinin değerlendirilmesi	66
3.7.2. Shigella, Salmonella, Escherichia coli ve Campylobacter İdentifikasyonu	67
3.7.3. İdentifikasyonda kullanılan testler	68
4. BULGULAR	70
5. TARTIŞMA	77
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	87
7. KAYNAKLAR	89
8. ÖZGEÇMİŞ	104

TABLO LİSTESİ

<u>Tablo no</u>	<u>Sayfa no</u>
Tablo 1: Akut ishal yapan sebepler	4
Tablo 2: Akut infeksiyöz ishallerde etkenler ve fizyopatolojik mekanizmaları	13
Tablo 3: Gelişmiş ülkelerde akut infeksiyöz ishallerin ana sebepleri	22
Tablo 4: Akut gastroenteriti olan 136 çocuk hastanın yaş gruplarına göre dağılımı	70
Tablo 5: Akut gastroenterit etkeni mikroorganizma gruplarının ishali olan 136 hastada görülme oranları	71
Tablo 6: Akut gastroenteritli vakalarda enteropatojenlerin görülme oranları	72
Tablo 7: Bakteriyel enteropatojenlerin kültür sonuçları	72
Tablo 8: Bakteriyel enteropatojenlerin kültür sonuçlarının cinsiyete göre dağılımı	73
Tablo 9: Viral antijen tespit edilen akut gastroenteritli vakaların cinsiyete göre dağılımı	74
Tablo 10: Grup A rotavirus antijeni pozitif 10 vakada G/P genotiplerinin dağılımı	76
Tablo 11: Rotavirus infeksiyonu olan 10 vakada G/P genotipleri sıklığı	76

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil no</u>	<u>Sayfa no</u>
Şekil 1: ELISA mikroplağı 1	58
Şekil 2: ELISA mikroplağı 2	58
Şekil 3: Spektrofotometre	59
Şekil 4: ELISA yıkama cihazı	59
Şekil 5: Rotavirus VP7 bölgesine ait 1062 bp uzunluğundaki genom bölgesi	62
Şekil 6: Rotavirus VP4 bölgesine ait 876 bp uzunluğundaki genom bölgesi	62
Şekil 7: Rotavirus G genotiplemesi (G1:749bp, G4:583bp ve G9:306bp)	74
Şekil 8: Rotavirus P genotiplemesi (P8: 345 bp, P11: 312 bp)	75

KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
Bfp	: Boundle Forming Pili
CaCo-2	: İnsan Kolon Karsinoma Hücreleri
CadF	: Campylobacter Adesion to Fibronectin
CAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
CARD	: Caspase Recruitment Domain
CDC	: Center for Disease Control; Hastalık Kontrol Merkezi
CesT	: Tir-Specific Chaperone
CFA	: Kolonizasyon Faktör
CGMP	: Siklik Guanozin Monofosfat
Cia	: Campylobacter Invasion Antigen
CLDT	: Cytolethal Distending Toxin
CS	: Coli Surface Associated Antigen
CTFR	: Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator
DAEC	: Diffüz Adheran <i>Escherichia Coli</i>
DCA	: Desoxycholate Citrate Agar
Dsb	: Double Strand Break A
dsRNA	: Çift Sarmallı RNA
EAEC	: Enteroagregatif <i>Escherichia Coli</i>
EAF	: Enteropatojen <i>Escherichia Coli</i> Aderens Faktörü
EHEC	: Enterohemorajik <i>Escherichia Coli</i>
EIEC	: Enteroinvaziv <i>Escherichia Coli</i>
ELİSPOT	: Enzyme-Linked Immunosorbent Spot
EM	: Elektron Mikroskopisi
EMB agar	: Eozin Metilen Mavisı Agar
ELİSA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EPEC	: Enteropatojen <i>Escherichia Coli</i>
ER	: Endoplazmik Retikulum
Esp	: <i>Escherichia Coli</i> Secreted Protein
ETEC	: Enterotoksikojenik <i>Escherichia Coli</i>
Gb	: Globotrisilseramid
HastV	: Human Astrovirus
HE agar	: Hektoen Enterik Agar
HEK	: İnsan Embriyonik Böbrek Hücreleri
HÜS	: Hemolitik Üremik Sendrom
IL-8	: İnterlökin-8
IM	: Işık Mikroskopu
Ipa	: İnvaziv Plazmid Antijen
Isc	: Isochorismate Synthase
JlpA	: Jejuni Lipoprotein A
KIA	: Kligler Iron Agar
LA	: Lateks Aglutinasyonu

LEE	: Locus For Enterosit Effacement;
LT	: Isı Labil Toksin
NFKB	: Nükleer Faktör Kappa Betaları
NLV	: Norwalk Benzeri Virus
NOD	: Nükleotide-Binding Oligomerization Domain
NSP	: Non-Structural Protein (yapısal olmayan protein)
ORF	: Open Reading Frame
ORS	: Oral Rehidrasyon Sıvısı
PAGE	: Poliakrilamid Jel Elektroforezi
PEB1	: Periplasmic Binding Protein
PFGE	: Pulsfield Gel Electrophoresis
RIA	: Radyoimmunassay
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
RT-PCR	: Reverse transcription-Polymerase Chain Reaction
SB	: Sağlık Bakanlığı
SMAC	: Sorbitollü MacConkey Agar
SLV	: Sapporo Benzeri Viruslar
SS agar	: Salmonella Shigella Agar
ST	: Isı Stabil Toksin
STEC	: Shiga toksin üreten <i>Escherichia Coli</i>
Tir	: Translocated İntimin Receptor
TLR	: Toll like Receptor
TNSA	: Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması
TSI	: Triple Sugar Iron
UNICEF	: Birleşmiş Milletler Çocuklara Yardım Fonu
VET-RPLA	: Ters Pasif Lateks Aglutinasyon
VLP	: Virus-Like Particles
VP	: Viral Protein
VTEC	: Verotoksikojenik <i>Escherichia Coli</i>
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
XLD agar	: Xylose Lysine Desoxycolate Agar

ÖZET

Çocuk Yaş Grubunda Görülen Gastroenteritlerde Viral ve Bakteriyel Etkenlerin Klasik ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması

Amaç: Akut gastroenterit bütün dünyada, özellikle gelişmekte olan ülkelerde yenidoğan ve küçük çocuklar için önemli bir sağlık sorunu ve önde gelen bir ölüm sebebidir. Bu çalışmanın amacı bölgemizde çocuklarda görülen akut gastroenteritlerde klasik ve moleküler tanı yöntemleri kullanılarak viral ve bakteriyel etkenlerin araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya Temmuz 2009 ile Ekim 2009 tarihleri arasında Adana Doğum ve Çocuk Bakımevi Hastanesi polikliniklerine ve acil servisine akut gastroenterit ile başvuran yaşları 0-12 yaş arasında değişen çocuklara ait 136 dışkı örneği dahil edildi. Dışkı örneklerinde bakteriyel enteropatojenlerin izolasyonu için klasik kültür yöntemi ve viral etkenlerden rotavirus, norovirus, astrovirus ve adenovirus antijenlerinin tanısı için Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) testi kullanıldı. Ayrıca rotavirus grup A antijeni pozitif bulunan dışkı örneklerinde önce reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) testi ile VP4 ve VP7 rotavirus genomları ve ardından semi-nested multipleks PCR testi ile G ve P genotipleri tespit edildi.

Bulgular: Toplam 136 vakanın % 20,6'sında (28 vaka) viruslar ve % 8,1'inde (11 vaka) bakteriler olmak üzere % 28,7'sinde (39 vaka) gastroenterit etkeni tespit edildi. Akut gastroenterit etkenlerinden sırasıyla; norovirus vakaların % 11'inde (15 vaka), rotavirus % 7,3'ünde (10 vaka), *Shigella sonnei* % 6,6'sında (9 vaka), adenovirus % 2,2'sinde (3 vaka), *Salmonella newport* % 0,7'sinde (1 vaka) ve *Campylobacter jejuni* %0,7'sinde (1 vaka) bulundu. Miks infeksiyon ise 2 vakada (% 1,5) gözlemlendi. Rotavirus antijeni pozitif bulunan 10 örnekte en baskın bulunan genotip % 30 oranla G9P[8] olup, bunu G9P[11] % 20 ve G4P[8] % 10 oranla izledi. G genotiplerinden G9 % 60 ve P genotiplerinden P[8] % 50 oranla en yaygın bulunan genotiplerdi.

Sonuç: Çalışmanın yapıldığı 2009 yaz döneminde akut gastroenteritli çocuklarda en fazla bulunan etkenler norovirus (% 11), rotavirus (% 7,3) ve *Shigella sonnei* (% 6,6)'dir. Akut gastroenteritlerin etyolojik tanısı ile destekleyici tedavi gerektiren viral etkenler ve antibiyotik tedavisi gerektiren shigella ve campylobacter gibi bakterilerin tespiti sonucu uygun hasta yönetimi sağlanacaktır.

Anahtar Kelimeler: Akut gastroenterit, bakteriler, çocuklar, ELISA, PCR, viruslar

ABSTRACT

The Investigation of Viral and Bacterial Enteropathogens in Children with Acute gastroenteritis by Conventional and Molecular Methods

Objectives: Acute gastroenteritis is significant health problem and causes death in infants and young children in the world, especially in developing countries. The aim of this study is investigation of viral and bacterial agents in children with acute gastroenteritis by conventional and molecular methods in our region.

Materials and Methods: Total 136 stool specimens obtained from children 1-12 years of aged with acute gastroenteritis who admitted to policlinics and emergency service of the Adana Children's Healthcare and Obstetric Hospital between July 2009 to October 2009. Conventional culture method was used for isolation of bacterial enteropathogens and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was performed to detect viral agents as rotavirus, norovirus, astrovirus and adenovirus antigens in stool specimens. VP4 and VP7 rotavirus genomes were detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) test in rotavirus grup A antigen positive stool samples, thereafter rotavirus G and P genotypes were determined by multiplex semi-nested PCR test.

Results: Gastrointestinal agent was found in 28,7 % of total 136 cases; viruses in 20,6 % (28 cases) and bacteria in 8,1 % (11cases). Of acute gastroenteritis agents, norovirus was detected in 11 % (15 cases), rotavirus 7,3 % (10 cases), *Shigella sonnei* 6,6 % (9 cases), adenovirus 2,2 % (3 cases), *Salmonella newport* 0,7 % (1 case) and *Campylobacter jejuni* 0,7 % (1 case), respectively. Mixed infection occurred in 2 cases (1,5 %). In rotavirus antigen positive 10 samples, the most prevalent genotype was G9P[8] with the rate of 30 %, followed by G9P[11] 20 % and G4P[8] 10 %. Among G and P genotypes, G9 with 60 % and P[8] 50 % were the most common rotavirus genotypes.

Conclusion: During the 2009 summer period of the study, the most common agents found were norovirus (11 %), rotavirus (7,3 %) and *Shigella sonnei* (6,6 %) in children with acute gastroenteritis. The etiologic diagnosis of acute gastroenteritis will provide appropriate patient management by detection of viral agents which need supportive therapy and bacteria as *Shigella* and *Campylobacter* which need antimicrobial therapy.

Keywords: Akut gastroenteritis, bacteria, children, ELISA, PCR, viruses

GİRİŞ

İshal ile seyreden hastalıklar tüm dünyada yaygın olmakla birlikte, az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde özellikle küçük çocuklar için son derecede önemli bir sağlık sorunu ve önde gelen bir ölüm sebebidir. Her ne kadar gelişmiş ülkelerde prevelans ve ciddiyeti azalsa da, akut ishal günümüzde hala çok sık görülmekte ve sıklıkla ciddi problemlere yol açmaktadır¹.

Oral rehidrasyon sıvılarının (ORS) yaygın kullanımı ile çocukluk çağında görülen ishallerin sebep olduğu mortalite yavaş yavaş azalmaktadır, fakat hala önemini sürdürmektedir^{2,3}. Dünyada beş yaşından küçük çocuklarda her yıl görülen 10,6 milyon ölümün, % 18-20'sinin sebebinin ishal olduğu ve çocukluk çağı mortalitesinin ikinci önemli sebebi olduğu gösterilmiştir⁴.

Çocukluk yaşlarında ortaya çıkan akut ishal ile seyreden hastalıkların en önemli sebebi gastrointestinal enfeksiyonlardır. Akut ishal ile birlikte çocuklarda bulantı, kusma, karın ağrısı, ateş ve dehidratasyon gibi bulgular da görülebilir. Akut ishal kliniği genellikle ortalama 5-7 gün içinde kendiliğinden düzelir, fakat çocukların % 10'unda ishal 7 günden uzun sürmektedir⁵. Gelişmekte olan ülkelerde beş yaş altında çocuklar yılda ortalama 3 kez (1-12 kez) ishal atağı geçirmektedir⁶.

Akut gastroenteritler çoğunlukla enfeksiyöz ajanlarla oluşmakla birlikte enfeksiyon dışı sebepler de göz önünde bulundurulmalıdır. Enfeksiyöz akut gastroenteritler viral, bakteriyel veya paraziter enteropatojenlere bağlı olarak ortaya çıkabilir. Gelişmiş ülkelerde enfeksiyöz ishallerin % 30-70'inden viruslar, % 10-20'sinden bakteriyel patojenler ve yaklaşık % 5-10'undan parazitlerin sorumlu olduğu bildirilmiştir⁷.

Akut gastroenterit her yaş döneminde ortaya çıkabilir, ancak etyolojik ajanlar ve hastalık şiddeti yaşa göre değişkenlik göstermektedir⁸. Akut gastroenterit sporadik olgular veya epidemiler şeklinde görülebilir. Akut gastrointestinal enfeksiyon kliniği, çok hafif seyirden ileri derecede sıvı kaybına kadar değişen geniş klinik spektruma sahiptir. Bulaşma sıklıkla fekal-oral yolla olur. Enfeksiyöz ishalde mikroorganizmanın cinsi hastalığın klinik seyri, tedavi ve alınacak önlemler açısından önemlidir. Etkeni

belirleyen faktörler içinde coğrafik bölge, mevsim, sosyoekonomik koşullar, yaş, beslenme, immun yetmezlik ve yaşam tarzı da önemli rol oynar.

Çocuklarda akut ishal yapan sebeplerin yalnızca % 60-70'ine tanı konulabilmektedir ve çoğunluğunu gastrointesinal infeksiyonlar oluşturmaktadır⁵. Avrupa ülkelerinde birçok araştırma merkezinde yapılan ve bir yıldan uzun süren çalışmalarda 287 ishallerli çocuk değerlendirilmiş ve bunların % 65,6'sında bir enteropatojen tespit edildiği, en sık da rotavirusun (% 35,1) etken olduğu bildirilmiştir⁹.

Akut gastroenteritlerin tanısında öykü ve klinik özellikler yol gösterse de kesin tanı için laboratuvar desteğine ihtiyaç vardır. Viral gastroenteritlerin tanısında en çok dışkıda viral antijenlerin tespitine dayanan enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ve lateks aglütinasyonu (LA) testi kullanılmaktadır. Ancak viral genomun tespiti için kullanılan nükleik asit amplifikasyon tekniklerinin daha duyarlı olduğu bildirilmiştir. Rotavirus, norovirus, sapovirus, astrovirus ve adenovirusun birlikte tespiti için multiplex Reverse transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) testleri de geliştirilmiştir. Dışkı örneklerinde bakteriyel enteropatojenlerin laboratuvar tanısında konvansiyonel kültür metodları temeldir. Bununla birlikte kültür metodu ile tanı 3-5 gün kadar uzun sürebilir. Bakterilerin identifikasyonu için kullanılan kültür metodları zaman alıcı ve yorucu olabilir, diğer flora elemanlarının baskılaması sebebiyle az sayıdaki patojenin ayrımı gözden kaçabilir. Son yıllarda geliştirilen PCR testleri de bakteriyel enteropatojenlerin tespitinde kullanılmakta olup, daha sensitif ve hızlı olduğu gösterilmiştir¹⁰.

Bu çalışmanın amacı bölgemizde akut gastroenteritli çocuklarda klasik ve moleküler yöntemleri kullanarak hem viral hem de bakteriyel enteropatojenleri birlikte değerlendirmek, epidemiyolojisini araştırmak ve ileride yapılacak çalışmalara ışık tutmaktır.

GENEL BİLGİLER

2.1. İshal

İshal en basit tanımıyla, günlük dışkılama sayısının ve dışkı miktarının artması ve/veya dışkı kıvamının (yoğunluğunun) azalarak yumuşak veya sulu bir görünüm almasıdır. İshal, günlük dışkı miktarının süt çocuğunda 10mg/kg/gün, daha büyük çocuklarda ve erişkinlerde ise 200gr/gün üzerine çıkması ile karakterizedir. Ancak dışkılama sayısında veya kıvamında kişiler arası hatta aynı kişide farklılıklar gözlenebileceği unutulmamalıdır.

Klasik olarak ishal, atakların süresine göre akut veya kronik (persistan) ishal olarak ayrılmıştır. Akut ishal; akut başlayan ve 14 günden kısa süren (çoğunlukla yedi gün içerisinde sonlanan) ishal, kronik veya persistan ishal ise 14 günden uzun sürmektedir. Akut ishal, 24 saatte üç veya daha fazla sayıda sulu veya yumuşak dışkılama olarak tanımlanır. Akut ishal gastrointestinal sistemde sıvı ve elektrolit transportunun bozulmasına bağlı olarak aniden başlar ve barsak hareketleri de artmıştır.

Akut gastroenterit ise; ani başlayan, bulantı, kusma, ishal ve karın ağrısı gibi yakınmalarla seyreden mide ve ince barsak inflamasyonu yapan bir klinik tablodur. Bu sebeple akut ishal için akut gastroenterit adı kullanılması doğru bir tanımlama olmamaktadır. Akut infeksiyöz gastroenterit en sık akut ishal kliniği ile karşımıza çıkmaktadır.

İshaller fizyopatolojik mekanizmalara göre de ozmotik ishaller, sekretuar ishaller, inflamatuvar ishaller, motilite bozukluklarına bağlı ishaller ve emilim yüzeyinin azalmasına bağlı ishaller olarak sınıflandırılır. Ayrıca klinik ve fizyopatolojik açıdan da akut ishaller, inflamatuvar ve noninflamatuvar olarak sınıflandırılabilir.

Akut ishal yapan birçok sebep içerisinde gastrointestinal sistem infeksiyonları en sıktır. Tablo 1’de akut ishalin potansiyel sebepleri sıklığa göre düzenlenmiştir¹¹.

Tablo1. Akut ishal yapan sebepler

<i>İnfeksiyonlar</i>
Gastrointestinal infeksiyonlar (besin zehirlenmesi dahil)
Barsak dışı infeksiyonlar
<i>İlacın tetiklediği</i>
Antibiyotik ilişkili
Laksatifler
Magnezyum içeren antiasitler
Opiat geri çekilmesi
Diğer ilaçlar
<i>Besin alerjileri veya intolerans</i>
İnek sütü protein alerjisi
Soya protein alerjisi
Çoklu besin alerjisi
Olestra
Metilksantinler (kafein theobromine, theophylline)
<i>Sindirim/emilim işlevlerin hastalıkları</i>
Sükroz-izomaltaz eksikliği
Laktoz intoleransı ile sonuçlanan geç başlangıçlı (veya erişkin tip) hipolaktazya
<i>Kemoterapi veya radyasyonun tetiklediği enterit</i>
“cerrahi durumlar”
Akut apendisit
İnvajinasyon
<i>Vitamin eksiklikleri</i>
Niasin eksikliği
Folat eksikliği
<i>Vitamin toksisitesi</i>
Vitamin C
Niasin, vitamin B3
<i>Ağır metaller veya toksinlerin sindirimi</i>
Bakır, kalay, çinko
Bitkiler (sümbül, nergis, açelya vb.)

Birçok farklı mikroorganizma infeksiyöz ishalin sebebi olabilir. İnfeksiyöz akut gastroenteritler viral, bakteriyel veya paraziter enteropatojenlere bağlı olarak ortaya çıkabilir. Akut sporadik ve epidemik çocukluk çağı viral gastroenteritlerinden sıklıkla

rotavirus, norovirus, enterik adenoviruslar ve astrovirus sorumludur. Salmonella, Shigella, Campylobacter, Yersinia, Vibrio ve *Escherichia coli*'nin (*E.coli*) belirli türleri önemli bakteriyel patojenlerdir. Yaygın parazitik sebepler ise Giardia, Cryptosporidium ve *Entamoeba Histolytica*'dır.

2.2. Tarihçe

Gastroenterit etkeni olan bakterilerden *E.coli*, infantlarda intestinal flora araştırılması sırasında keşfedilmiş ve 1885 yılında Escherich bu organizmayı ‘‘*Bacterium coli commune*’’ olarak tarif etmiştir¹². Castellani ve Chalmer ise 1919’da *E. coli* genusunun spesifik türlerini tespit etmişlerdir¹². *E. coli*’lerin serolojik olarak heterojen olduğu, 1951 yılında *E. coli* suşlarını çeşitli somatik gruplara ayıran Kaufmann tarafından gösterilmiştir. Bu mikroorganizma ile yapılan çalışmalarda prokaryot ve ökaryot hücre yapıları aydınlatılmış, genlerin klonlanması ve ekspresyonunda önemli gelişmeler kaydedilmiştir. İshale sebep olan *E. coli* suşları günümüzde patojenik fenotiplerine göre gruplandırılmaktadır¹³.

Dizanteri adı ilk kez Hipokrat tarafından kullanılmıştır. Chantemesse ve Widal (1888) Fransa’da ve Ogata (1892) Japonya’da basilli dizanteride ilk kez Shigella’yı etken olarak tanımlamışlardır. Japon mikrobiyolog Kiyoshi Shiga’nın 1898’de dışkı kültürlerinde bu mikroorganizmayı başarılı identifikasyonu sonucu *Shigella dysenteria* 1 (Shiga bacillus) olarak belirtilmiştir. Daha sora keşfeden kişiye itafen Castellani ve Chalmer (1919) tarafından Shigella genusu olarak isimlendirilmiştir. Enterobacteriaceae komitesi mikrobiologları 1954’de Escherichia genusundan farklarını göz önünde bulundurarak bugünde kabul gören 4 Shigella türünü belirlemişlerdir.

İnsanlarda kampilobakter infeksiyonu ile ilgili ilk bilgiye 1886 yılında Theodor Escherich tarafından yazılan makalede rastlanmaktadır. Yirminci yüzyılın başında kampilobakterilerin hayvanlarda gebelik anomalileri ve ishale yol açtığı bildirilmiştir. Mc Fadyean ve arkadaşları 1909’da epizodik düşük yapan koyunların plasentasında vibrio benzeri bakteri bulduklarını bildirmişler ve bunu ‘‘*Vibrio fetus*’’ olarak adlandırmışlardır. Jones FS ve arkadaşları 1931’de dizanterili sığırların dışkılarında tespit ettikleri vibrioları ‘‘*Vibrio jejuni*’’ olarak adlandırmışlardır. Kampilobakterlerin insanda hastalık yaptığı 1947 yılında Vinzent R. ve arkadaşları tarafından nedeni bilinmeyen ateş etyolojisi ile hastaneye yatırılan 3 gebe kadında gösterilmiştir.

Sebald M. ve Veron M. (1963) vibrionların G+C oranının klasik halofilik vibrionlardan farklı olduğunu belirleyerek bunları “Campylobacter: yunanca kıvrık bakteri” adı altında yeni bir cins olarak adlandırmışlardır. *Campylobacter fetus*’un yer aldığı kampilobakter cinsi içine daha sonra *Vibrio jejuni* ve *Vibrio coli*’de dahil edilmiştir.

Skirrow M.B. (1977) kampilobakterlerin dışkıdan kolayca izolasyonunu sağlayan selektif besiyerleri geliştirmiştir. Bakterinin kültürünün yapılabilmesi ile birlikte kampilobakter ile ilgili yapılan çalışmalar hız kazanmış, yeni türler izole edilmiş ve genusa ait çok sayıda türün genomik haritası çıkarılmıştır.

1940’lı yıllardan beri etiyolojisi açıklanamayan gastroenteritlerde sebep olarak virustan şüphelenilmiştir¹⁴. Viruslara bağlı gastroenterit etkenleri ile ilgili çalışmalar, 1970’lerin başında birçok virusun ilk örneklerinin keşfi ile başlamış, ancak bu patojenlerin çoğunun hücre kültüründe üretilmemesi ve bir hayvan modelinin bulunmaması, aynı zamanda bu virus türlerinin yüksek oranda genetik ve antijene bağlı değişkenlik göstermeleri nedeniyle sınırlı kalmıştır.

Gastroenterit etkeni olarak virüslerin önemi 1972 yılında Kapikian ve arkadaşlarının bir gastroenterit salgınına ait dışkı örneklerinde Norwalk virusunu tanımlaması ile başlamıştır¹⁵. Bu gelişmeyi takiben bir yıl sonra Bishop ve arkadaşları akut gastroenteritli çocukların duodenal mukoza biopsisinde rotavirus varlığını hücre kültürü teknolojisinin yardımı olmadan sadece elektron mikroskopisi (EM) kullanarak gözlemlemişlerdir¹⁶. Rotavirus Flewett ve arkadaşları ve Bishop ve arkadaşları tarafından dışkıda EM yöntemi ile tespit edilmiştir¹⁷. Astroviruslar ve enterik adenovirusların 1975’de akut ishallerli çocukların dışkısında bulunmasından beri yeni testlerin geliştirilmesiyle akut gastroenterit ile ilişkili virüslerin sayısı giderek artmıştır¹⁸.

İlerleyen yıllarda daha kolay ve uygun tanısal tekniklerin gelişmesi ile çocukluk çağı ishalinin en yaygın sebebi olarak bilinen virüsler ve bakteriler hakkında önemli bilgiler kaydedilmiştir¹⁹.

2.3. Epidemiyoloji

Akut infeksiyöz ishaller, tüm dünyada halen güncelliğini koruyan önemli sağlık sorunlarından biridir²⁰. Çocukluk çağı gastroenteritleri, dünyada görülme sıklığı ve

ölüm nedenleri arasında alt solunum yolu infeksiyonlarından sonra ikinci sıklıkta görülen infeksiyon hastalığıdır²¹. Beş yaş altında çocuklar yılda ortalama üç kez (1-12 kez) ishal atağı geçirmektedir.

Son 20-25 yıl içinde ORT'nin kullanıma girmesi, anne sütü kullanımının özendirilmesi, aşılama programları ile ishale bağlı çocuk ölümlerinde önemli bir düşüş sağlanmıştır. Buna rağmen akut gastroenteritler, özellikle gelişmekte olan ülkelerde beş yaş altındaki çocuklarda morbidite ve mortalite sebepleri arasında önemli bir yere sahiptir²². Dünyada beş yaş altı çocuklardan her yıl 1,5 milyarı ishale yakalanırken, yaklaşık 1,5-2,5 milyon çocuk ishal sebebi ile ölmektedir ve bu ölümlerin % 80'i gelişmekte olan ülkelerdeki iki yaş altındaki çocuklardır. Dünyada her yıl beş yaş altındaki her 1000 çocuktan 4,9'unun ishal sebebiyle kaybedildiği bildirilmektedir^{6,23}.

Gelişmiş ülkelerde ishal insidansı ve mortalitesi düşüktür. Birçok Avrupa ülkesinde akut gastroenterit kliniği genellikle hafif seyreder, fakat önemli oranda hastaneye yatıştan sorumludur ve ölüm nadir görülmektedir²⁴. Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) üç yaşından küçük çocuklarda doktora başvuruların % 10'unun sebebi akut ishaldir²⁵. Gelişmiş ülkelerde hastaneye yatışların % 10'unu ve gelişmekte olan ülkelerde ise hastaneye yatışların % 30'unu ishalleri çocuklar oluşturmaktadır²⁶. ABD'de beş yaş altı çocuklarda yılda 2,1-3,7 milyon çocuk ishal yakınmasıyla doktora başvurmakta, 220 bini bu sebeple hastaneye yatmakta ve yılda yaklaşık 300 ölüm olduğu bildirilmektedir²⁷.

Ülkemizde Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması (TNSA)'nın raporuna göre, beş yaşından küçük 10 çocuktan üçünün akut ishal olduğu ülkemizde Sağlık Bakanlığı (SB) istatistiklerine göre Türkiye genelinde 2005 yılının ilk altı ayında 509,297 ishal vakasına karşılık yedi ishale bağlı ölüm bildirimi yapılmıştır²⁸. Fakat gerçek rakamların bunun çok üzerinde olduğu kabul edilmektedir. Ülkemizde ishal çocuk ölüm sebepleri arasında beşinci sırada yer almaktadır²⁹. Ülkemizde beş yaş altı çocuklarda ishal mortalite oranı % 0,384'dür. Türkiye'de SB verilerine göre ishale bağlı ölümlerin toplam çocuk ölümlerine oranı 0-1 yaş için % 24, 1-5 yaş için % 14 bulunmuştur³⁰.

Çocukların akut gastroenteritlerinde etkenler bakteriler, viruslar ve parazitler olmak üzere üç ana grupta toplanabilir. Vakaların önemli bir kısmında etken belirlenememekle beraber en sık görülen etkenlerin viruslar olduğu bildirilmektedir³¹.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda akut gastroenteritli çocuklar yaş gruplarına göre değerlendirildiğinde en sık görülen gastroenterit etkenlerinin bir yaş altında rotavirus, norovirus, adenovirus ve Salmonella; 1-4 yaş arasında rotavirus, norovirus, adenovirus ve Salmonella, Campylobacter ve Yersinia; beş yaş üzerinde Campylobacter, Salmonella ve rotavirus olduğu rapor edilmiştir²⁴.

2.4. Patogenez

2.4.1. İshal Mekanizmaları

İshalin önlenmesi ve tedavi edilebilmesi için sebepleri ve patofizyolojisinin bilinmesi gerekmektedir³².

Son zamanlarda yapılan çalışmalarla enterositler ve mukozada bulunan lenfoid folliküllerin üzerini örten özelleşmiş epitel hücreleri olan M hücreleri ile enteropatojen ve kommensal bakterilerin etkileşimini açıklayan model sistemler belirtilmiştir. Bununla birlikte virus ve paraziter infeksiyonlarla ilgili daha az çalışma yapılmıştır. Model sistemler patofizyolojiye ışık tutması yanısıra normal barsak fonksiyonlarının anlaşılmasına da katkıda bulunur. Mikroorganizma ve barsak epiteli arasındaki etkileşimi anlamak hastalık kliniğini anlamaya da yardımcıdır³³.

İnce ve kalın barsaktaki su ve elektrolit dengesinin bozulmasıyla klinik tablosu gelişen ishalin, gastrointestinal sistemin sindirim, emilim ve sekretuar özelliklerinin ortak etkisiyle ortaya çıktığı belirtilmektedir³⁴.

Gastrointestinal sistemin farklı bölümlerinin kontrol edebilecekleri sıvı miktarları farklıdır. İnce barsaklarda yaklaşık olarak 8-9 litre sıvı absorpsiyonu gerçekleşirken, kalın barsak ince barsaktan kalan 1-2 litre sıvının emilimini yapar. İnce 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 sebebiyle kalın barsak sıvı emiliminin azalması ishal klinik tablosunu oluşturur. İnce barsağın daha büyük miktarlarda sıvı kontrolü yapması sebebiyle özellikle süt çocuklarında ince barsağın etkilendiği hastalıklarda daha hızlı ve sık olarak dehidratasyon gelişir. Süt çocuklarının dışkıda sıvı kaybetmeleri halinde, günlük sıvı dönüşümü, ekstrasellüler sıvı komponentine oranı yetişkinlerin yaklaşık iki katı olduğundan dehidratasyon riskleri daha yüksektir. Ayrıca süt çocuklarının gastrointestinal sistem epitel hücreleri su ve elektrolitlere daha geçirgendir³⁴.

İshal 5 farklı mekanizma ile oluşabilir:

- a) Ozmotik ishaller
- b) Sekretuvar ishaller
- c) İnflamatuvar ishaller
- d) Motilite bozukluğuna bağlı ishaller
- e) Emilim yüzeyinin azalmasına bağlı ishaller

a) Ozmotik ishaller: Barsak lümeninde emilemeyen maddelerin varlığı sonucu ozmotik yük tarafından oluşan hipertonic ortam sebebiyle özellikle duodenum ve jejunumda enterositlerden barsak lümenine su çekilmesi söz konusudur. Kolonun normal ve kompansatuvar emme kapasitesi lümendeki artmış suyu emmek için yetersiz kalınca ishal ortaya çıkar. Diarenin sebebi barsakta absorbe edilemeyen solütlerin (laktuloz, polietilen glikol v.b.) ya da monosakkaridler ve aminoasidler gibi küçük moleküllerin artmasıdır. Ayrıca kısa barsak sendromunda ve mukoza hastalıklarında (disakkaridaz enzim eksikliği gibi) da ozmotik ishaller görülebilir. Aç kalınca ishal kesilir. Ozmotik ishallerde dışkı sulu olup lökosit içermez.

b) Sekretuvar ishaller: Enterositlerde gerçekleşen sekresyon ve absorpsiyon arasındaki dengenin bozulmasına bağlı olarak su ve elektrolit sekresyonu anormal derecede artmıştır ve genellikle ince barsaklarda morfolojik olarak bir patoloji yoktur. Sekretuvar ishalde asıl mekanizma klor (Cl) iyonunun kript hücrelerinden siklik adenozin monofosfat (cAMP), siklik guanozin monofosfat (cGMP) veya kalsiyum (Ca)'un artmış uyarısıyla aşırı sekrete edilmesidir. İshal bol suludur ve genellikle lökosit içermez. Gastrointestinal sistemdeki besinlerden etkilenmediği için hastanın aç kalması ishali düzeltmez. Çocuklarda sekretuvar ishalin birçok nedeni vardır; konjenital klor diarezi, VIPOMA gibi hormon üreten tümörler, endojen veya eksojen laksatifler, enterik viruslar ve bakteriyel toksinler (V. cholera, toksijenik E. coli, C. Jejuni, C. perfingens, S. aureus, B. cereus gibi bakterilerin toksinleri) sayılabilir.

c) İnflamatuvar ishaller: İnce barsaklar ve kolonda çeşitli sebeplere bağlı olarak hafif veya şiddetli bir inflamasyon sonucu barsak hücreleri hasarı ile ortaya çıkan, malabsorpsiyon tablosu ve sekresyon artışının görüldüğü ishallerdir. Mukus, kan ve proteinin eksüdasyonu dışkı ile su, elektrolit ve protein kaybettirir. Mikroorganizmaların kolonizasyonu, hücreye yapışma veya epitele invazyonundan sonra inflamasyon ortaya çıkar ve lökositler, mast hücreleri ve fagositler tarafından

salınan sitokinler (lökotrienler, prostoglandinler, histamin vb.) enterositleri tahrip eder ve enterik sinirleri uyarır. Villuslardaki atrofik değişiklikleri kompanse edebilmek için kriptalarda hiperplazi gelişir ve sekresyon artışı olur. Tam olgunlaşmamış hücreler villus 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.

d) Motilite bozukluğuna bağlı gelişen ishaller: Gastrointestinal sistemin motilitesi absorpsiyonu etkiler. Hipomotilite, normalde göreceli olarak steril olan üst ince barsakta intestinal mikrofloranın proliferasyonuna yol açabilir. Hipermotilite ise barsaktan sıvının geçiş zamanını kısaltarak emilimin azalmasına neden olabilir. Tirotoksikoz, irritabl kolon, dumping sendromu ve bazen de infeksiyonlar motilite artışına neden olabilir.

e) Emilim yüzeyinin azalmasına bağlı ishaller: Cerrahi bir girişim sonrası anatomik olarak ya da mukozal bir hastalıkta fonksiyonel olarak barsağın emilim yüzeyinin azalmasıyla suyun enterosistemik dönüşümü azalır ve ishaller ortaya çıkar. Dışkı suludur. Barsak rezeksiyonları, fistüller ve mukozal hastalıklar emilim yüzeyinin azalmasına ve barsaktan geçiş süresinin kısalmasına bağlı olarak malabsorbsiyon ve ishale yol açarlar.

Belirli bir enteropatojen aynı anda birden farklı mekanizmayı harekete geçirerek ishale sebep olabilir.

2.4.2. Enfeksiyöz Gastroenteritlerin Patogenezinde Rol Oynayan

Mekanizmalar

İnfeksiyöz ishallerde etken mikroorganizmalar değişik virulans faktörleriyle konak savunma mekanizmalarını aşmaya çalışır. Akut ishal patogenezinde farklı etyolojik etkenlerin yanı sıra konağa özgü faktörler de önemli rol oynar.

Konağın yaşı, kişisel hijyen, gastrik asidite, intestinal mikroflora, müsin salgısı, spesifik immün sistem, beslenme biçimi ve intestinal reseptörler gibi etkenler ishalin ortaya çıkmasında rol oynayabilir.

İnfeksiyöz ishallere karşı savunmada en önemli konak faktörleri

Yenidoğan, süt çocuğu ve yaşlılarda koruyucu flora ve immunitede yetersizlik sonucu infeksiyöz ishallere daha kolay gelişir.

Midenin asit pH'da olması pek çok patojene karşı koruyucudur. Salmonella, Shigella ve *E. coli* infeksiyonlarına engel olur. Fakat rotavirus, giardia ve entamoeba kistleri mide asidine dirençlidir. Mide pH'sının artması (aklorhidri, antiasitler) veya mideden geçiş süresinin kısalması (ameliyat) sonucu ince barsağa fazla sayıda canlı organizma geçebilir.

Safra tuzları mikroorganizmaların yüzeyini bozarak çoğunu inhibe eder, fakat Enterobacteriaceae üyeleri safra tuzuna dayanıklıdır.

Flora üyeleri patojenlerin barsaklara kolonizasyonunu engeller.

İnce barsakta kriptler içindeki Paneth hücrelerinin ürettiği antimikrobiyal etkili peptitler mikroorganizmalara karşı koruyucu etki gösterirler. Ayrıca barsak duvarından girişin önlenmesinde sekretuar IgA ve mukus tabakası da önemli rol oynar.

Anne sütü ile beslenme önemli bir koruyucu faktördür.

Barsak peristaltik hareketleri üst ince barsağı temizlemede önemlidir. Peristaltizmin azaldığı durumlarda burada aşırı bakteri kolonizasyonu gerçekleşmektedir.

Ayrıca konak immunitesi de patojen mikroorganizmaların etkilerine karşı barsağı korurlar. Savunmada barsak lenfoid doku hücreleri (peyer plakları) ve sekretuar IgA etkilidir. Enteropatojene karşı oluşan doğal immunitede TLR (Toll Like Receptor) görev alır. Patojen mikroorganizmanın lipopolisakkaritleri TLR-4, peptidoglikan yapısı TLR-2, lipoprotein ve flagellin yapısı TLR-5, çift sarmallı RNA TLR-7 ve DNA ise TLR-7 ile tanınır. Epitel hücrelerinin apikal yüzeylerinde bulunan bu reseptörlere patojen mikroorganizmaların adezyonu proinflamatuvar sitokinlerin sekresyonunu uyarak immun cevabı başlatır. Proinflamatuvar sitokinler bir transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör kappa betaları (NFkB) aktive ederek etki gösterir. Epitel hücreleri çeşitli bakteriyel patojenlere immun cevapta kemokin ve sitokinleri üretir. İmmun cevapta lökosit, makrofaj, T hücreleri, plazma hücrelerinin infeksiyon alanına göçünü tetikler^{35,36}.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda sitoplazma proteinleri yeni üyeleri olan Nod 1(Nucleotid binding oligomerisation domain) olan CARD4 (caspase recruitment domain family member 4) ve CARD15 (Nod2) belirtilmiştir. CARD/ Nod

proteinlerinin patogenezdaki rolünün anlaşılması için büyük uğraşlar verilmektedir. NFKB'yi aktive ederek etki gösterirler. CARD15'de mutasyon sonucu anormal NFKB aracılı immun cevap ortaya çıkar ve bu da bakterilerin çoğalması ve mukoza bariyer görevinin ortadan kalkmasına yol açar. Mikroorganizmaların tanınamamasına bağlı olarak intrasellüler patojenlerle persistan infeksiyonlar oluşur³⁷.

Enteropatojene ait faktörler

Akut gastroenteritlerde hastalığa sebep olabilecek mikroorganizma miktarı (inokulum) türden türe değişmektedir. Örneğin *Salmonella*, *Vibrio cholerae*'da en az 10^6 bakteri alınması gerekirirken, *Shigella*, *Giardia* ve Shiga toksin üreten *E. Coli* (STEC; enterohemorajik *E. Coli* (EHEC) veya verotoksikojenik *E. Coli* (VTEC))'de bulaş için 10-100 bakteri alınması yeterli olur. Viral gastrointestinal infeksiyonlarda ise viruslar son derece bulaşıcıdır ve infeksiyonun oluşabilmesi için 10-100 kadar az sayıda virus partikülü yeterlidir³⁸.

İshal oluşturan enteropatojenler adezyon, invazyon, enterotoksin veya sitotoksinlerin etkileriyle konak savunma mekanizmalarını aşarak hastalık oluştururlar. İnsanlarda gastroenterit yapan patojenler ile barsaklar arasındaki ilk etkileşim mukozal yüzeydeki epitel hücreler ile olur. Bakteriyel ve viral patojenlerin hastalık oluşturabilmeleri için epitele adezyon ve burada kolonizasyon şarttır.

Enteropatojenler ve konak savunma mekanizmaları arasındaki etkileşim sonucu barsakta ya sekresyonda artış sonucu noninflamatuvar / sekretuvar tip ishal veya mukozada hasarlanmaya ve inflamasyona bağlı olarak inflamatuvar tipte ishal gelişmektedir. İnflamatuvar ishaller; bakterilerin adezyonu, invazyonu veya sitotoksin oluşturmaları sonucu ortaya çıkar. Kolon ve distal ince barsak mukozasında harabiyet (destrüksiyon) vardır. Etken patojenlere örnek olarak; *Salmonella* spp, *Shigella* spp *Campylobacter jejuni*, STEC, enteroinvaziv *E.Coli* (EİEC), *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium difficile*, *Entamoeba histolytica* gösterilebilir. Non-inflamatuvar ishal ise invazyon olmaksızın bakterilerin adezyonu, enterotoksin üretimi veya virusların invazyonuyla oluşan villus hücre kaybı sebebiyle olur. İnce barsak mukozada morfolojisi bu ishal sırasında ya normaldir veya çok az değişiklik gözlenir. Mukozada harabiyet olmadan sekresyon artışı ve absorpsiyon azalışı ile karakterizedir. Etken patojenlere örnek; *Vibrio cholerae*, enterotoksikojenik *E. Coli* (ETEC),

enteropatojen *E. Coli* (EPEC), enteroagregatif *E. Coli* (EAEC), *Clostridium perfringens*, rotavirus ve diğer enterik viruslar, Giardia ve Cryptosporidium'dur³⁹.

Tablo 2. Akut infeksiyöz ishallerde etkenler ve fizyopatolojik mekanizmaları

Fizyopatolojik Mekanizma	Toksin üretimi	Barsak hücrelerine aderens	Minimal mukozal invazyon	Sistemik enfeksiyon	Değişken/ şiddetli mukozal invazyon
Mikroorganizma	ETEC Vibrio cholerae EHEC Cl. perfringens Cl. difficile Bacillus cereus Staph. aureus Aeromonas spp	EAEC EPEC Giardia Cryptosporidium Helmintler	Norovirus Rotavirus Adenovirus Astrovirus Calicivirus HSV Coronavirus CMV	Listeryoz Lejyonelloz Kızamık Viral hepatit Psittakoz	Campylobacter spp Salmonella spp Shigella spp EİEC V. parahaemolyticus E. histolytica Aeromonas spp Yersinia spp

2.4.2.1. Viral Gastroenteritlerin Patogenezi

Rotaviruslar başta olmak üzere ishale sebep olan viruslar, fekal-oral bulaşları sonrası mide asidinden etkilenmeden ince barsaklara geçerler ve burada villus uç kısımlarında bulunan olgun enterositleri infekte ederler. Enterik viruslar, ince barsakta kan ve lökosit içermeyen bol sulu noninflamatuvar ishale yol açarlar. Hastalık genellikle duodenum ve proksimal jejunuma sınırlıdır⁴⁰.

İnvazyon sonrası epitelin lizisi ile virionlar serbest kalır. İntestinal villus epitelinde atrofi olur, villuslar kısalır, mikrovilluslar azalır ve düzleşir. Kript hiperplazisi görülür. Olgun absorptif enterositlerin yerine kriptlerden gelen sekretuar immatür hücreler yerleşir⁴¹. Lamina propriada mononükleer lenfoid hücre infiltrasyonu olur. Hasarlı hücreler ile birlikte, barsak lümenine dökülürken dışkının her gramında 10¹⁰ partikül gibi fazla miktarda virus salınır³⁸. Villus fonksiyonlarının normale dönmesi için 3-8 hafta gerekebilir.

Rotavirus patojenitesini tayin eden faktörler tam olarak anlaşılamamıştır. Rotaviruslar VP4 proteini ile enterositlerin yüzeyinde bulunan integrin ve sialik asit içeren gangliozid gibi reseptörlere bağlanmaktadır. VP4 proteininin proteolitik enzimlerle ayrışması hücreye virusun penetrasyonu için esastır⁴².

Rotavirus diarezinin oluşmasında birçok mekanizma rol oynar. Villuslarda bulunan emilimden sorumlu enterositlere virus invazyonu sonrası bu infekte hücreler dökülür. Bu absorpsiyon yüzeyini azaltır, su ve elektrolit kaybına sebep olur. Glikoza

bağlı sodyum (Na) emiliminin bozulduğu ve Na-K ATPaz aktivitesinin azaldığı sulu dışkıların oluştuğu bildirilmektedir. Dökülen epitel hücrelerinin yerine olgunlaşmamış kript tipi hücrelerin geçmesi sonucu epitel disfonksiyonu olur, laktaz ve maltaz gibi disakkaridaz enzimlerinin (fırçamsı kenar enzimleri) üretiminin azalmasına yol açar ve laktoz gibi sindirilemeyen şekerlerin ince barsakta birikmesi ozmotik basıncı yükselterek sıvı kaybını daha da artırır. Mukoza invazyonu nedeniyle 2-4 hafta kadar süren geçici bir sekonder laktoz intoleransı sıkırtır⁴³.

Hiperplaziye uğrayan kript hücrelerinden artmış Cl salınımı barsak lümenine sekresyonu artırır⁴⁴. Ayrıca rotavirus enterik sinir sisteminin sekretuvar nöronlarını stimüle ederek de intestinal su ve elektrolit sekresyonunu artırır^{42,45}. Rotavirusun kodladığı proteinlerden biri olan NSP4 viral enterotoksindir ve endoplazmik retikulumdan Ca'yı mobilize ederek hücre içi Ca miktarını artırır ve Cl sekresyonu uyarır. NSP4'ün (non-structurel protein 4) hücrelerden salındığı veya hücre lizisi ile hücre dışı ortama geçerek komşu epitel kript hücrelerinde Cl sekresyonu stimüle ettiği gösterilmiştir⁴⁶.

Yaş gibi konak faktörleri de rotavirus patogenezi etkileyebilir, çünkü belirtiler küçük çocuklarda daha belirgindir. Villus epitel hücreleri üzerindeki rotavirus bağlayan reseptörlerin miktarı yaşla azalır, bu hayvan çalışmalarında gösterilmiştir. Buna karşılık erişkinlerde infeksiyonun asemptomatik veya az belirtilerle seyretmesi daha çok immunitenin kazanılmasıyla ilişkilidir. Yaşlılar ise muhtemelen immunitenin azalmasına bağlı olarak ciddi hastalığa karşı duyarlıdırlar.

Norovirus gastroenteritinde patogenezi günümüzde tam olarak anlaşılamamıştır. Norovirus ile infekte gönüllülerin jejenum biopsilerinin ışık mikroskopu (IM) incelemesinde; rotavirusların etkisine benzer olarak villuslarda kısalma, epitel hücrelerinde disorganizasyon ve vakuolizasyon, kript hipertrofisi ve lamina propriada mononükleer hücre infiltrasyonu gözlenmiştir. Mukozadaki harabiyet geçici olarak fırçamsı kenar enzimlerinin yapımını azaltır, fakat konvelasan dönemde normal yapım miktarına ulaşılır⁴⁷.

Astrovirusun patogenezi, yapılan çalışmalarla henüz anlaşılamamıştır. Akut gastroenteritli çocuklarda EM ile ince barsakta olgun enterositlerde astrovirus gözlenmiştir. Villuslarda kısalma ve lamina propriada hafif mononükleer hücre artışı bildirilmiştir⁴⁸. Hayvan çalışmalarında intestinal villöz atrofi gözlenmiştir⁴⁹.

Adenovirus rotavirusa benzer yolla ishal oluşturur. Adenovirus serotip 40 ve 41 diarezi olan hastalarda virus enterosit çekirdeğinde çoğalır ve bunlar tarafından enterositlerde oluşturulan lezyonlar villusların atrofisine ve kriptlerde kompanze hiperplaziye yol açar ve daha sonra malabsorbsiyon ve sıvı kaybı olur¹¹.

2.4.2.2. Bakteriyel Gastroenteritlerin Patogenezi

Bakteriyel enteropatojenler insanlarda hastalık oluştururken etkilerini virulans faktörler ile oluştururlar. Virulans faktörleri bakteri genomunda patojenite adalarında kodlanır. Bakteriyel enteropatojenler farklı virulans faktörleri ile farklı mekanizmalar üzerinden etki gösterirler. Enterositlerde hasar yapar veya sinyal iletimi, sitokin üretimi ve hücre iskeleti yapısında değişiklikler gibi fonksiyonlarında değişikliğe yol açarlar.

Bakteriler lümen içerisinde besin maddeleri ile birlikte atılmamak için mukozaya tutunmak zorundadır. Bakteriyel enteropatojenler değişik yüzey yapı elemanları (adezyon faktörleri; pili veya fimbria) ile enterosite tutunurlar ve burada kolonize olurlar. Ayrıca bazıları virulans faktörleri ile invazyon oluşturabilmektedir. Bakterilerde virulansta bir diğer önemli faktör ise toksin üretebilmeleridir.

EAEC ve EPEC epitele adezyon faktörleri ile tutunarak, *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Campylobacter*, *Entamoeba histolytica* ve EIEC epitele invazyon ile, ETEC ve *Vibrio cholerae* enterotoksin üreterek ve *Shigella dysenteriae*, EHEC ve *Vibrio parahemolyticus* sitotoksin oluşturarak etkilerini gösterirler.

Son zamanlarda yapılan deneysel çalışmalarda çeşitli bakteriyel enteropatojenlerin virulans faktörlerinin infekte hücre içine girişi için özelleşmiş sekresyon sistemleri (Tip 3 sekresyon sistemi) kullandığı kanıtlanmıřtır⁵⁰. Tip 3 sekresyon sisteminin genomda patojenite adalarında kodlandığı belirtilmiştir^{51,52}.

Diarejenik *E. coli*'ler farklı virulans faktörler ile farklı hastalık klinikleri oluştururlar:

EAEC infeksiyonlarında patogenezin gerçek mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, ince barsak hücrelerinde harabiyet veya invazyon oluşturmazlar. Fimbria ile adezyon ve toksin üretimi patogeneizde önemli rol oynar⁵³. Tipik EAEC suşu, pAA plazmidde kodlanan aggR ve CVD432 virulans genlerini taşıyan organizmalar olarak tanımlanır. Fimbria (aggregative adherence fimbriae I, AAF/I) aggR ve CVD432 genleri ile kodlanır. AAF/I etkisiyle Hep-2 veya HeLa hücre

kültürlerinde spesifik agregatif veya dizili tuğla görünümü (AA paterni; aggregative adhesion pattern) göstermektedir. EAEC suşlarının, adezyon sonrası potansiyel olarak barsak sekresyonunu, ETEC ısı stabil toksinine (ST) benzer şekilde stimüle edebilen, ısıya dayanıklı enterotoksinleri (Enteroaggregative heat-stable toxin; EAST) etkisi ile yaptığı bildirilmiştir, bunlar arasında en iyi tanımlanan EAST 1'dir⁵³.

DAEC patogenezinin mekanizması açık olmamakla birlikte kompleks bir sinyal transdüksiyon kaskadı olarak düşünülmüştür.

Knutton ve arkadaşları 1998'de EPEC patogenezinin dört basamakta gerçekleştiğini açıklayan bir model öne sürmüşlerdir¹². EPEC suşları adezyon faktörleri olan bundle forming pili (bfp; paket oluşturan pilus) ve Esp A (Esp; *E. Coli* secreted protein) filamenti ile ince barsak (özellikle ileumda) epiteline tutunur. Bfp EAF (*E. Coli* adherens faktör) plazmidinde yer alan bfp A ve dsb A (double strand break A) genlerinde kodlanır. Bfp ve Esp A filamenti epitelde etkilerini oluşturmak için, bir tip 3 sekresyon sistemi olan Tir'e (translocated intimin receptor) bağlanarak epitel içine girerler. Tir LEE lokusunda (locus for enterosite effacement; enterositte hasar yapan silinme lokusu) yer alan eae geni tarafından kodlanır. CesT (Tir-specific chaperone) gibi şaperon proteinler de aminoterminal uca bağlanarak sekresyon sistemini stabil hale getirir ve sekrete proteinlerin hücre içine transferini başlatır⁵⁴. Tir'de tirozin fosforillenmesi sonucu F-aktin ve diğer hücre iskeleti elemanları polimerize olurlar. Sonuçta üzerinde bulunduğu enterosit membranına başlık benzeri pedestalleri ile tutunma yoluyla karakterize klasik bir histopatolojik lezyon (enterosite yapışma-silinme yapan lezyon; attaching-effacing, AE lezyon) oluşturarak mikrovilluslarda (fırçamsı kenarda) lokal harabiyet yapar, epitel ölür ve yama tarzında AE lezyonu oluşur^{55,56}. Ayrıca F-aktin fosforillenmesi hücreler arası sıkı bağlantı (zona occludens) proteinlerinin de ayrılmasına, bütünlüğün bozulmasına yol açar. Barsak permabilitesi artar Böylece elektrolit ve suyun barsak lümenine transportu artar⁵⁷.

EAF plazmidi ve LEE patojenite adasının her ikisini de taşıyan organizmalar için "Tipik EPEC; klasik EPEC" terimi kullanılırken, sadece LEE lokusuna sahip olanlar "Atipik EPEC" olarak isimlendirilmektedir.

STEC suşu, EPEC ile gelişen histopatolojik bulgulara benzer şekilde epitele adezyonu sonrası mikrovillus hasarı (AE lezyonu) oluşturur. Distal ileum ve kolonu tutar⁵⁸. Patogenezinde plazmidlerce kodlanan fimbria ve sitotoksin olan Shigalike toksin

(Shiga toksinine benzeyen toksin; stx) üretimi önemlidir. Ayrıca EHEC’de LEE lokusunda eae geninde Tir’e homolog Esp E proteini yapılır, intiminden farklı olarak bunlarda tirozin rezidüleri yoktur⁵⁹. Fimbria Esp E proteinine bağlanır, hücre içine girer ve F-aktin polimerize olur⁶⁰. EPEC gibi mikrovilluslarda fırçası kenarda harabiyet yapar ve epitel ölür.

STEC’in ürettiği Shigalike toksinleri ilk olarak Vero hücre kültüründe gözlenmiş olduğundan verotoksin olarak da adlandırılmaktadır. Shigalike toksini Vero hücrelerine toksik etki gösteren, protein sentezini inhibe eden ve lizojen bir bakteriyofaj tarafından kodlanan sitotoksinlerdir. Bunlar; *Shigella dysenteriae tip 1*’in oluşturduğu toksin ile aynı olan shigalike toksin1 (stx 1; verotoksin 1) ve daha az benzeyen shigalike toksin 2’dir (stx 2; verotoksin 2). Shigalike toksinleri B subuniti ile epitelde bulunan globotrisilseramid (Gb3 ve Gb4) reseptörlerine bağlanır. Toksin A subuniti hücrede protein sentezini inhibe eder⁶¹. HÜS (hemolitik üremik sendrom) gelişmesi, shigalike toksinin böbrek endotel hücrelerine sitotoksik etkisinden kaynaklanır. HÜS gelişmesinde sitokinlerin de indirek olarak rolü vardır.

EPEC ve EHEC O157: H7 infeksiyonları epitel hücrelerinde NFkB’yı aktive ederler, NFkB sitozolden nukleusa geçerek burada interlökin 8 (IL-8) kodlayan genlerin promoter bölgesine bağlanır. Böylece PMNL için kemoatraktan olan IL-8 sitokin üretilir⁶².

ETEC suşları CFA I (kolonizasyon faktör 1), CFA II ve E8775 gibi adezyon faktörleri ve Tia, LeoA gibi CS antijenleri (coli surface associated antigen) ile ince barsak epiteline tutunurlar⁶³. Kolonizasyon faktörleri EM’de fimbriyaya benzeyen filamentöz yapılar olarak görülür. Kolonizan faktörler plazmidde Ing A geninde kodlanır. ETEC kolonizasyon sonrası bir veya daha fazla enterotoksin salgılayarak bol miktarda, sulu sekretuvar tipte ishale sebep olur. İnvazyon ve mukozada harabiyet yoktur.

ETEC, ısı labil toksin (LT toksin; ısıya dayanıksız enterotoksin) ve ısı stabil toksin (ST toksin; ısıya dayanıklı enterotoksin) olmak üzere iki tip toksin üretir. Enterotoksinler plazmidde farklı bölgelerde kodlanır. Enterotoksinler multimerik yapıda olup B (bağlanma) ve A (aktif) subunitlerden oluşur. Holotoksin (Ave B subuniti ikisini birden içeren toksin) hücre içine endositoz ile girdikten sonra ER’ da A subuniti B’den ayrılır ve A subuniti sitozole geçer, ikincil mesajcıları etkileyerek kript hücrelerinde Cl

kanalını (CTFR kanalı; Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) açar, Cl sekresyonunu artar ve böylece barsak lümenine elektrolit ve su sekresyonuna sebep olurlar. Ayrıca Na ve Cl'un barsak lümeninden fırçamsı kenara ve hücre içine doğru absorpsiyonunu da inhibe eder. Hücre içine glukoza bağlı Na ve su girişi bozulmaz. Bakteri enterotoksininin hücreler arası geçişi sıklıkla enterosit apikal yüzeyinden, daha az ise hücre bazolateralinde yer alan intersellüler sıkı bağlantılarla olur. Transepitelyal permabilite artar.

LT toksini, ETEC patojenitesinden büyük oranda sorumlu olan toksindir. LT toksini, kolera enterotoksinine benzer etki gösterir. B subuniti ile gangliozid GM1 reseptörüne irreversible bağlanır, adenilat siklazı aktive eder. Sonuçta hücre içi CAMP (ikincil mesajcı) düzeyi artar. ST toksini ise enterosit apikal yüzeyinde yer alan guanilat siklaz C reseptörüne irreversible bağlanır. Bağlanma sonucu hücre içi CGMP (ikincil mesajcı) düzeyi artar, LT'ye benzer şekilde barsak lümenine su ve elektrolit sekresyonunu uyarır⁶⁴.

EİEC suşları Shigella'ya benzer şekilde kalın barsak epiteline invaze olarak etki gösterirler, fakat farklı olarak shiga toksin üretmezler. Tüm virulan Shigella suşları ve EİEC suşlarında kromozomda 3-5 lokusu tutan bir virulans plazmid bulunmaktadır. Bu plazmid bakterinin epitele tutunmasını ve fagositozdan korunmasını sağlayan dış membran proteinleri kodlamaktadır. Bu proteinler virulans plazmidde mxi (membrane expression of invasion) geninde kodlanırlar. Dış membran proteinleri tip 3 sekresyon sistemi ile hücre içine alınır. İlk olarak invaziv plazmid antijen (ipa D) ile epitele bağlanır, bu bağlanma hücre iskeletini yeniden düzenleyerek bakterinin hücre içine fagositozunu sağlar. İpa B ve ipa C diğer proteinler olup bakteri yüzeyinde ve ekstraselüler sıvıda bulunurlar, fagositoz ve fagositoz vezikülü rüptürü için esastırlar. Daha sonra EİEC sitoplazmada çoğalır, Ics A (VirG) ve Ics B proteinleri etkisiyle hücre ölür, aktin yeniden düzenlenmesi ile de bakteri hücreler arası yayılır. Shigella türleri ve EİEC'de bakteriyel DNA kaybının mikroorganizma virulansını uyarmada etkili yollardan biri olduğu bildirilmiştir¹².

Shigella türleri dizanteri yapan organizmaların tipik örneğidir, fakat sulu ishaller de sıklıkla görülmektedir. Shigella infeksiyonu patogenezi oldukça karmaşıktır. Kolon, rektum ve kısmen terminal ileum tutulur. Shigella'nın temel virulans özelliği, kolon epitel hücrelerine invazyon kabiliyeti varlığıdır. M hücreleri birçok invaziv

mikroorganizma tarafından epitel bariyeri geçmek için kullanılır. Shigella'lar barsak M epitel hücrelerine invazyon için spesifik bir virulans plazmidine ihtiyaç duyarlar. Dış membran proteinleri bir hemolizin ile birlikte fagositler içindeki fagosomun parçalanmasını ve bakterilerin doğrudan sitoplazma içinde çoğalmasını sağlar⁶⁵. Daha sonra lenfoid folliküle geçerler ve makrofajlarca fagosit edilir, Shigella apoptoz ile makrofajı öldürür ve mukoza epiteline bazolateral kısmından invaze olur. Lateral olarak bir hücreden diğerine yayılır⁶⁶.

Shigella bir sitotoksin olan Shiga toksinini salgılar. Sitotoksin, enzim aktivitesi olan "A" ve bağlanmayı sağlayan "B" alt bölümlerinden oluşur. Shiga toksini hücrede Gb3 reseptörünü tanır, endositozla sitoplazmaya geçer ve burada 60S ribozomal altüniteye irreversible olarak bağlanır ve protein sentezini inhibe eder, böylece hücrelerin ölümüne yol açar¹². Shiga toksini salgılayan suşlar kolon damarlarında ağır hasar oluştururlar ve sonuçta kolon epitelinde nekroz ve inflamasyon gelişir⁶⁷. Polimorfonükleer inflamatuvar cevabı tetikler. İnflamasyon genellikle barsak mukozasına sınırlıdır. Kolonda tutulan bölge mukozasında ödem, konjesyon, mukus salgılanması, epitel hücrelerinde harabiyet ve dökülme, kript hiperplazisi, goblet hücrelerinde harabiyet, lamina propria inflamasyon ve mikroabse oluşumu gerçekleşir. Daha sonra nekroze olarak ülserleşir, yüzeysel ülser ve hemorajiler oluşur. Kalın barsak ve rektum ile sınırlı ülserasyonlar tipik olarak lamina proprianın ötesine geçmez. Bu yüzeysel ülserlerin üzeri fibrin, lökosit artıkları, bakteri ve nekrotik epitel parçalarından oluşan yalancı zarla örtülüdür. Barsak lümeni ve dışkıda inflamatuvar eksuda gözlenir. Sonuçta kolit ve mukoza ülserasyonu ile kanlı, mukuslu ve/veya ateşli ishal tablosu ortaya çıkar, buna dizanteri de denilir⁶⁸.

Shiga toksinini *S. dysenteriae tip 1* çok, diğerleri ise çok az sentezler veya hiç sentezlemez. Basilli dizanteri belirtileri ve toksin miktarı arasındaki ilişki tartışmalıdır, fakat *S. dysenteriae tip 1* ile oluşan hastalık daha ağır seyirlidir.

C. jejuni genom analizi yapılmış olmasına rağmen kampilobaktere ait virulans faktörleri ile infeksiyonun patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır. Kampilobakter enteriti jejunum ve ileum proksimalinden başlayıp kolona yayılır. İntestinal epitelin yüzeyine kolonizasyonda mikroorganizmaya ait adeziv fimbria ve nonfimbrial yüzey yapı elemanları etkilidir. *C.jejuni*'de adezyondan sorumlu CadF (Campylobacter adesion to fibronectin), PEB1 (periplasmic binding protein) ve JlpA (Jejuni lipoprotein

A) nonfimbrial yüzey yapı proteini vardır. CadF kampilobakterlerin fibronektin reseptörlerine bağlanmasını sağlayan bir dış membran proteindir⁶⁹. PEB1 gram negatif bakterilerdeki aminoasit transport proteinlerine benzeyen bir dış membran proteindir. JlpA ise yüzey etkili bir lipoproteindir ve intestinal epitelde Hsp 90 ile etkileşerek NFkB'yı aktifleştirir⁷⁰.

C. jejuni'nin ayrıca lipopolisakkarit tabakası ve kapsülü de epitele adezyonda rol oynar. *C. jejuni* kapsülü mukoza hücrelerinden salınan defensin 1 ve lizozim gibi antimikrobiyal peptidlere karşı mikroorganizmayı korur^{71,72}. Kampilobakter barsağa tutunup epitel yüzeyinde kolonize olduktan sonra endotoksin (ısıya dayanıksız enterotoksin, shiga like toksin, Hep-2 elongasyon yapan toksin ve diğer sitotoksinler) oluşumu ile sekretuar tip ishal gelişir, takiben bakteriyel invazyon ve epitel hasarının tabloya eklenmesi ile dışkıda lökosit varlığı ile giden dizanterik form ishale dönüşebilir.

C. jejuni epitel dokuları içine invaze olan flagella proteinleri sentezler, fakat bunlar Tip 3 sekresyon sistemi proteinleri ile homoloji göstermemektedir. *C. jejuni*'nin hücreye invazyonu hücre kültürü ve hayvan modelleri ile açıklanmaya çalışılmıştır. Çalışmaların birçoğunda Cia proteinleri (Campylobacter invasion antigen) olarak adlandırılan bir grup proteinin kampilobakterlerin hücreye invazyonunda gerekliliği ortaya konmuştur^{71,72}.

C. jejuni hücreye invazyonu pTed ve pVir plazmidleri ile kodlanan bir dizi genetik faktör tarafından da etkilenmektedir. Yapılan klinik çalışmalarda dışkı örneklerinden izole edilen *C. jejuni* suşlarının % 19-53 oranında pVir plazmiti taşıdığı ve bunu taşıyan suşların daha yüksek oranda dizanteriye yol açtığı bildirilmiştir⁷¹.

Kampilobakterlerin ürettiği enterotoksinlerin ishal patogenezindeki rolü tam olarak anlaşılamamıştır. Isıya dayanıksız enterotoksin ile gangliozid GM1 reseptörleri uyarır, hücre içi CAMP artışı sonucu Cl kanalı açılır ve sekretuar tipte ishal yapar. Daha önce Salmonella, Helicobacter ve *E. coli* türlerinde gösterilen ve ökaryot hücre siklusunu G2/M fazında inhibe ederek hücre ölümüne sebep olan CLDT toksininin (cytolethal distending toxin) *C. jejuni* tarafından da üretildiği gösterilmiştir. CLDT kolon immatür kript hücrelerini yıkıma uğratarak barsak lümenine aşırı sıvı kaçışına yol açar. Ayrıca epitel hücre protein kinazları tarafından algılanan CLDT ve bakteri hücre duvarı lipopolisakkariti IL-1 proß'nın aktivasyonuna yol açar ve NFkB'yi aktifleştirir. NFkB proinflamatuvar sitokinleri uyarır ve inflamasyon başlar, epitel bütünlüğü bozulur.

Kampilobakterler inflamasyona bağı olarak açılan intersellüler aralıklardan ‘‘parasellüler’’ veya invaze oldukları hücreyi lizis ile parçalayarak ‘‘transsellüler’’ yolla lamina propriaya transloke olurlar. Bu dönemde ishal dizanterik forma dönüşür. Nadiren enteroportall yolla dissemine infeksiyona yol açar⁷¹. *C. fetus* suşları yüzeyindeki S protein mikroorganizmayı serum bakterisidal etkilerine karşı koruduğundan *C. fetus* infeksiyonlarından sonra bakteriyemi sık gelişmektedir⁷³.

S. typhi’nin ve nontifoidal salmonella suşlarının barsak epiteline invazyonu Salmonella türlerinin iyi bilinen bir virulans özelliğidir. Aralarında *S. typhimurium*’un da bulunduğu non-tifoidal salmonellalar genellikle sulu ishal yapar. Salmonella infeksiyonlarında gelişen sekretuvar ishalin patogenezi tam olarak açıklanamamıştır^{12,74}. Terminal ileum ve çekum en fazla tutulur. Salmonella tipik olarak barsak mukoza hücrelerine önce adezyon yapar, daha sonra vakuol içinde endositozla hücreye invaze olarak hastalık yapar^{75,76}. İnvazyon hızlıdır. Salmonella patojenite adası 2’de kodlanan Tip 3 sekresyon sistemi (Sap E ve Spt P) ile *S. typhi* efektör proteinleri epitel içine girer ve ikinci mesajcıları uyarır⁷⁷. Salmonella, Shigella gibi invaziv bakteriler Rac, Rho, Cdc 42 gibi konak ikincil mesajcılarını kullanarak hücre iskeletinde değişikliklere yol açarlar ve bu bakterinin epitel hücresi içine alınmasını tetikler⁷⁸. Örneğin mutant Cdc 42 ekspresyonunda, *Salmonella typhimurium*’un epitel içine girişi engellenir. Ayrıca bazı enterotoksinler salgılasalar da hastalıkta rolleri iyi tanımlanmamıştır⁷⁹.

Tifoda mikroorganizma vakuol içinde bazal hücre membranını geçerek hızla Peyer plaklarındaki makrofaj, lenfositlerle ve kolonda lamina propriadaki lenfoid doku tarafından tutulur. Bakteriyel proliferasyon lamina propria ve mezenterik lenf nodlarında olur. *S. typhi* lamina propriada mononükleer hücre cevabı oluşturur ve Peyer plakları ve mezenterik nodlar büyüyebilir. Mukoza invazyonu ve epitel hasarına bağı olarak tekrarlayan veya uzamış ishaller görülebilir. Salmonellalar intraselüler canlı kalarak retiküloendotelyal sisteme ulaşabilir. Böylece antikor ve bazı antimikrobiyal ajanlardan korunabilir. Bakteri bu intrasellüler lokalizasyonu, uzamış taşıyıcılığa ve organizmanın uzamış ekskresyonuna (atılım) sebep olabilir. *S. typhi* ve *S. paratyphi* mukozayı geçer ve bakteriyemi yapma olasılıkları diğer salmonella türlerinden daha fazladır¹².

2.5. Etiyolojik Ajanlar

İnfeksiyöz akut gastroenteritlere viral, bakteriyel veya paraziter enteropatojenler sebep olabilir. Akut infeksiyöz gastroenterit her yaş döneminde ortaya çıkabilir, ancak etiyolojik ajanlar ve hastalığın şiddeti yaşa, mevsime ve coğrafik bölgeye göre değişkenlik gösterir^{80,81}.

Tablo 3’de çocuklarda akut ishal oluşturan gastrointestinal sistem infeksiyonuna yol açan enteropatojenler ve görülme sıklıkları gösterilmiştir¹¹.

Tablo 3. Gelişmiş ülkelerde akut infeksiyöz ishallerin ana sebepleri

Patojen	Sporadik ishallerde vakalarda görülme sıklıkları (%)
Viruslar	
<i>Rotavirus</i>	25-40
<i>Calicivirus</i>	1-20
<i>Norwalk-like virus</i>	10
<i>Astrovirus</i>	4-9
<i>Enterik tip adenovirus</i>	2-4
Bakteri	
<i>Campylobacter jejuni</i>	6-8
<i>Salmonella</i>	3-7
<i>Escherichia coli</i>	3-5
<i>Enterotoksijenik (ETEC)</i>	
<i>Enteropatojenik (EPEC)</i>	
<i>Enteroagregatif (EAEC)</i>	
<i>Enteroinvaziv (EIEC)</i>	
<i>Enterohemorajik (EHEC)</i>	
<i>Diffüz adherent</i>	
<i>Shigella</i>	0-3
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1-2
<i>Clostridium difficile</i>	0-2
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0-1
<i>Vibrio cholerae 01</i>	Bilinmiyor
<i>Vibrio cholerae non-01</i>	Bilinmiyor
<i>Aeromonas hydrophila</i>	
<i>Aeromonas caviae</i>	
<i>Aeromonas veronii</i>	0-2
<i>biotip sobria</i>	
Parazitler	
<i>Cryptosporidium</i>	1-3
<i>Giardia lamblia</i>	1-3

2.5.1. Viruslar

Etkenler göz önüne alındığında infeksiyöz ishallerde viral enteropatojenlerin % 30-70'lere varan oranlarla ilk sırayı aldıkları bilinmektedir⁷. Viral gastroenteritler üst solunum yolu infeksiyonlarından sonra ikinci en yaygın viral hastalıktır. Tüm yaş

gruplarını etkiler, özellikle çocukluk çağının en önemli viral hastalıklarından kabul edilmektedir⁸². Gastroenterit virusları son derece bulaşıcıdır, başlıca fekal-oral yolla bulaşır. Sporadik veya endemik olarak görülebilir ve etyolojik ajanların belirlenemediği ishallerin büyük bir kısmında etkindir. Virusların neden olduğu gastroenteritler gelişmemiş ülkelerdeki çocuklarda her yıl epidemilere ve ölümlere sebep olurken gelişmiş ülkelerde ise önemli morbidite ve hastaneye yatış sebebidir⁸³. Hastalıkların çoğu kendi kendini sınırlar ve immun yetmezliği olmayan konaklarda iyileşme tamdır. Ağır dehidratasyona yol açmaları halinde önemli morbidite ve mortalite nedeni olurlar.

ABD’de yılda ortalama 3,5 milyon viral gastroenterit vakası bildirilmekte ve bunların % 35’inin hastaneye yatırılarak tedavisi gerekmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde bu oran daha da yüksektir (125 milyon vaka/yıl) ve bu vakaların 18 milyonu şiddetli dehidratasyon ile seyretmektedir⁸⁴.

İnsanlarda gastroenterite yol açan başlıca viruslar; rotavirus, norovirus ve sapovirus, enterik adenoviruslar ve astroviruslardır. Diğer viruslar arasında nazokomiyal salgınlara yol açabilen ve çocuklarda persistan diareye sebep olan toroviruslar ve daha çok hayvanlarda ishal yapan ancak iki yaşından küçük çocuklarda da gösterilmiş olan pestiviruslar gibi daha nadir gastroenterit yapan etkenler yer almaktadır.

2.5.1.1. Rotavirus

Rotaviruslar, dünyada beş yaş altı çocuklarda görülen ishallerin, özellikle ağır gastroenteritin en önde gelen etkenidir⁸⁵. Farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda, rotavirusun viral gastroenterit vakalarının % 11-71’inden sorumlu olduğu bildirilmektedir^{86,87}. Çocuklarda rotavirus enfeksiyonunun klinik spektrumu asemptomatik enfeksiyondan ölüme sebep olan dehidratasyonla seyreden ciddi diareye kadar değişir. Rotavirus, akut gastroenterite bağlı hastaneye yatışların yaklaşık % 40’ında tespit edilmiştir^{88,89,90}. Gelişmekte olan ülkelerde rotavirus, gastroenterit nedenli ölümlerin % 10-20’sinden sorumlu tutulmaktadır⁹¹.

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde rotavirus hastalığı epidemiyolojisi bazı farklılıklar göstermesine rağmen, rotavirus ishalleri gerek gelişmiş gerekse gelişmekte olan ülkelerde benzer sıklıkta görülmektedir. Hastaneye ishal şikayeti ile başvuran

çocukların dışkılarından rotavirus gelişmekte olan ülkelerde % 10-40, gelişmiş ülkelerde ise % 35-50 oranda identifiye edilmiştir⁹². Rotaviruslar, dünya genelinde her yıl 2 milyondan fazla hastane yatışına ve yaklaşık 600 bin ölüme sebep olmaktadır^{93,94}.

Rotavirus beş yaş altı özellikle 3-24 ay arası çocuklarda daha sık görülür ve klinik daha ağır seyreder. Özellikle kış aylarında görülür. Bu sebeple infantil diare veya kış dairesi olarak da bilinir⁸⁵. Her yaş döneminde karşılaşılabilen rotavirus ile sonraki infeksiyonlar daha hafif veya asemptomatik olarak geçirilmektedir.

İnkübasyon peryodu ortalama 2 (1-3 gün) gündür. Çocuklarda genellikle 1-3 gün süren kusma ve ateşi ani başlayan bol sulu ishal izler. Ateş hızla normale döner, kusma 1-2 gün, ishal 2-7 gün sürer, genellikle hastalık kendi kendini sınırlar ve nadiren kronikleşir. Dışkıda kan, lökosit veya mukus bulunmaz. Dışkılama sayısı artmıştır (10-20 dışkılama sayısı/gün) ve sonuç olarak ciddi dehidratasyona, asidoza ve elektrolit imbalansına sebep olabilir³⁸. Dehidratasyon varlığı vakaların yaklaşık % 50'sinde hastaneye yatışı gerektirir. Bazı vakalar tedavi edilmez ise gelişen hızlı ve ciddi dehidratasyon özellikle iki yaşından küçük çocuklarda ölümlere sebep olmaktadır.

Rotavirus son derece bulaşıcıdır ve başlıca fekal-oral yolla yayılır. Virus çevrede dirençli kalabildiğinden kişiden kişiye bulaşma, kontamine gıda ve su ile bulaşma ve oyuncak veya kontamine yüzeylerle temas sonucu olabilmektedir⁹⁵. Rotavirus infeksiyonu olan çocuklar semptomatik olmadan önce ve semptomların başlangıcından iki hafta sonraya kadar virusu yayar. İnfekte çocuklarda ekstrakte edilen rotavirus miktarının dışkının her gramında 10^{10-11} kadar yüksek olması ve infektivite için dozun 10 partikül kadar az sayıda olması infeksiyonun yayılmasını kolaylaştırır.

Rotavirus Reoviridae familyasında yer alan, zarfsız, 70 nm çapında, kapsidi ikosahedral, genomu lineer 11 segmentli, çift sarmallı bir RNA virusudur. EM ile incelendiğinde tekerleğe benzer görünümünden dolayı virusa bu isim verilmiştir. Genom segmentlerinin her biri, en az bir viral protein kodlar; bunların 6'sı yapısal (VP1, VP2, VP3, VP4, VP6 ve VP7), 6'sı ise yapısal olmayan proteindir (NSP1-6). Rotavirusun infektif partikülü üç tabakalı (triple-layered particle; TLP) olup; dış kapsid, iç kapsid ve internal kordan oluşur. Dış kapsid yapı proteinleri VP4 ve VP7'den oluşur ve bunlar koruyucu humoral immunitenin ana hedefleridir. İç kapsid VP6'dan oluşur ve koru çevreler. Yapısal olmayan proteinlerden biri olan NSP4'ün bir viral enterotoksin olduğu bulunmuştur. Ayrıca genomun segmentli yapısından dolayı aynı

hücresinin iki farklı rotavirus suşu ile koinfeksiyonu reassortant virus oluşumu ile sonuçlanabilir. Böylece RNA parçalarının yer değiştirmesi ile oluşan yeni rotavirus antijenik yapısı değişir ve önceki antikorlar etkili olmaz⁹⁶.

Rotavirus kapsid proteinlerinin antijenik özelliğine göre serolojik olarak grup, subgrup ve serotiplere ayrılır. İç kapsid proteini VP6 virusun en önemli antijenik determinantıdır⁹⁷. ve non-nötralizan antikor cevabı oluşturur. Rotavirus grup tanımı VP6'ya göre yapılır. Rotaviruslar VP6 proteinindeki farklılıklara göre A'dan G'ye (A, B, C, D, E, F, G) kadar adlandırılan 7 gruba ve Grup A rotaviruslar I, II, I+II ve non I non II olmak üzere dört subgruba ayrılır⁹⁸. İnsanlarda yalnızca rotavirus grup A, B ve C infeksiyon yapmaktadır. İnsanlardaki gastroenteritlere en sık A grubu rotaviruslar yol açmaktadır. Subgrup II, subgrup I'e göre daha sık görülür. Rotavirus serotiplerinin dağılımı farklı coğrafi bölgelerde ve zaman içinde değişiklik gösterir.

Rotaviruslar her bir grubu içerisinde virusun temel dış kapsid proteinleri olan VP4 ve VP7'ye karşı oluşan monoklonal antikorlar kullanılarak yapılan nötralizasyon testi ile daha alt serotiplere ayrılırlar. VP4 ve VP7 hücreye bağlanma ve girişten sorumludur. VP7, bir viral yüzey glikoproteinidir ve VP7 ile sınıflanan serotipler ise G serotipleri (G; glikoprotein) olarak adlandırılır. Virusda çıkıntı şeklindeki (spike) yüzey kapsid proteini olan VP4, proteaza duyarlıdır. VP4 ile de P (P; proteaza duyarlı) serotipleri tanınır. Nötralizasyon testi ile iki dış kapsid nötralizan antijenleri olan VP4 ve VP7'ye karşı antikorların reaktivitesi ölçülebilir. Hem VP4 hem de VP7 tip spesifik koruyucu nötralizan antikor oluşumunu uyarır. Rotavirusların sınıflandırılmasında VP4 ve VP7 tipleri ikili sistem olarak kullanılır⁹⁹.

Grup A rotavirusların G ve P serotipleme yerine günümüzde alternatif olarak VP7 ve VP4 genom segmentinin nükleik asit dizisindeki farklılıklara göre G ve P genotipleme yapılmaya başlanmıştır Grup A rotaviruslarının şimdiye kadar 23G genotipi (G1-G23) ve 31 P genotipi tanınmıştır. Ancak en az 10 G ve 11 P tipinin insanları infekte ettiği bulunmuştur¹⁰⁰. İnsan infeksiyonlarında dünya genelinde rotavirus gastroenteriti ile ilişkili en yaygın genotipler G1, G2, G3, G4 ve G9'dur ve tespit edilen bütün serotiplerin % 90'dan fazlasını oluşturur. G1 en baskın olanıdır¹⁰¹. Dünyanın bazı bölgelerinde G5, G8, G10 ve G12 infeksiyonları da tanınmıştır. İnsanlarda en yaygın P genotipleri, P[8] ve P[4]'dür. P[8] insan rotavirus tiplerinin % 90'dan fazlasını oluşturur. P[8] genotipi P1A serotipine karşılık gelir. Dünyada yapılan epidemiyolojik

alışmalar dünyada P1A[8]G1, P1A[8]G3, P1A[8]G4 ve P1B[4]G2 ve P1A[8]G9 olmak üzere beş genotip kombinasyonunun insanlarda rotavirus infeksiyonların yaklaşık % 90’ından sorumlu olduğunu gstermiřtir¹⁰².

Rotavirusların gastrointestinal sisteme sınırlı infeksiyon oluşturduğu düşünülmekteydi, fakat son çalışmalarda hem immun kompetan kişiler hem de immun eksikliği olan infekte çocuklarda rotavirus antijen veya viral RNA’nın kan, beyin omurilik sıvısı (BOS), karaciğer, safra kanalı, mezenterik lenf nodları, dalak, böbrek, boğaz ve akciğer gibi birçok ekstraintestinal dokuda tespit edildiği bildirilmiştir. Bu bulguların klinik önemi açık değildir. Rotavirus gastroenteritine sahip çocuklardan alınan serum örneklerinin % 43-66’sında viremi görülür. Birçok çalışmada rotavirus gastroenteriti olan çocuklarda santral sinir sistemi infeksiyon sıklığı % 2-5,7 arasında değişmektedir^{96,103}.

2.5.1.2. Enterik Adenovirus

Akut ocukluk ağı gastroenteritlerinin % 5-15’inden sorumludur¹⁰⁴. Enterik adenovirus en sık 0-2 yaş grubu çocuklarda akut ve özellikle uzamış ishal (6-12 gün) nedenidir¹⁰⁵. Adenovirus gastroenteriti, rotavirus gastroenteritine benzer klinik oluşturmaktadır, fakat daha hafif ve daha uzun süreli seyretmektedir. Dehidratasyon nadiren görülür. Adenovirus infeksiyonu yılın tüm aylarında görülebilmekte ve mevsimsel patern izlememektedir¹⁰⁶.

İnkübasyon süresinin (8-10 gün) sonunda hafif ateş, sulu ishal ve kusma ile başlar ve 5-12 gün sürer ve genellikle kendiliğinden geçer. Dışkı kan ve lökosit içermez. Bulantı ve karın ağrısı da görülebilir. Uzun süren (persistan) laktoz intoleransı bildirilmiřtir¹⁰⁷.

Adenoviridae ailesinde mastadenovirus genusu bir üyesidir. Adenoviruslar başlıca solunum yolu, gastrointestinal yol ve gözü tutar. Belirli tiplerin belirli bir hastalıkla ilişkili olması dikkat çekicidir. Adenoviruslar hemaglutinasyon özellikleri, genomlarının büyüklüğü, bileşimi, homolojisi ve organizasyonlarına göre 6 gruba (A-F) ayrılırlar ve insanda hastalığa yolaabilen 51’den fazla farklı serotipi vardır¹⁰⁷. Alt grup F’de yer alan tip 40 ve 41’in çocuklarda ishal ile olan ilişkisi belirgindir ve bunlar ‘‘enterik adenoviruslar’’ olarak adlandırılır.

Enterik Adenoviruslar 70-80 nm çapında, zarfsız, kapsidi ikosahedral ve lineer çift sarmal DNA'ları olan viruslardır. Kapsid 240'ı hekzon ve 12'si penton olmak üzere toplam 252 kapsomerden meydana gelir. Her penton bir taban ve fiberden oluşur. Her pentondan dışarı doğru uzanan ve uçlarında yumru bulunan yapılara "fiber" denir. Fiberlerin hemaglutinin özelliği vardır ve virusun hücre reseptörlerine bağlanmasından sorumludur. Hekzon ve fiber tip spesifik antijen taşırlar ve bunlara karşı koruyucu nötralizan antikorlar oluşur. Genus spesifik antijen hekzonda lokalizedir, fakat kapsid iç kısmında yer aldığından dolayı koruyucu antikor cevabı uyarmaz¹⁰⁸.

İshale neden olan adenovirüsler çoğunlukla 40 ve 41 serotiplerdir. Enterik adenovirusların infeksiyon bulguları kaybolduktan sonra da viral atılımının uzun süre devam etmesi salgın yapabilmesini kolaylaştırmaktadır¹⁰⁹. Enterik adenovirüs tip 40 ve 41 hastane, yetimhane ve çocuk yuvalarında ishal salgınlarına yol açar¹¹⁰. A grubunda yer alan tip 31, 12, 18, B grubundan tip 3, 7 ve C grubundan ise tip 1, 2, 5 ve 6 nadiren gastroenterit yapan diğer serotiplerdir¹⁰⁶.

2.5.1.3. Norovirus

Dünyada yaygın görülen noroviruslar, tüm yaş gruplarında bakteriyel olmayan gastroenterit salgınlarının (% 60-95) en önemli sebebidir¹¹¹. Norovirus gastroenteriti gerek gelişmiş (% 4-30) gerekse gelişmekte olan ülkelerde (% 3-25) benzer sıklıkta görülmektedir¹¹². Noroviruslar büyük çocuklar ve erişkinlerde salgınlar yapar. Yeni doğan ve küçük çocuklarda ise ciddi gastroenteritlerden sorumlu olup rotavirustan sonra ikinci sırada gelir.

Noroviruslar başlıca fekal-oral yolla bulaşmaktadır, kusmukla da bulaşabilir. Norovirus infeksiyonu bütün yıl boyunca görülebilir. Toplumda genellikle sporadik vakalar halinde görülür, ancak infekte kişinin ortak bir kaynağı kontamine etmesiyle salgın meydana gelebilir. Salgın en çok kontamine su ve yiyecek kaynaklıdır¹¹³. Salgınlar sıklıkla kreş, okul, hastane, restoran, askeri birlikler, göçmen kampları, tatil kampları ve seyahat gemileri gibi toplu yaşam alanlarında ortaya çıkmaktadır¹¹⁴. Salgınlarda atak oranları genellikle >% 60'dır. Ocak 1996 ve Kasım 2000 tarihleri arasında CDC'ye(**Center for Disease Control; hastalık kontrol merkezi**) bildirilen Norwalk virusa bağlı 348 salgının % 39'u restoran, % 29'u huzurevi ve hastanelerde, %

12 okul ve kreşlerde ve % 10'u tatil yerleri veya yolcu gemisinde tespit edilmiştir. Bu salgında gıda (% 39), kişiden kişiye temas (% 12) ve kontamine su (% 3) kaynaktır¹¹⁵.

Norovirus infeksiyonları en çarpıcı özelliği semptomların hızlı başlaması ve hastalığın hızlı yayılmasıdır. İnkübasyon periyodu 1-3 gündür. Norovirus gastroenteriti genellikle ani başlar, kliniği bulantı, kusma, sulu ishal ve kramp biçiminde karın ağrısı ile seyreder. Bazı hastalarda sadece kusma görülebilir ve bu sebeple hastalığa önceleri “winter vomiting disease; kış kusma hastalığı” da denmiştir. Erişkinlerde ishal oysa çocuklarda kusma daha yaygın görülür. Halsizlik, hafif ateş, seyrek olarak da baş ağrısı görülebilir. Dışkı genellikle kan, mukus veya lökosit içermez. Dışkılama sıklığı günde 4-8'dir. Semptomlar 12-24 saat devam ederken hastalık 3-4 gün sürer ve kendi kendini sınırlar, kronik infeksiyona neden olmaz. Hospitalizasyon nadiren gerekir. Ciddi dehidratasyon, özellikle malnutrisyonlu çocuklar, yaşlılar ve immun sistemi zayıf hastalarda ortaya çıkabilir¹¹⁶.

Norovirus Caliciviridae ailesinde yer alan, zarfsız, 27-40 nm çapında, kapsidi ikosahedral, pozitif polariteli tek sarmallı RNA virusudur¹¹⁷. Daha önceleri Norovirus “Norwalk benzeri virus; NLV” ve Sapovirus ise “Sapporo benzeri viruslar; SLV” olarak ilk örnekleri olan sırasıyla Norwalk ve Sapporo viruslar ile ilişkilendirilerek adlandırılmaktaydı. Yakın zamanda NLV grubu Norovirus, SLV grubu ise Sapovirus olarak tekrar isimlendirilmiştir. NLV ve SLV'ler insanlarda gastroenterit yapan iki genustur ve bunlara insan calicivirusları (HuCV) da denir. Norwalk virusu 1990'da klonlanması öncesinde her üye keşfedildikleri yerlerin adlarıyla adlandırılmaktaydı¹¹⁸. NLV'ler; Hawaii virus, Snow Mountain virus, Toronto virus, Bristol virus ve Montgomery country virustur. SLV grubunda ise Manchester virus, Houston/86 virus, Houston/90 virus ve London/92 virus gibi birçok insan calicivirusu mevcuttur¹¹⁹. Bu viruslar hücre kültüründe üretilemediğinden epidemiyoloji ve özellikleri hakkındaki bilgiler gizli kalmaktadır

Norovirus yüzeyinde 32 adet kupa (calix) şeklinde çöküntüler bulunur. Genomu 3 açık okunan bölgeye (Open reading frame; ORF) sahiptir. Bunlar RNA bağımlı RNA polimeraz ve helikaz gibi yapısal olmayan proteinleri kodlayan ORF 1, kapsid proteinleri gibi yapısal proteinleri kodlayan ORF 2 ve fonksiyonu bilinmeyen küçük yapısal proteinleri kodlayan ORF 3'tür. Sapovirusların genomu ise biraz daha farklıdır,

yapısal olmayan proteinler ve kapsid proteinleri tek bir büyük ORF tarafından kodlanır¹²⁰.

İnsan caliciviruslarının sınıflandırması virus genomlarının genetik analizi temeline dayanır. RNA polimeraz ve kapsid bölgelerini kodlayan gen sıralarının filogenetik analizi norovirus ve sapovirusların kendi içinde genogrup (G) ve genetik kümeler (genetik dal) bölüneceğini ortaya koymuştur. Noroviruslar beş genogruba ayrılarak sınıflandırılırlar ve G I-II ve IV insan kaynaklı izolatları, G III sığır izolatları ve GV ise en son keşfedilen fare norovirusunu içerir¹²¹. Domuzlardan elde edilen noroviruslar insan G II izolatı ile yakın ilişkilidir. Bu norovirus genogrupları daha sonra en az 20 genetik kümeye ayrılır, yeni kökenlerin keşfedilmeye devam etmesi ile birlikte bu sayı artmaktadır¹²¹. Sapovirus genusunun daha az üyesi olmakla birlikte şimdilik 4-5 genetik kümeye sahiptir. Sapovirus G I, II, IV ve V insan izolatlarını içerirken, G III domuz izolatıdır¹¹².

2.5.1.4. Astrovirus

Astrovirus gastroenteriti, bütün dünyada endemik olup infantil diarelerin % 2-10'unun sebebidir¹²². Astrovirus gastroenteriti rotavirus gastroenteritlerinin oldukça hafif formudur. Asemptomatik infeksiyon özellikle kreş, okul, huzurevleri ve hastanelerde siktir, genellikle çocuk ve yaşlılarda görülür. Semptomatik infeksiyonlar genellikle iki yaşından küçük infantlarda görülür. Astrovirus infeksiyonlarının mevsimsel olması tartışmalıdır ve coğrafik bölgelere göre değişmektedir.

Astrovirus inkübasyon periyodu 1-3 gündür. Astroviruslar genellikle 1-4 gün süren sulu ishallere yol açarlar. Sulu ishal ile birlikte hafif ateş, halsizlik, karın ağrısı, bulantı ve kusma yapılabilir. Kusma diğer viruslarla olduğundan daha seyrektiler. Hastalık yaklaşık 4 gün sürer. Yenidoğanlar ve yaşlılarda gastroenterit ciddi seyredebilir¹²³.

Astroviridae familyasında astrovirus genusunda bulunur. Astroviruslar 28-30 nm çapında, zarfsız, kapsidi ikosahedral, pozitif polariteli tek sarmallı poli A kuyruğu bulunan RNA viruslarıdır. EM'de karakteristik olarak beş veya altı uçlu yıldız şeklinde görünürler. Astron Yunancada yıldız anlamına gelmektedir¹²⁴. Genomu yaklaşık 7.2kb uzunluğundadır ve 3 ORF'u vardır. Bunlar; ORF 1a, ORF 1b ve ORF 2'dir. ORF 1a ve ORF 1b yapısal olmayan proteinleri kodlar (proteaz, helikaz gibi). Genomun 3' ucunda

bulunan ORF 2 ise yapısal protein olan prekürsör kapsid proteinlerini kodlar. Calicivirusların aksine astroviruslar helikaz kodlamaz¹²⁵.

Astrovirusların protein yapısı iyi bilinmemektedir. Kapsid proteinlerinin prekürsörü 87kDa poliprotein; VP26, VP29 ve VP32 yapısal proteinleri yapar¹²⁶. İnsan astroviruslara (human astrovirus; HastV) karşı monoklonal antikorlarla yapılan çalışmalar VP26 ve/veya VP29 proteinlerinin nötralizasyonda önemli olduğunu göstermiştir. Bu proteinlerin özellikle VP26'nın farklı serotipler arasında gözlenen antijenik varyasyondan sorumlu olduğu düşünülmektedir.

HastV'nin HastV-1, HastV-2, HastV-3, HastV-4, HastV-5, HastV-6, HastV-7 ve HastV-8 olmak üzere 8 farklı serotipi tanımlanmıştır. Başlıca çocuklarda gastroenterite sebep olur, en yaygın görülen HastV-1'dir¹²⁵.Astrovirusların ORF 2 nükleotid sırasına göre de sekiz genotipinin varlığı ileri sürülmüştür. İnsan astrovirus serotiplerinin büyük kısmının genetik dizileri virus ailesinin moleküler sınıflandırmasına izin vermektedir ve verilerde serotipleme genotipleme ile iyi bir uyumluluk içindedir.

2.5.1.5. Diğer Gastroenterit Etkeni Viruslar

Coronavirüsler, pestiviruslar, Breda virusları, parvovirüsler, torovirüsler, picornavirüsler ve picobirnavirus gibi virüsler da insanlarda görülen ishallerin bir sebebi olarak gösterilmiş, fakat gastroenteritte etyolojik açıdan rolleri henüz tam olarak belirlenememiştir.

Torovirüsler, Coronaviridae familyasında olup sığırlarda ishal sebebi olarak bilinir. İlk kez 1984'de gastroenteritli hastaların dışkılarında tespit edilmiştir. Çocuklarda akut ishal ile ilişkili olup nazokomiyal diarenin önemli sebeplerindendir. Pleomorfik, zarflı, 100-140 nm büyüklüğünde, helikal kapsidi olan pozitif polariteli tek sarmallı RNA virüsüdür.

Coronavirüsler da Coronaviridae ailesinde yer alır. Helikal kapsidli, 60-220 nm büyüklüğünde, virusa taç görünümü veren zarfı olan pleomorfik bir virustur. Pozitif polariteli RNA genomuna sahiptir. Hayvanlar ve insanlarda diareye sebep olur.

Parvovirus benzeri virüsler İngiltere'de hem hasta hem de sağlıklı kişilerin dışkı örneklerinde EM'de gösterilmiştir. İshalli vakaların gaitalarından izole edilen virüsler, insanda hastalık yapan tek parvovirus serotipi olan B19 ile morfolojik ve genomik

benzerlikler gösterir. Parvovirus ishalleri daha çok bazı yıllarda insidansı artan epidemiler veya besin zehirlenmeleri şeklindedir.

Picobirnaviruslar Birnaviridae ailesi içerisinde yer alır. İlk kez 1988'de Pereira tarafından tanınmıştır. ‘‘Pico’’ adı virusun küçük olduğunu, ‘‘birna’’ ise iki segmentli (segment 1 ve 2) çift sarmallı RNA (dsRNA) genomuna sahip olduğunu yansıtmaktadır. Zarfsız, 30-40 nm çapında, yuvarlak, düzgün yüzeyli ikosahedral kapsid olan RNA viruslarıdır. Birçok hayvan türünde diareye sebep olur. Çocuk ve erişkinlerde ishalde rolü bilinmemektedir.

Pestiviruslar flaviviridae ailesi üyesidir. Kedi ve domuzlarda iyi bilinen enteropatojenlerdir.

2.5.1.6. Akut Viral Gastroenteritlerde Tanı

Viral gastroenteritlerin bakteri veya parazite bağlı gastroenteritlerden klinik olarak ayırımı güçtür. Hastalığa ait klinik bulgular, tek başına tanı koymak için yeterli değildir. Klinik belirtilerin yanı sıra mevsim, yaş, coğrafik bölge, sosyoekonomik koşullar, immün yetmezlik ve beslenme tarzı gibi çeşitli epidemiyolojik faktörler ayırıcı tanıda faydalı olabilir. Bu aşamada klinik tanıyı doğrulamak için laboratuvar desteği gereklidir. Hastalığın akut evresinde toplanan dışkı viral gastroenteritlerde seçilen örnektir. Viral partiküller semptomatik hastaların dışkısıyla bol miktarda atılmaktadır. Dışkı örneklerinde EM'da virus direk olarak görüntülenmesi, viral antijenlerin saptanması (serolojik testler; ELISA, lateks aglutinasyon gibi), viral nükleik asitlerin moleküler yöntemlerle tespiti (poliakrilamid jel elektroforezi, hibridizasyon testleri, PCR ve RT-PCR, real time PCR gibi), hücre kültüründe virusun izolasyonu veya serolojik testlerle virusa karşı oluşan spesifik antikorların gösterilmesi viral enteropatojenlerin tanısında kullanılan tanı yöntemleridir. Günümüzde virusların her birinin tespiti için farklı yöntemler kullanılmaktadır.

Viral gastroenterit akut evresi dışkıda viral yükün en yüksek olduğu evredir (10^{9-11} viral partikül sayısı/ml). Bu sebeple virus tespiti için dışkı örneklerinin hastalığın ilk 4 günü içinde alınması uygundur. Konvansiyonel testlerde (EM, ELISA) virus tespiti genellikle diarenin devamlılığı ile eş zamanlıdır ve ishal genellikle 1-4 gün sürer. Semptomların başlangıcından 8 gün sonra toplanan örnekler nadiren virus içerir, fakat hastalığın semptomlarının devam etmesine bağlı olarak dışkıda virus atılımı 3 haftaya

kadar sürebilir ve daha sensitif moleküler testler (RT-PCR) ile bu süre içerisinde virus tespiti gerçekleştirilebilir¹²⁷.

Hastalığın kliniği ve rotavirus epidemiyolojik paterni tanıda rotavirus gastroenteritini akla getirir, fakat laboratuvar ile kesin tanınır. Dışkı örneklerinde rotavirus için kullanılan ilk tanısal teknik olan EM, geçmişte altın standart olup, bugün için uygulama zorluğu ve yüksek maliyeti yanı sıra poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE) ve antijen saptama yöntemlerinden daha az sensitiviteye sahiptir. EM’de patognomonik tekerleğe benzer görünüm rotavirusun hızlı tanısına izin verir.

İnsan rotavirusları hücre kültürlerinde üretilmeleri son derece zordur. Tripsin varlığında, virus izolasyonu için en sık kullanılan hücreler maymun böbrek hücre dizisi MA104 ve insan kolon karsinoma hücre dizisi CaCo-2’dir. Sitopatik etki minimaldir¹⁵. Rutin kullanımda değildir, daha çok araştırma amacıyla bazı merkezlerde uygulanmaktadır.

PAGE, rotavirus tanısında halen kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde dışkıdan izole edilen viral RNA gümüşleme ile boyanır, elektroforezde genomik segmentler karakteristik göç paterni gösterir PAGE ile nongrup A rota virusları, grup A rotaviruslarından ayırt edilebilir¹²⁸. Sensitivitesi % 90’dan fazla ve spesifitesi % 100’dür. Elektrofenotipleme, rotavirus infeksiyonlarının epidemiyolojik araştırmalarında değerli bir yöntemdir. Grup A rotavirusun kısa elektroferotipleri genellikle subgrup I ve uzun elektroferotipleri ise subgrup II ile ilişkili bulunmuştur¹⁴.

Dışkıda rotavirus VP6 antijenini hedefleyen antijen tespit yöntemleri rotavirus infeksiyonları tanısında birçok laboratuvarı rutininde en sık kullanılan yöntemlerdir. Günümüzde ise çok sayıda ticari serolojik test mevcuttur. ELISA ve LA en sık kullanılan testler olup sadece A grubu rotavirusların tanısı için kullanılmaktadır¹²⁹. Bu testler daha kolay ulaşılabilen, yüksek sensitiviteye sahip, uygulamada özel ekipmanlara gereksinim duyulmayan, hızlı sonuç veren ve spesifik olmayan reaksiyonlar için bir kontrol grubuna sahip olan yöntemlerdir. ELISA yönteminin sensitivite (% 94-97) ve spesifitesi (% 93-97) yüksektir¹³⁰. LA testlerinin yüksek bir spesifitesi (% 93-97) olduğu ancak sensitivitesinin (% 85-90) ELISA’dan daha düşük olduğu gösterilmiştir. LA testleri ile ELISA’dan daha kısa sürede sonuç alınır¹²⁹.

Grup A rotavirusları G serotiplerinin tespiti için G1-G4 tip spesifik monoklonal antikorlara dayanan ticari ELISA testleri epidemiyolojik çalışmalarda yaygın olarak

kullanılmaktadır. Ancak diğer G serotiplerinin tayini için ticari ELISA testi yoktur. Grup A rotavirus subgrup I ve II tespiti için VP6 üzerindeki iki farklı epitop için spesifik monoklonal antikorların kullanıldığı ELISA testi geliştirilmiştir. Akut gastroenteritli hastalardan en çok izole edilen grup A rotavirus P1A ve P1B serotiplerinin araştırılması için de ELISA testleri vardır. Ancak VP4 antijeninde kros reaktif epitoplar bulunduğu için ELISA ile serotip ayrımı tam olmayabilir. Bu sebeple daha çok genotipleme metodları tercih edilir. Grup B ve C rotavirusların tanısı için VP6 antijenlerine karşı grup spesifik monoklonal antikorların kullanıldığı ELISA testleri geliştirilmiştir⁹⁶.

Sensitivitesi yüksek moleküler yöntemler ile virus genomu tespit edilebilir. Oligonükleotid problemleri, dot hibridizasyon ve RT-PCR testleri sıklıkla araştırma laboratuvarlarında rotavirus salgınlarında etyolojinin araştırılmasında kullanılan değerli moleküler yöntemlerdir. ELISA ve dot hibridizasyonun karşılaştırıldığı çalışmalarda, dot hibridizasyon yöntemi ELISA'dan 10-100 kat daha sensitif bulunmuştur. Rotavirus grup A'nın tespit edildiği tanı testleri arasında RT-PCR en önemlisidir. Bu yöntemle diarenin başlangıcından 4-57 gün sonrasına kadar dışkıda rotavirusun atılımı belirlenebilir. RT-PCR rotavirus spesifik oligonükleotid primerlerinin kullanımı ile G ve P serotiplerinin de tespitine olanak sağlar. RT-PCR yöntemi standart elektroferotip yöntemlerinden 100bin kez, hibridizasyon yönteminden ise 5000 kez daha sensitiftir¹³¹.

Grup A rotaviruslarının G ve P genotiplemesi için spesifik cDNA problemleri ile nükleik asit hibridizasyon testi, RFLP (restriction fragment length polymorphism), tip spesifik primerler ile yapılan RT-PCR, nested RT-PCR, multiplex RT-PCR ve oligonükleotid mikroarray hibridizasyon testleri kullanılır. Genotipleme testlerinden en çok RT-PCR kullanılmaktadır. Grup B ve C rotavirusların tanısı için RT-PCR testi birçok çalışmada kullanılmıştır¹³¹. Genotipleme aşısı geliştirilmesinde yol gösterici bir rol oynamaktadır.

Rotavirus enfeksiyonunda virusa karşı oluşan spesifik antikorların gösterildiği serolojik testler; kompleman fiksasyon testi, immunflorasan test, nötralizasyon testi, hemagglütinasyon inhibisyon testi, ELISA, ELISPOT gibi testleri içerir. Serolojik tanı için kompleman fiksasyon, nötralizasyon, immunfloresan testleri tanı için tavsiye edilmemesine rağmen araştırma amaçlı kullanılmaktadır. Serolojik testlerden özellikle

ELISA testi rotavirus spesifik IgM, IgA ve IgG antikor cevabının tespiti için kullanılabilir. Bir çalışmada 3 aydan büyük çocukların % 81'inde konvelesan serumunda rotavirusa karşı IgG antikor cevabında dört kat artış tespit edilmiş ve akut infeksiyonun en iyi göstergesi olarak bildirilmiştir. Rotavirusa karşı spesifik IgA antikor cevabı akut fazda % 18 ve konvelesan fazda % 62 oranında tespit edilmiştir. Akut fazda IgM cevabı ise 6 aydan büyük çocukların % 50-83, 6 aydan küçüklerde ise % 28'inde pozitif bulunmuştur⁹⁶. Rotavirus ELISA IgA özellikle pasif olarak elde edilmiş anneye ait IgG antikorlarına sahip olan yenidoğanlarda serolojik cevabın gösterilmesinde oldukça etkilidir. Fekal rotavirus IgA antikor seviyesi duodenal IgA antikor seviyesi ile ilişkilidir. Bunun yanında ELISA ile tespit edilen fekal rotavirus IgA antikor seviyesindeki yükselme barsaktaki nötralizan antikor cevabını yansıtır¹³².

Norovirus salgınlarda tanı genellikle hastanın klinik tablosuna göre değerlendirilir. Bir gastroenterit salgınının norovirus orjinli olup olmadığının tahmini için CDC tarafından ileri sürülen epidemiyolojik kriterler; dışkı örneklerinin bakteri ve parazit için negatif olması, hastaların % 50'sinden fazlasında kusma olması, hastalık süresinin 12-60 saat ve inkübasyon süresinin 24-48 saat olmasıdır. Çok spesifik olmasına rağmen bu kriterler çok sensitif değildir.

Dışkı örneklerinde HuCV'lerin tanımlanmasında EM ve immun EM yöntemleri kullanılmıştır, fakat bu yöntemler düşük sensitiviteye sahiptir. Dışkıda antijen tespiti için geliştirilen Radyoimmunassay (RIA) ve ELISA yöntemleri ise HuCV'lerin kültürde üretilmemeleri ve bu sebeple kullanılan reaktiflerin klinik örneğe bağımlı olması sebebiyle sınırlı kalmıştır.

HuCV'lerin antijenik çeşitliliği, hücre kültüründe üretilmemeleri ve uygun hayvan modellerinin olmayışı bu virusların laboratuvar tanısında moleküler yöntemlerin tek ve en pratik yöntemler olmasına neden olmuştur.

Norovirusların 1990'da klonlanması ve gen diziliminin bulunmasından sonra HuCV tanısında yeni moleküler tanı yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemlerin çalışmalarda gönüllülere uygulanması, norovirus infeksiyonlarına yeni bakış açıları sağlamıştır ve bu testler ile kusma şikayeti olanlarda norovirusuna karşı oluşan yüksek serokonversiyon gösterilmiştir. Zamanla bu testler geliştirilerek bugünkü modifiye testler ortaya çıkmıştır¹³³. Bunlardan biri olan rekombinant ELISA testinde viral antijenler veya bunlara karşı oluşan antikorlar araştırılır. Diğer bir tanı yöntemi olan

RT-PCR'da spesifik primer dizilerinin kullanılması ile viral RNA tespit edilir. Bu güncel testler araştırma laboratuvarları ve referans laboratuvarlarında sınırlı uygulanmaktadır.

Noroviruslar için geliştirilen rekombinant ELISA testlerinde baculovirusta eksprese edilen viral kapsid antijenleri kullanılır. Rekombinant kapsid antijenleri dışkı örneklerinde bulunan gerçek viruslara morfolojik ve antijenik olarak benzerdir. Virus benzeri partiküllerdir (virus-like particles; VLP), fakat viral genom içermez. İmmunolojik deneylerin geliştirilmesi için mükemmel bir kaynak sağlar.

Araştırmalarda norovirus tespitinde ELISA, RT-PCR'dan daha çok tercih edilmektedir. Bunun sebebi ELISA'nın daha ucuz, hızlı ve basit bir test olmasıdır. Son zamanlarda dışkıda norovirus antijenlerinin tespitinde spesifik poliklonal ve monoklonal antikoları içeren, insan norovirus genogrup I ve II'nin ikisini birden tespit edebilen ilk ticari ELISA testi norovirus tanısında kullanıma girmiştir.

RT-PCR'da RNA polimeraz ve kapsidi kodlayan gen bölgelerini hedef alan spesifik primer dizilerinden yararlanılır. Bu iki bölge heterojenite gösterir ve HuCV'ler genetik gruplara ve kümelere ayrılır. RT-PCR sensitivitesi ELISA yöntemlerinden oldukça yüksektir. Moleküler epidemiyoloji salgınların kaynağının araştırılmasında ve norovirus yayılımının gösterilmesinde önemli testlerdir. Pahalı ve özel ekipman (thermal cycler gibi) gerektirmesi sebebiyle rutin olarak laboratuvarlarda tanı için kullanılmamaktadır¹³⁴.

Astrovirus özellikle epidemiyolojik çalışmalarda tanı alır. EM, immun EM, hücre kültürü, ELISA ve RT-PCR gibi tanıda kullanılabilen yöntemler araştırma laboratuvarlarında çalışılır. Astrovirus tanısında önceleri EM kullanılmıştır. IEM ile duyarlılığın artırılması mümkündür, ancak bu yöntemler pahalı, zaman alıcı yöntemlerdir. Astroviruslar için rutin hücre kültürü, uygulanması zor ve zaman alıcı bir yöntemdir. Astroviruslar tripsin varlığında insan kolon karsinoma hücrelerinde (CaCo-2), human embriyonik kidney hücrelerinde (HEK) veya devamlı maymun böbrek hücre dizisi olan LLC-MK2 hücrelerinde üreyebilir¹³⁵.

Herrmann ve çalışma arkadaşları 1988 yılında astrovirusların tespitinde kullanılmak üzere ELISA testini geliştirmiş ve bu test ile hücre kültüründe üretilen astrovirusları tespit etmişlerdir¹³⁶. Dışkı örneklerinde astrovirus tespiti için bu test modifiye edilmiştir. Moe ve çalışma grubu 1991 yılında biotinle işaretlenmiş antikolar

kullanılan ELISA testiyle tüm astrovirus serotiplerini saptamışlardır¹³⁷. Rekombinant antijenlerin kullanıldığı ELISA veya immun floresan (IFA) testleri 1999'da geliştirilmiştir. Son zamanlarda grup spesifik monoklonal antikorlar kullanılarak geliştirilen ticari ELISA testleri ile dışkı örneklerinde bütün astrovirus serotipleri tespit edilebilmektedir. Rekombinant ELISA, immun EM'ye göre daha çok sensitiftir. ELISA sensitivitesi % 91, spesifitesi % 98'dir. HAstV-1'e spesifik lateks aglutinasyon testi 2000 yılında Kohno ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir.

Dışkı örneklerinde astrovirus tespiti için Dot blot hibridizasyon yöntemi kullanımı 1991'de Willcocks ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bildirilmiş, fakat daha çok küçük ölçülü çalışmalarda kullanılmıştır. Daha sonra genom dizi bilgileri toplanması ile RT-PCR testi geliştirilmiştir. RT-PCR ve genom dizleri epidemiyolojik araştırmalarda kullanılmaktadır. Bu testler HAstV salgınlarında tanı konulmasını hızlandırmıştır. Astrovirus saptanmasında kullanılan RT-PCR yöntemlerinde, ORF-2'nin hedeflendiği belirtilmektedir. RT-PCR ile korunmuş dizilere uygun oligonukleotid primerler kullanılarak HAstV bütün serotipleri tespit edilebilir. RT-PCR ile dışkı örneklerinde astrovirus varlığı araştırılır ve ELISA'dan daha sensitiftir. ELISA testinde virus tespiti için dışkı örneklerinin hastalığın 1-9 günü içinde alınması uygun iken bu süre PCR ile 35güne kadar çıkmaktadır¹³⁸.

Enterik adenovirusların tanısında ilk önceleri EM kullanılmaktaydı, ancak şimdi monoklonal antikorları kullanan ticari ELISA kitleri mevcuttur. Antijen tespiti için adenovirus 40 ve 41 tip spesifik antikorların kullanıldığı veya adenovirus grup spesifik monoklonal antikorların kullanıldığı ELISA ve lateks aglutinasyon testleri tanı için en uygun metodlardır. Oldukça ucuz, basit ve hızlı EM ile kıyaslandığında % 98 sensitivite ve spesifiteye sahiptir. EM ile adenovirus serotipleri ayırt edilemez. Serotipler nötralizasyon testi, hemaglutinasyon inhibisyon testi, restriksiyon endonükleaz analizi veya PCR ile identifiye edilebilir¹³⁹.

Enterik adenovirusların hücre kültüründe üretilmesi zordur ve transforme akciğer fibroblastı olan Graham 293 gibi veya Chang konjunktival hücreler gibi özel hücre kültürlerine ekilebilir. İnfekte hücreler yuvarlaklaşır, bazofilik intranükleer inklüzyonlar oluşur, karakteristik sitopatik etki genellikle 3-7 günde gelişir, fakat bu süre 28 güne çıkabilir. Rutin klinik tanı için hücre kültürü uygun değildir¹⁴⁰.

Dışkıdan ekstrakte edilmiş viral DNA'yı tespit için kullanılan moleküler yöntemler antijen tespiti için kullanılan testlere göre daha sensitiftir. Restriksiyon enzim analizleri, izole edilen her bir virusun klasifikasyonunda kullanılan kesin yöntemdir.

2.5.2. Bakteriler

İnsanlarda ishal ile ilişkili pek çok bakteri vardır. Bunlar; patojen *E. coli* suşları, *Shigella* türleri, *Salmonella* türleri, *Campylobacter* türleri, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholera*, *Clostridium difficile* ve *Aeromonas* türleridir. Bunların önemi bağışıklık durumu gibi konakçıya ait faktörlere, coğrafi ve epidemiyolojik özelliklere ve bakteri virulans faktörlerine göre değişir.

2.5.2.1. Escherichia coli

E. coli Enterobacteriaceae ailesinde, Escherichieae genusunda yer alır. Memeli ve kanatlıların normal barsak florasında bulunan, Gram negatif, laktozu fermente eden, fakültatif anaerob, sporsuz, çoğunlukla hareketli basillerdir. Hemen her zaman sağlıklı bireylerin barsak florasında bulunmakla birlikte, bazı suşlar barsak dışı ve barsak infeksiyonlarına sebep olabilir. İdrar yolu infeksiyonları, bakteriyemi, menenjit ve ishaller *E. coli* patojen suşlarının en sık oluşturduğu klinik tablolardır. *E. coli* serotiplendirmesi genellikle O (somatik) ve H (flagellar) antijenlerine dayalıdır. 171 O antijeni ve 56 H antijeni tanımlanmıştır.

Enteropatojen olduğu düşünülen altı farklı *E. coli* türü vardır. Bunlar; ETEC, EPEC, STEC (EHEC), EAEC, DAEC ve EIEC'dir. Bu *E. coli* türleri farklı epidemiyolojik özellik ve klinik semptomlarla ilişkilidir.

ETEC infeksiyonları tüm dünyada erişkinlerde turist diarezi ve gelişmekte olan ülkelerde 2 yaş altı çocuklarda görülen ishal ile seyreden hastalıkların en önemli sebeplerinden biridir¹⁴¹. İshal vakalarının % 25'inden fazlasında ETEC'nin etken olduğu bildirilmiştir ve her yıl ETEC ishali sonucu 700 bin ölüm görülmektedir¹⁴². Gelişmemiş ülkelerde endemik ishallerin major sebebidir ve 2 yaş altı çocuklar yılda 2-3 ETEC ishal atağı geçirirler. Gelişmiş ülkelerde endemi yapmaz ve turist diarelerinin yaklaşık % 50'sinin sebebidir¹¹. Sıcak, nemli mevsimlerde pik yapar^{142,143}. Kontamine gıda ve su ile bulaşır. Rotavirus ile birlikte gelişmekte olan ülkelerde infantlarda dehidratasyonla seyreden ishallerine sebep olmaktadır. ETEC 1-2 günlük inkübasyon sonrası ishal, karın ağrısı, bulantı ve kusma ile giden, sıklıkla ateşin eşlik etmediği,

semptomların hafif ve kendi kendini sınırlayıcı nitelikte olduğu, genellikle 3-4 gün süren bir klinik tabloya yol açar. Hafif ateş görülebilir. İshal sekretuvar tipte olup kan ve mukus içermez, ani sulu dışkılama ile başlar. Malabsorbsiyon gelişebilir. Hastalığın ciddiyeti günde 10-20 dışkılamayla birlikte hafiften şiddetli infeksiyonlara kadar değişir ve bebeklerde ciddi dehidratasyona yol açabilir. Erişkin hastalar ile karşılaştırıldığında çocuklarda dehidratasyon görülme sıklığı ve parenteral sıvı replasmanı gerekliliği daha fazladır¹⁴⁴.

EPEC infeksiyonları tüm dünyada nosokomiyal yenidoğan ve infant ishal salgınlarında etkindir. EPEC infeksiyonu büyük çocuk ve erişkinlerde nadir görülür. 1940 ile 1960 yılları arasında birçok gelişmiş ülkede çocuk yuvalarında infant ishal salgınlarında tespit edilmiş, fakat daha sonraları sıklığı azalmıştır¹⁴⁵. Bununla birlikte gelişmekte olan ülkelerde sıklıkla 2 yaş altı çocuklarda infantil ishalin önemli bir sebebi olarak varlığını sürdürmektedir¹⁴⁶. Kontamine besinlerle bulaş, bakıcı elleri ile bulaş suçlanır. Sıcak, nemli yaz aylarında pik yapar. İnkübasyon periyodu 6-48 saat olup, kısadır. Yeni doğanlar ve küçük çocuklarda sıklıkla şiddetli, uzamış (14 gün veya daha uzun süren) ve kan içermeyen, mukuslu ishal ile birlikte kusma, karın ağrısı ve ateş görülür. Dışkılama sayısı artmış, yeşil ve yapışkan görünümde genellikle kan ve lökosit içermeyen dışkı görülür. İshal şiddetli olup dehidratasyonla sonuçlanabilir. EPEC kronik ishalinin sekeli olarak malabsorbsiyon, malnütrisyon, kilo kaybı ve büyüme geriliği görülebilir¹⁴⁷.

STEC infeksiyonu kanlı ishale sebep olur ve hemorajik kolit klinik tablosu HÜS'a kadar ilerleyebilir. Sporadik ishaller veya salgınlar yapar. Sporadik ishallerde izolasyon oranı % 1'inden azdır. Kanlı ishallerde dışkıda % 20-30 izole edilir¹⁴⁸. Salgınlarda tahminen vakaların % 25'inde hastaneye yatış, % 5-10'unda HÜS ve %1'inde ölüm görülür¹⁴⁹. En sık 5-9 yaş ve 50-59 yaşlarında ortaya çıkar. Yaz aylarında pik yapar. ABD'nde *E. coli* O157:H7 her yıl tahminen 73000 hastalık ve 60 ölüm vakasına sebep olmaktadır¹⁵⁰. İnsan patojeni olarak ilk defa 1982'de Kuzey Amerika'da görülen hemorajik kolit salgınında dışkı örneklerinden identifiye edilmiş olup, salgının kaynağının fastfood restoranlarında yenilen hamburgerler olduğu bildirilmiştir. *E. coli* O157:H7 Kuzey Amerika ve Avrupa'da hemorajik kolit ve HÜS ile en sık birliktelik gösteren serotipidir, fakat son zamanlarda O157 dışı STEC'lerin artan oranda sporadik veya salgın hastalıkların sebebi olarak tespit edilmektedir.

Japonya’da 1996 yılında salgın yapmış ve 6000’den fazla insanı infekte etmiştir. New York’da 1999 yılında EHEC salgınlarından birinde 1000’den fazla insanın etkilendiği, 2 vakada HÜS ve 8 vakada ise renal yetmezlik geliştiği bildirilmiştir. CDS 19 bölgeden toplanan 109 infekte vakada 55 hastaneye yatış, 16 HÜS vakası ve 1 vakada ölüm bildirmiştir¹¹. *E. coli* O157:H7 sığırlarda kolonize olur, bu sebeple sığır eti en sık salgınların kaynağıdır¹⁵¹. Ayrıca çiğ süt, klorlanmamış şebeke suyu, çiğ sebzeler diğer bulaş kaynaklarıdır **(Slutsker L, 1997)**¹⁵². İnfektif dozu düşük olduğundan (<200 cfu) kişiden kişiye bulaş ile kreşler, okullar ve bakım evlerinde salgınlar yaparlar¹⁵². İnkübasyon süresi ortalama 3-9 gündür. STEC kliniği bulantı, kusma, şiddetli karın ağrısı ve sulu ishal ile başlar ve vakaların %90’ında 2-3 günde kanlı ishal ve hemorajik kolite ilerler. Karın ağrısı şiddetlenir. Kanlı ishal ortalama 4 gün sürer (1-22 gün). Ateş genellikle yoktur ya da düşüktür (% 30). Semptomlar genellikle kendi kendini sınırlayıcı nitelikte olmakla birlikte özellikle çocuk ve yaşlılarda ölümle sonuçlanabilir¹¹. Mikroanjiyopatik hemolitik anemi, trombositopeni ve akut böbrek yetmezliği ile karakterize bir durum olan HÜS, STEC infeksiyonunu takiben vakaların % 4’ü veya daha fazlasında görülür¹⁵³. *E. coli* O157:H7 Kuzey Amerika’daki HÜS vakalarının en az % 80’inin sebebi olarak düşünülmekte ve gelişmiş ülkelerdeki kanlı ishalin yaygın bir sebebi olarak bilinmektedir¹⁵³.

EAEC suşları gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde çocuklarda kronik (14 günden uzun süren) ishal ile ilişkili olup, sporadik ishal veya salgınlar yapabilir¹⁵⁴. Brezilya, Meksika, Hindistan, İran, Japonya, İngiltere, ABD gibi ülkelerde yapılan çalışmalarda persistan ishallerde bütün ishal vakalarına göre EAEC daha sık tespit edilmiştir ve yapılan araştırmalarda EAEC’nin küçük çocuklarda en sık görülen enteropatojenlerden biri olduğu bildirilmektedir^{155,156,157,158}. İnkübasyon süresi ortalama 8-18 saattir. Tipik olarak kan ve lökosit içermeyen, sulu, mukoid sekretuvar tipte ishale sebep olur, fakat persistan ve inflamatuvar seyir de görülebilir. Tabloya hafif ateş, karın ağrısı ve kusma eşlik edebilir¹⁵⁹. Epidemiyolojik çalışmalarda masif kanlı ishal EAEC ile infekte vakaların üçte birinde bildirilmiştir¹⁶⁰.

DAEC son zamanlara kadar nonpatojen olarak düşünülmekteydi, fakat son 15 yıldır yapılan çalışmalarda özellikle 2 yaşından büyük çocuklarda ishal ile ilişkili olduğu gösterilmiştir¹¹. Prototip DAEC suşu gönüllü erişkinlerde ishale sebep olmamıştır. Güney Meksika’da yapılan bir vaka kontrol çalışmasında DAEC’nin 6

yaşından küçük çocuklarda ishaller ile ilişkili olduğu ortaya çıkmıştır¹⁵⁹. Şili, Bangladeş ve Brezilya'da yapılan bir çalışmada 48-60 ay yaş grubunda çocuklarda DAEC'nin ishaldeki rolü gösterilmiştir. Persistan ishallerde sıklıkla DAEC izole edilmiştir¹⁶¹. Sıcak mevsimlerde daha sık görülür. DAEC kliniği ETEC'e çok benzer, kendi kendini sınırlayan sulu, kansız ve dışkıda lökositin olmadığı ishallere yol açar. Nadiren kusma ve karın ağrısı kliniğe eşlik eder.

EIEC genetik, biyokimyasal ve klinik özellikleri ile *Shigella* spp'ye benzer¹⁶². Gelişmekte olan ülkelerde endemik infeksiyonlara sebep olur ve ishallerin % 1-5'inden sorumludur¹⁶³. Gelişmiş ülkelerde nadirdir, gıda salgınları yapabilir. *Shigella* gibi dizanteri yapar, fakat sulu ishal daha sık görülür. Semptomlar genellikle kendi kendini sınırlayıcı niteliktedir.

2.5.2.2. *Shigella*

Shigella spp, *E. coli* suşları gibi Enterobacteriaceae ailesinde Escherichieae genusunda yer alırlar. *Shigella* spp Gram negatif, laktozu fermente etmeyen, çomak şeklinde, sporsuz, fakültatif anaerop, hareketsiz, kapsülsüz mikroorganizmalardır. Klinik olarak hastalık oluşturulabilen 4 türü vardır. Bunlar biyokimyasal özelliklerine göre veya grup ve tip spesifik antijenlerle serolojik olarak ayrılabilirler: *S. dysenteriae* (Grup A), *S. flexneri* (Grup B), *S. boydii* (Grup C) ve *S. sonnei* (Grup D)'dir. Bunlardan A,B,C grupları biyokimyasal özellikleri ile birbirine benzerler. Shigellanın bu dört serogrubunda 40'dan fazla serotip ve subtipleri vardır¹⁶⁴.

Shigella infeksiyonu tüm dünyada özellikle 1-4 yaş grubu çocuklarda görülen önemli bir sağlık sorunudur. *Shigella* spp ishallerin % 5-15, dizanterilerin % 30-50'sinde etkindir¹⁶⁵. *Shigella* dünya genelinde her yıl 164,7 milyon ishal vakasına sebep olur, bunların 163,2 milyonu gelişmekte olan ülkelerde görülür ve bunun 1,1 milyonu ölüm ile sonuçlanmaktadır¹⁶⁶. Gelişmekte olan ülkelerde *S. flexneri* endemik *Shigella* infeksiyonlarında en sık etkindir. Endemik şigelloz 5 yaşından küçük çocuklarda bütün ishal ataklarının yaklaşık % 10'unun sebebidir¹⁶⁶. ABD'de 5 yaşından küçük çocuklarda ishallerin %5'inden azında etkindir. Gelişmiş ülkelerde en sık görülen serotip *S. sonnei*'dir. *S. dysenteriae* tip 1 pandemiler yapabilir, son 30 yılda Orta Amerika, Bangladeş, Güney Asya, Orta ve Doğu Afrika'da pandemiler göstermiştir¹⁶⁷.

Shigella suşları sadece insanda patojendirler. Shigella çok bulaşıcıdır (infektif doz 10 cfu/ml), en sık kişiden kişiye fekal oral yolla bulaşır. Kontamine gıda ve sular ile de bulaşabilir¹⁶⁸. Shigella türleri akut basilli dizanteri (shigelloz) yapan organizmaların tipik örneğidir. İnkübasyon periyodu 1-4 gündür, fakat *S. dysenteriae*'de bu süre 8 güne kadar çıkabilir. Mikroorganizmanın alınmasını takiben 24-48 saat içerisinde yüksek ateş, halsizlik, baş ağrısı, iştahsızlık ve kusma gibi klinik semptomların ardından ani başlayan ishal görülür. Hastalığın başlangıcında gaita sulu ve bol miktarda olabilir, ayrıca hafif seyirli olup kısa sürer. Sulu ishali takiben basilli dizanterinin tipik klinik tablosu olan ciddi karın ağrısı, tenesmus ve kanlı mukuslu, az ve sık dışkılama ortaya çıkar. Kolondaki ülserler yüzeysel olduğundan dışkıda kan miktarı azdır, inflamasyon nedeniyle mukus bulanıktır. Dışkılama sayısı günde 7-12'dir ve ciddi seyirli klinik tabloda bu sayı 20'ye çıkabilir. Küçük çocuklarda karın ağrısı oldukça şiddetlidir, aşırı ıkmaktan dolayı rektal prolapsus gelişebilir. Hastalıkta belirtiler genellikle 5-7 gün içinde kendi kendine sekelsiz iyileşir¹⁶⁵. Küçük bebeklerde, yaşlılarda ve immun sistemi baskılanmış kişilerde hastalık ağır seyreder ve komplikasyonlara yol açabilir. Gelişmekte olan ülkelerde malnütrisyonlu infantlarda komplikasyonlar görülebilir. Bunlar; ileus, toksik megakolon, hipovolemik şok, ileus, rektal prolapsus, HÜS (yalnızca *S. dysenteriae tip 1* ile ilişkili), artrit, Reiter sendromu (*S. flexneri* ile ilişkili), fulminant toksik ensefalopati, konvülsiyonlar, meningismus, delirium, baş ağrısı, letarji, konfüzyon, ense sertliği ve halüsinasyonlardır¹⁶⁹. Dehidratasyon ve bakteriyemi nadirdir.

Shigella dört alt grubu da dizanteri oluşturabilir, fakat *S. dysenteriae tip 1* özellikle ağır forma sebep olur. *S. sonnei* asemptomatik olabilir. Malnütrisyonu yol açabilir.

2.5.2.3. Campylobacter

Kampilobakteriozis tüm dünyada yaygın bir zoonozdur. Campylobacteriaceae ailesinde yer alır, Gram negatif, spiral şekilli, sporsuz, mikroaerofilik basildir. Flagellası ile hızlı hareket eder.

Campylobacter infeksiyonları gelişmişlik farkı gözetmeksizin tüm dünyada ishale seyreden hastalıkların yaklaşık % 5-14'ünden sorumludur. Beş yaşından küçük çocuklarda (özellikle 12 aylık) ve 20-40 yaşlarda pik yapar¹⁷⁰. Campylobacter enteriti

gelişmiş ülkelerde infeksiyöz ishallerde en sık görülen bakteridir. Avrupa ülkelerinde insidansı % 1-5 ve ABD’de insidansı % 1 olarak bildirilmiştir¹⁷¹. Gelişmekte olan ülkelerde 5 yaşından küçük çocuklarda infeksiyon hiperendemik olup, diare vakalarının % 8-45’inden sorumludur¹⁷². Genel olarak insanlarda *Campylobacter* infeksiyonlarının % 95’inden *C. jejuni* ve *C. coli* sorumludur. Ancak gelişmiş ülkelerde ishalleri vakalardan izole edilen kampilobakter suşlarının % 95’ini *C. jejuni* oluştururken gelişmekte olan ülkelerde vakaların yaklaşık olarak % 50’sinden *C. coli* izole edilmektedir¹⁷². Etken başta kanatlılar, ruminantlar ve domuzlar olmak üzere çeşitli hayvanların gastrointestinal ve genital sisteminde kommensal olarak bulunmakta olup, insanlara hayvan dışkıları ile kontamine olmuş et, süt ve suların tüketimi ile veya infekte hayvanlarla temas sonucunda bulaşmaktadır^{173,174}. *Campylobacter* batı ülkelerinde yaklaşık % 75 oranla kontamine kümes hayvanları ve % 5’den az oranla ise domuz ve sığır eti ile bulaşmaktadır¹⁷⁵.

Campylobacter infeksiyonları genelde sporadiktir, yaz aylarında ve erken sonbaharda genellikle uygun olmayan şartlarda hazırlanan ve pişirilen kümes hayvanları ve ürünlerinin tüketimi sonrasında görülür¹⁷⁶. İnkübasyon periyodu 1-8 gün (ortalama 3 gün) arasında değişir. Hem hayvanlarda hem de insanlarda hastalık yapabilen kampilobakterler sekretuar tip ishalden dizanteriye kadar değişebilen gastroenterit tablosuna yol açarlar. Genellikle sekretuar tipte başlayan ishal vakalarının yaklaşık olarak % 30’u dizanterik forma ilerler¹⁷⁴. Sekretuar tip ishal çoğu kez kendi kendini sınırlayan sulu ishal ile karakterizedir. İnfekte kişilerde 4-5 gün süren ishal yanı sıra ateş, kramp şeklinde karın ağrısı, bulantı ve kusma görülebilir^{177,178}. Ateş 39-40°C olabilir ve bu çocuklarda febril konvülsiyona sebep olabilir. Bazı hastalarda dışkılama sayısı sekizden fazladır. Daha nadir görülen dizanteri formunda ise shigella gibi invaziv özellikte patojenlerin yaptığı infeksiyona benzer şekilde dışkıda kan, mukus ve lökosit bulunabilir. Hastaların çoğu genellikle 1 haftadan daha kısa sürede iyileşir, fakat %5-10’unda relaps veya inflamatuvar barsak hastalığını taklit eder şekilde uzamış veya şiddetli ishal tablosu olabilir¹⁷⁹. *C. Jejuni* tedavi edilmez ise dışkıda 2-3 haftaya kadar atılabilir. İmmün yetmezliği olan hastalar, yaşlılar ve malnutrisyonu olan çocuklar ile yenidoğanlarda intestinal kanaldan yakın bölgelere direk yayılımı ile kolesistit, pankreatit, peritonit, mezenterik lenf adenit gibi lokal infeksiyonlar ve bakteriyemi yapabilir¹⁸⁰. Kampilobakter infeksiyonlarından sonra Guillain Barre sendromu (GBS) ,

HÜS, interstisyel nefrit, Ig A nefropatisi, reaktif artrit, bursit, eritema nodozum gibi geç başlangıçlı, non infeksiyöz komplikasyonlar da görülmektedir¹⁷⁷.

2.5.2.4. Salmonella

Salmonella spp, Enterobacteriaceae ailesinde yer alır. Gram negatif çomak şeklinde, sporsuz, kapsülsüz, fakültatif anaerop, peritrih kirpikleriyle hareketli mikroorganizmalardır. İnsanda patojen olan *S. enterica*'dır. Somatik O ve flajellar H antijenleri ile 2300'den fazla serovarı tanımlanmıştır. ABD'nde en sık bildirilen insan serotipi *S. enteriditis*'dir¹¹.

Salmonella spp birçok kliniğe yol açar. Bunlar; akut gastroenterit, enterik ateş (tifo), sepsis ve asemptomatik taşıyıcılıktır. Bunlardan akut gastroenterit en sık görülenidir.

Nontifoidal salmonellar hayvanlar ve insanlarda gastroenterit infeksiyonu yaparlar. Kontamine olmuş gıda veya suyla bulaşır. CDC 2002 yılı verilerine göre ABD'de nontifoidal salmonella infeksiyon insidansı yılda 100 binde 17,7 bildirilmiştir ve salmonella gastroenteriti her yaşta görülmekle birlikte beş yaşından küçük çocuklarda risk en yüksektir¹⁸¹. Yaşla birlikte sıklığı giderek azalır ve erişkinlerde yaşam boyu sabit kalır.

Salmonella gastroenteriti tipik klinik özelliği akut kendini sınırlandıran enterokolittir, şiddeti hafiften ağıra kadar değişir. İnkübasyon periyodundan 6 saat-10gündür (ortalama 24 saat). İshal genellikle suludur, fakat kan, lökosit ve mukus içerebilir. Baş ağrısı, bulantı, kusma, karın ağrısı görülebilir. Ateş vakaların en az % 70'inde vardır¹⁸². Kanlı ishal küçük çocuklarda sık, erişkinlerde nadir görülür. Semptomlar genellikle 2-7 gün içinde kendiliğinden düzelir. Bazı vakalarda tekrarlayan veya uzamış ishaller görülebilir. Şiddetli infeksiyonlarda siyanoz, şok, hipotermi ve ölüm görülebilir¹⁸³.

Bazı hastalarda gastroenteriti takiben lokalize infeksiyon ve sepsis gelişebilir. Bakteriyemi insidansı ilk bir yaşta özellikle de 3 aylıktan küçük çocuklarda yüksektir. Yapılan çalışmalarda *S. enteriditis* bakteriyemi sıklığının infantlarda %5-45 arasında değiştiği bildirilmiştir¹¹. Sepsis (lokalize infeksiyonla birlikte veya değil)'de kan kültürleri pozitif iken dışkı kültürleri genellikle negatiftir. Ateş, üşüme titreme, iştahsızlık ve kilo kaybı görülebilir. Bakteriyemisi olanların yaklaşık dörtte birinde bir

enfeksiyon odağı tespit edilebilir. Akut lokaize enfeksiyon direk veya indirek barsak sistemi ile ilişkili olabilir ve apandisit, kolesistit, peritonit ve salpanjite sebep olabilir. Orak hücreli anemisi olan hastalarda, 6 aydan küçük çocuklarda ve immun sistemi baskılanmış hastalarda beyin, deri, akciğer, dalak, orta kulak, kemik veya eklemlerde lokalize enfeksiyon odakların görülme olasılığı daha yüksektir. Menenjit çoğunlukla küçük çocuklarda yüksek mortaliteye sebep olur. Osteomyelit, artrit en sık uzun kemikler, spina ve kaburgaları tutar. Yaşlı hastalarda pnömoni sıklıkla fatal seyreder¹⁸⁴.

Enterik ateş etkeni olan *Salmonella typhi* ve *Salmonella paratyphi* sadece insanda kolonize olurlar. Bulaş sıklıkla insan dışkı ile kontamine olmuş gıda veya su ile olur. Enterik ateş tüm dünyada hala önemli bir halk sağlığı problemidir, yılda 12,5 milyon vaka bildirilmekte olup, endemik olduğu bölgelerde mortalite oranları % 12-32'dir. ABD'de enterik ateşe bağlı ölüm oranları %1'den azdır¹⁸⁵.

Salmonella typhi uzun, oldukça değişken inkübasyon süresine (1-6 hafta) sahiptir. Enterik ateş sistemik bir hastalık olup vakaların çoğunda yüksek ateş, baş ağrısı, halsizlik ve iştah kaybı ile kendini gösterir. Ateş 2-7 gün boyunca basamak tarzında yükselerek 40°C'ye çıkar ve spesifik antimikrobiyal tedavi yapılmaz ise 3-4 hafta karakteristik olarak ateş bu düzeyde kalır. Ateş ile karşılaştırıldığında nabız hızı nispeten yavaştır. Bazı vakalarda ishal bazılarında ise kabızlık (% 10-38) gelişebilir. Nonspesifik ateş olarak ortaya çıkabildiği küçük çocuklarda hastalık daha hafif seyredebilir. Beş yaşından küçük çocuklar ve bebeklerde ishal daha sık olarak görülür. Erişkinlerde karakteristik olarak ishale sebep olmaz. Abdominal hassasiyet, distansiyon ve ağrı tabloya eşlik edebilir. Hastalık erken döneminde özellikle karın ve gövdede gül rengine lekeler (rose spot, % 30) görülebilir. Dalak sıklıkla büyür. Lökopeni görülür. Semptomlar genellikle 4 haftada sonlanır. Delirium ve stupor şiddetli vakalarda gelişebilir¹¹.

Kronik taşıyıcılık, *Salmonella*'ların dışkı veya idrarda bir yıl veya daha uzun süredir bulunması durumudur. Taşıyıcılık 40-60 yaşlarda sıktır. Mikroorganizmanın başlıca yerleşim yeri safra yollarıdır. *S. typhi* taşıyıcıları özellikle safra kesesinde anomali olanlarda yıllar boyunca dışkı ile çıkarılabilir.

2.5.2.5. Diğer Gastroenterit Etkeni Bakteriler

Yersinia enterocolitica Enterobacteriaceae ailesinde yer alır. Gram negatif, laktozu fermente etmeyen, fakültatif anaerob bir çomaktır. *Yersinia enterocolitica* 70'den fazla serotipi vardır. İnsanlar için patojen olan suşlar coğrafi bölgelere göre değişir.

Yersinia enteriti sporadik vakalar halinde görülür ve küçük çocuklarda erişkinlere göre daha sık rastlanır¹⁸⁶. Soğuk hava şartlarında daha iyi üreyebildikleri için ABD'nin kuzey bölgeleri ve Kuzey Avrupa ülkelerinde sık karşılaşılan ishal etkenidir¹⁸⁷. Genelde çiğ ve az pişmiş etler ile bulaşır, 4-7 günlük inkübasyon periyodunun sonunda dizanteriform, malabsorpsiyon türü ya da sulu bir ishale yol açar. Dışkıda çoğu zaman lökosit, kan ve mukus bulunur. Bazen ishal aylarca sürebilir. Şiddetli karın ağrısı, ateş, kusma ve batında hassasiyet ishale eşlik edebilir. Mezenterik lenfadenit veya terminal ileit yaparak akut apandisit taklit eder. Kolonoskopide Crohn hastalığını düşündüren ülserler görülür. Sepsis bulguları ve/veya artrit ve eritema nodosum *Yersinia* gastroenteritine eşlik edebilir. Klinik olarak *Yersinia*'dan kuşkulandığında laboratuvar çalışanları uyarılarak özel kültür ortamları kullanılmalıdır. Patogenezi *Salmonella*'nıninkine benzer ve barsak mukozasını invazyona uğratar, daha sonra lamina propriaya, oradan da lenfoid dokuya geçer¹⁸⁸.

Vibrio cinsi içinde en önemli tür *V.cholerae*'dir. *V.cholerae* fakültatif anaerob, tek flajelli, düz, kıvrık veya virgül şekilli gram negatif bir basildir. *V.cholerae* O1, *V.cholerae* O139 ve *V.cholerae* non-O1 olmak üzere üç alt gruba ayrılır. Klasik kolera *V.cholerae* O1'in Klasik ve El Tor olarak isimlendirilen iki farklı biyotipi ve *V.cholerae* O139 tarafından oluşturulur¹¹. Bunlar, dünyanın Hindistan ve Bangladeş gibi belli yörelerinde endemik olarak bulunan, kimi zaman da ciddi epidemilere hatta pandemilere sebep olan önemli bir sekretuar ishal etkenidir. *V. cholera*'nın rezervuarları insanlardır. Bulaş kirli su ve su ürünleri ile ya da çiğ yenen sebze ve meyveler ile olur. Mide asitini geçebilen basiller musinaz salgısı ile mukoza engelini aşarak ince barsakta enterositlere adherens faktörü ile tutunur, kolonize olur. İki-üç günlük inkübasyon periyodundan sonra kolera toksinleri ile ani başlayan şiddetli ishale seyreder. Kolera gastroenteritinde çok sayıda, bol sulu, ağrısız, kokusuz ve pirinç suyu görünümünde ishal tipiktir. Hızla ciddi sıvı ve elektrolit kaybına yol açarlar ve tedavi edilmez ise ölümle sonuçlanabilir. Deri çamaşırcı kadın elini andıracak gibi buruşuktur¹⁸⁸.

V. parahaemolyticus, Asya’da besinle ilişkili gastrointestinal enfeksiyon etkenleri başında gelir, genellikle çiğ balık veya kabuklu deniz ürünlerinin tüketimi ile ilişkilidir. ABD’de klinik örneklerden ensık izole edilen *Vibrio* türüdür. İshal, bulantı, kusma, karında kramp, hafif ateş ve titreme ile seyreden gastroenterite sebep olur. İshal sıklıkla suludur, nadiren kanlı olabilir. Ciddi dehidratasyon nadirdir.

2.5.2.6. Akut Bakteriyel Gastroenteritlerde Tanı

Akut gastroenterit etkeni bakteriyel enteropatojenlerin tanısında hastaya ait demografik ve epidemiyolojik veriler, klinik özellikler ve konak immün durumu yol gösterse de kesin tanı için laboratuvar desteğine ihtiyaç vardır. Bakteriyel enteropatojenlerin araştırıldığı dışkı örnekleri en kısa sürede incelenmelidir. Bakteriyel gastroenteritlerin tanısı için rutinde konvansiyonel kültür yöntemleri kullanılmaktadır. Enfeksiyon dışı birçok etkenin ishale sebep olduğu unutulmamalı ve akut ishali olan hastaların hepsinde dışkı kültürü yapılmamalıdır.

İshal yapan bakteriyel patojenlerin bazıları (*Salmonella*, *Shigella*) mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutin olarak tespit edilebilir, identifikasyon için dışkı örnekleri öncelikle kanlı agar gibi seçici olmayan besi yerlerine ve Endo, MacConkey gibi seçici besiyerlerine ekilmelidir. Ayrıca dışkı kültürü endikasyonu varsa örnek *Campylobacter*, STEC, *Salmonella* ve *Shigella* türlerini tespit edecek daha seçici besi yerlerine de ekilmelidir. İshal yapan bakteriyel patojenlerin bazıları ise özelleşmiş besi yeri veya üretme koşullarına gerek duyarlar (*V. cholerae*, *Y. enterocolitica*, *C.difficile*).

Basilli dizanteride kesin tanı *Shigella*’nın rutin dışkı kültüründe identifikasyonu ile olmaktadır. Gram negatif buyyon ve selenite broth gibi zenginleştirme besiyerleri sıklıkla *shigella* izolasyonunu kolaylaştırmak için kullanılabilir. Zenginleştirme besiyerinde inkübasyon sonrası, seçici besi yerlerine dışkı örneğinin ekilmesi gereklidir. Gram negatif bakterilerin üretilmesinde kullanılabilecek seçici besi yerleri; MacConkey agar, Eozin metilen mavisi agar (EMB agar), Hektoen enterik agar (HE agar), *Salmonella Shigella* agar (SS agar), Xylose Lysine Desoxycolate agar (XLD agar), Desoxycholate citrate agar’dır (DCA). Aerobik ortamda, 37°C’de (20°C-42°C) 1 gece inkübasyon sonrası bu besi yerlerinde *shigella* kolonileri renksiz, laktozu veya ksilozu fermente etmeyen koloniler olarak görülür. Şüpheli koloniler *Shigella* türlerine özgü özellikler, TSI (triple şeker demir; üç şekerli demir içeren besiyeri), KIA (kligler demir

agar) veya Braun A ve B besiyerleri kullanılarak araştırılır ve identifiye edilir. Shigella türleri karakteristik olarak alkali yatkın ve asit dip oluşturlar, fakat gaz ve H₂S üretmez. *S. flexneri* ve *S. boydi* birkaç suşu gaz üretebilir. Hareket, üre hidrolizi ve lizin ve ornitin dekarboksilaz testleri Shigella için karakteristik olarak negatiftir.

Shigella serolojik identifikasyonu, spesifik polivalan O antiserumları kullanılarak lam aglütinasyonu ile yapılır, ardından bazı durumlarda (*S. dysenteriae* tip 1 tespiti için) spesifik serotip identifikasyonu için monovalan antiserumlarla test edilir. Doğrulama için referans laboratuvarlarına gönderilebilir. Epidemiyolojik araştırmalarda Shigella alt tiplendirmesinde RFLP (restriction fragment length polymorphism) ve PFGE (pulsfield gel electrophoresis) yöntemleri kullanılabilir.

Salmonella infeksiyonlarına kültür ile tanı konmaktadır. Dışkı örneklerinden Salmonella izolasyonunda en yaygın kullanılan zenginleştirici besiyerleri; tetrathionat broth ve selenite broth'dur. Shigella gibi seçici besiyerlerine ekilerek Salmonella izolasyonu gerçekleştirilir. HE, XLD ve bismuth sulfite agar, laktoz negatif olan Salmonella'larda hidrojen sülfür (H₂S) üretiminin tespitine yardımcı indikatörlere sahiptir. Bugün birçok laboratuvar HE veya XLD kullanılmaktadır. Aerobik ortamda, 37°C'de 1 gece inkübasyon sonrası besi yerlerinde salmonella kolonileri renksiz, laktozu veya ksilozu fermente etmeyen koloniler olarak görülür. HE veya XLD'de H₂S üretimine bağlı olarak kolonilerin ortasında siyahlık gözlenmektedir. Salmonella şüpheli koloniler TSI, KIA veya Braun A ve B besiyerlerinde biyokimyasal özellikleri açısından ileri identifiye edilir. Salmonella türleri TSI veya KIA tüp besiyerlerinde karakteristik olarak alkali yatkın ve asit dip oluşturlar, gaz ve H₂S üretirler. H₂S üretimine bağlı siyah renk gözlenir. *S. typhi* karakteristik olarak asit/alkalidir, ancak gaz üretmez ve çok az miktarda H₂S batırma bölgesi ve batırma hattında gözlenir. İndol, Voges-Proskauer, fenilalanin ve üreaz negatiftir. Ayrıca Salmonella O grup spesifik antiserumlar kullanılarak serotipler belirlenebilir. Salmonella serotip Typhi şüpheli izolatlar Salmonella Vi ve O grup D antiserumları ile serolojik olarak değerlendirilmelidir. Tam olarak serotipin belirlenmesi, özellikle referans laboratuvarlarında doğrulama veya araştırma amacıyla kullanılmaktadır.

S. typhi'nin O ve H antijenleri ile aglütine olan antikorları ölçen Gruber Widal testi yalancı pozitif ve yalancı negatif sonuçlar oluşturur ve infeksiyon vakalarının ayırıcı tanısını sağlamaz.

Tifoya sıklıkla klinik bulgulara göre tanı konmaktadır, fakat etkenin izolasyonu kesin tanı için gereklidir. Tifo tanısı için kan, gaita, idrar veya dokularda salmonellanın üretilmesi temel yöntemdir. *Salmonella typhi* dışkı örneklerinden çok kan kültürlerinden sıklıkla izole edilmektedir.

Campylobacter infeksiyonlarının tanısı dışkı örneklerinde mikroorganizmanın kültür yöntemi ile izolasyonu, bakteri genomu moleküler yöntemlerle tespiti, bakteri antijenlerinin gösterildiği direk yöntemlerle veya hasta serum ve sekresyonlarında kampilobaktere karşı oluşan spesifik antikorların araştırıldığı serolojik testler yani indirek yöntemlerle konmaktadır¹⁸⁹. İnfekte dışkı örneğinden *Campylobacter* izolasyonu ve identifikasyonunda seçici kültür yöntemlerinin yanı sıra son yıllarda mikroorganizmanın genomundaki 16S rDNA, 23S rDNA, GroEl, GTPase, CadF, Asp, CeuE, HipO ve GlyA proteinlerini kodlayan spesifik gen bölgelerinin amplifiye edildiği nükleik asit amplifikasyon teknikleri (multiplex-PCR, AFLP, PCR-hibridizasyon testleri) ile spesifik gen bölgelerinin restriksiyon enzimleri ile kesilmesi sonucu elde edilen DNA fragmentleri sayısı ve büyüklüklerini esas alan PCR-RFLP gibi moleküler yöntemler denenmiştir.

Campylobacter tanısında kültür altın standart olarak kabul edilmektedir. *Campylobacter* kapnofilik, mikroaerofilik olup en iyi 37°C'de (42°C'de de üreyebilir) %5-10 CO₂, %5 H₂ ve %85 N₂ içeren atmosferde, 48-72 saatte ürerler. Günümüzde bu gaz karışımının verilmesini sağlayan Campy-Pack, Campy-Gen gibi ticari olarak üretilen hazır ticari kitler mevcuttur. Adi besi yerinde üretilmeleri son derece zordur. Skirrow, Butzler, Blaser, Campy-BAP, CCDA gibi seçi besiyerlerinde üretilir^{190,191}. Dışkıdan üretilmesi 72-96 saat gerektirirken, kan kültüründen izolasyonu için gereken süre 2 haftadır. *Campylobacter* seçici besiyerinde inkübasyon sonunda 0.3-0.5 mm çapında, su damlası gibi nemli, gri/beyaz renkte, agar yüzeyinde bir tabaka şeklinde yayılma gösteren, hemoliz yapmayan tipik koloniler oluşturur. Katı besiyerinde üreyen şüpheli *Campylobacter* koloniler identifiye edilmesi için oksidaz, katalaz, hippurat hidrolizi, antibiyotik duyarlılık testleri yapılır. İdentifikasyon testleri ilk izolasyondan çok, mikroskopik morfolojileri *Campylobacter* ile uyumlu koloni subkültürlerinden yapılmalıdır^{189,192}.

Gram boyanarak, soluk pembe renkte, martı kanadı, S veya virgül şeklindeki tipik morfolojisinin görülmesi tanıya yardımcıdır. Karanlık alan veya faz-kontrast

mikroskoplar ile bakterinin tipik tirbuşon tarzındaki hızlı hareketlerinin görülmesi tanıya yardımcıdır^{189,193}.

Antijen tespitinde kullanılan testler hızlı tanı sağlar, fakat duyarlılıkları kültür yöntemine göre daha azdır. ELISA, LA ve presipitasyon temelli çok sayıda ticari test geliştirilmiştir^{194,195}.

Mikroorganizma genetik yapısının son derece değişken olması moleküler yöntemlerin standardizasyonu güçleştirmektedir. Moleküler yöntemler kısa sürede sonuç veren, hızlı ve yüksek duyarlılığa sahip testlerdir. Araştırma ve referans laboratuvarlarında kullanılmaktadır. *Campylobacter* identifikasyonunda 23S rDNA bazlı PCR-RFLP yöntemi, multipleks PCR'a göre daha sensitif ve spesifik bir testtir^{196,197,198}.

Campylobacter antijenlerine karşı hasta serum ve sekresyonlarında sIgA ve IgG antikorları tespitinde kompleman birleşme testi ve ELISA bazlı serolojik testler kullanılmış, fakat bunların tanı değerinin düşük olduğu görülmüştür. Serolojik testler epidemiyolojik araştırmalarda doğrulama testleri olarak kullanılmaktadır¹⁹⁹.

E. coli patojenik suşların identifikasyonu sadece referans veya araştırma merkezlerinde mümkündür. Tanıda hücre kültürleri, hayvan modelleri, DNA problemleri, PCR testleri ve diğer spesifik serolojik testler kullanılabilir. Patojenik *E.coli* suşlarının O ve H serotiplerinin belirlenmesi özellikle epidemiyolojik araştırmalarda faydalıdır, fakat çoğu laboratuvar pahalı olması nedeniyle tam *E.coli* serotiplendirmesi yapmamaktadır.

Endemik bölgelerde, HÜS veya hemorajik koliti olan vakalarda bakteriyel enteropatojenlerin kültürü için gönderilen kanlı dışkı örnekleri sorbitolu fermente etmeyen *E. coli* O157:H7 taramasının yapılabilmesi için sorbitollü MacConkey (SMAC) agara ekilmelidir²⁰⁰. Ayrıca STEC suşlarının hızlı identifikasyonuna yardımcı olan çeşitli kromojenik agar besiyerleri (CT-SMAC; sefiksim-tellürit SMAC) de mevcuttur²⁰¹. O157:H7'den şüphelenildiğinde tanının bir referans laboratuvarında serotipleme testleri ile doğrulanması gerekir. Salgınların araştırılması ve sürveyansda STEC kültürü için seçici bir besiyeri olmadığı için, dışkı örneklerinde O157 antijeni veya Shiga toksin varlığını tespit eden ELISA ve LA testleri sensitif ve hızlı tanı yöntemleridir²⁰². Ayrıca *stx1*, *stx2*'i kodlayan gen bölgesi PCR ve multipleks PCR testi ile tespit edilebilir¹³. *Stx*'e ilave virulans faktörlerinin varlığını belirlemede intimin için

eae gen probu ve hemolizin için hlyA (ehxA) gen probu en sık kullanılan yöntemlerdir²⁰³.

STEC dışındaki diğer patojen E. coli suşları biyokimyasal özellikleri ile diğer E.coli suşlarından ayırt edilemez. EPEC, EAEC ve DAEC Hep-2 ve HeLa hücre kültürlerinde karakteristik adherens paternleri göstermeleri ile tespit edilebilmektedir²⁰⁴.

EPEC, epitel hücrelerinde AE histopatolojisi varlığı ve stx'in olmaması ile tanınmaktadır. AE histopatolojisi, Hep-2 ve HeLa hücre kültüründe tespit edilebilmektedir. Ayrıca intimini kodlayan eae geni ya da LEE patojenite adasına yönelik DNA prob, PCR veya multipleks PCR testleri ile de tanınır¹³.

İnvaziv olmayan EAEC tanısı, Hep-2 ve HeLa hücrelerinde tipik agregatif adherensinin göstermesi ve adherensten sorumlu genlerin DNA problemleri veya PCR'da tespiti ile gerçekleşir. Tanı için adherensten sorumlu genler, spesifik AA veya CVD432 DNA probu ile identifiye edilebilir²⁰⁵. Ayrıca EAEC tanısında özel bir test olan likit-kültür klamp agregasyon testi kullanılarak bu patojenin hücrelere tutunması gösterilebilir.

DAEC tanısı, Hep-2 hücrelerinde diffüz adherensinin gösterilmesi ve adherensten sorumlu genlerin DNA problemleri veya PCR ile tespiti sonucu gerçekleşir.

ETEC tanısında, ürettiği ST ve LT ekzotoksinler ve kolonizasyon faktörleri araştırılır. ETEC'in ürettiği ST ve LT toksinleri tespiti için genellikle hücre kültürleri, ELISA testleri, gen problemleri, PCR testlerinden yararlanılır¹³. İnsan suşlarında STh ve STp olmak üzere ST toksininin iki farklı varyantı belirlenmiştir. ST-ELISA ticari kitleri sadece ST toksinini tespit eden kompetitif enzim immünassaydır. Ters pasif lateks aglütinasyon (VET-RPLA) testi ise antijenik olarak oldukça benzer olan LT toksini ve kolera toksininin her ikisini birden tespit etmektedir²⁰⁶.

EIEC; çeşitli in vivo testler (Sereny testi), ELISA ve Hep-2 ve HeLa hücrelerine invazivlik için nükleik aside dayalı testler ile identifiye edilebilir, ancak ticari kit ve reagenler bulunmamaktadır. Tanı amacıyla, Sereny testinde EIEC'nin invazyon özelliğinin kobay gözüne bakterinin inoküle edilerek keratokonjonktivit oluşturması ile gösterilmesi anlamlıdır. İnvazyonla ilişkili virulans faktörler olan ipaC ya da ipaH'ı kodlayan gen bölgeleri moleküler araştırmalarda kullanılmaktadır¹³.

2.5.3. Parazitler

Giardia lamblia, *Cryptosporidium*spp ve *E. histolytica* çocuklarda en sık diareye sebep olan parazitlerdir.

İnsanlarda sık olarak ishal ve malabsorbsiyon etkeni olan *Giardia*, *G. lamblia*, *G. intestinalis* veya *G. duodenalis* olarakta adlandırılır *G. lamblia* dünyada insanlarda barsak parazitozunun en yaygın sebebidir. Gelişmekte olan ülkelerde prevalansı çocukluk döneminde %25-30 kadardır. Gelişmiş ülkelerde bu oran %7'yi nadiren geçer. *G. lamblia* ABD'de en sık izole edilen intestinal kamçılıdır. Akut ishale sebep olabilir, fakat genellikle persistan ishale yol açar. Fekal-oral yolla ya da kontamine sularla bulaşabilen *G. lamblia* kisti alınması sonucu enfeksiyon oluşmaktadır. Çocuk bakım evlerinde epidemilere yol açabilir. *G.lambli*a ince barsakta genellikle mukozaya adezyon yapar, nadiren invazyona sebep olur. *G. lamblia* ile enfekte olan birçok kişi asemptomatiktir. Özellikle parazitin endemik olduğu tropikal ve subtropikal bölgelerde semptomatik olup, dışkı sayısı az, ama bol miktarda ve kötü kokuludur. Karın ağrısı, iştahsızlık, bulantı ve abdominal distansiyon giardiazisi düşündüren şikayetler olabilir. Kilo kaybı ve malabsorpsiyon gelişebilir. Dışkıda genellikle kan ve lökosit bulunmaz. Tanı dışkıda kistlerin, ya da ince barsakta trofozoitlerin görülmesi ile konur. ELISA ile dışkıda antijen araştırılabilir¹⁸⁸.

Entamoeba histolytica özellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde daha sık görülmekle birlikte, bütün dünyada insanların yaklaşık %10'unu enfekte eder. Gelişmiş toplumlarda bu oran %5'tir. Çocuklarda çoğu kez asemptomatik ya da hafif bir enfeksiyona yol açarsa da, bazen kanlı ishal ve ateşle seyreden dizanteri ishali ortaya çıkabilir. Kişisel hijyenik koşulların bozulması ile bağlantılı olarak geçiş riski artar. Bu parazit sıklıkla kontamine sulardan bulaşmakla birlikte, kişiden kişiye direkt bulaşma da olabilir. Başlıca rezervuar insandır. Amipli dizanteri açısından yüksek risk altında olanlar; endemik bölgelere göç edenler, topluluk halinde yaşayanlardır. Kistler ince barsak ortamında açılır ve kolonu invaze eden trofozoitleri oluşturur. Dışkıda trofozoitlerin veya kistlerin görülmesi, ya da serolojik testlerle tanı konabilir¹⁸⁸.

Cryptosporidium spp, çocuklarda oldukça sık diareye sebep olur. Bu parazit, süt çocuklarında ve immun yetersizliği olanlarda genellikle ağır ishal yapar, diğer çocuklarda ise sıklıkla subklinik olarak seyreden bir enfeksiyona yol açar. Hayvanlardan insanlara bulaş sıktır, direkt temasla ya da enfekte su ve besinlerle de bulaşabilir. İnce

barsakta ookistlerden serbest kalan sporozoitler intestinal epitele girerek fırçamsı kenar fonksiyonunu bozarlar ve villus atrofisine, sonuçta da malabsorpsiyona sebep olurlar. Sulu, sekretuar tipte ishal yapar, dışkı kan ve lökosit içermez. Karın ağrısı, iştahsızlık ve kilo kaybı olabilir. İmmün yetersizliği ya da HIV enfeksiyonu olanlarda daha ağır ve uzun süreli bir gidiş görülür¹⁸⁸.

2.6. Akut Gastroenteritlerde Tedavi ve Korunma

2.6.1. Akut Gastroenteritlerde Tedavi

Sıvı elektrolit replasmanı, hem viral hem de bakteriyel akut gastroenteritlerde tedavinin temelini oluşturmaktadır. İshal ve kusma sonucu oluşan su ve elektrolit kaybını düzeltmek için, ORS tedavisi hafif ve orta dehidratasyonda tercih edilirken, intravenöz (IV) sıvı tedavisi şokta veya ciddi elektrolit dengesizliği olan ve oral tedavi ile düzelme göstermeyen çocuklarda uygulanır.

İshali olan bir çocuğun yaşına uygun bir diyetle erken dönemde beslenmeye başlanması da tedavide önemlidir. Çünkü birkaç günlük açlık bile barsak villuslarında önemli şekilde atrofi ve emilim yüzey alanında azalmaya yol açar. Dehidratasyonu olmayan ya da hafif dehidratasyonlu çocukların beslenmesine hastalıkları boyunca devam edilmeli, orta ve ağır dehidratasyonu olan çocuklarda ise rehidrasyon sonrası mümkün olan en kısa sürede beslenmeye başlanmalıdır.

Bakteriyel gastroenteriti olan hastaların çoğu antimikrobiyal tedavi gerektirmeden, kendiliğinden iyileşmektedir. Akut ishalleri hastaların çok az bir kısmında (%5-10) antibiyotik tedavisine gereksinim duyulur. Ayrıca çocukluk çağı akut ishal tedavisinde antibiyotiklerin etkinliği ve güvenliği ile ilgili sınırlı sayıda veri vardır.

Antibiyotik tedavisi hastalığın uzaması, artmış taşıyıcılık ve artmış morbidite ile ilişkilidir. *Salmonella* spp enterokolitlerinde antimikrobiyal ilaçlar taşıyıcılık ve nüksü artırır, ancak uygun endikasyon durumunda kullanılırlar. EHEC düşünülen olgularda antibiyotik verilmesi HÜS riskini artırdığından uygulanmaz. Bu komplikasyon *E. Coli* O157:H7 için antibiyotik tedavisi almış %50 çocukta rapor edilmiştir ve antibiyotik kullanımının HÜS gelişme riskini 13.4-17.7 kat artırdığı tahmin edilmektedir²⁰⁷.

Antibiyotik tedavi *Shigella* spp, *Salmonella* spp (endikasyon varlığında), *V. cholerae*, *C. jejuni*, *C. difficile* türleri, *G. intestinalis*, *E. histolytica*'ya bağlı akut

ishallerde fayda sağlayabilir. Her bir enteropatojen için uygun antimikrobiyal seçilirken direnç sıklığı unutulmamalı ve klinik izolatlarda antimikrobiyal ilaç duyarlılık testi yapılmalıdır.

Çocuklarda akut ishal tedavisinde genel olarak ampisilin, trimetoprim-sulfometaksazol (TMP-STX), makrolid, florokinolonlar, sefotaksim, tetrasikin, metranidazol gibi antimikrobiyaller oldukça etkilidir.

Viral gastroenteritlerin spesifik antiviral tedavileri yoktur. Rotavirus ishal tedavisinde oral veya enteral immunglobulin etkinliği birkaç çalışmada gösterilmiştir^{208,209}. İshal ve virus yayılım periyodunu kısaltıyor gibi görünse de rutin tedavide kullanılmamaktadır.

Kronik rotavirus enfeksiyonlu immun yetmezliği olan çocukların tedavisinde kolostrum veya rotavirus antikorları içeren insan sütü ve rotavirusa karşı immunize olmuş ineklerin kolostrumu kullanılmış ve iyi sonuçlar elde edilmiştir. Fakat bunlar akut rotavirus gastroenteriti tedavisinde etkili olmamaktadır, sadece virus yayılım süresini kısaltmaktadır.

İshalin önlenmesinde ve tedavisinde en hızlı yayılan ilaçlardan biri canlı mikroorganizmalar, probiyotiklerdir. *Laktobacillus rhamnosus* GG en çok araştırılan probiyotiktir. İnsan barsağında geçici olarak kolonize olur. *Laktobacillus* GG'nin çocuklarda ve erişkinlerde akut ishal tedavisinde etkili olduğu çalışmalarla gösterilmiştir^{210,211}.

Dünya Sağlık Örgütü (WHO; World Health Organization) ve Birleşmiş Milletler Çocuklara Yardım Fonu (UNICEF; United Nations Children's Fund) 2004 yılından bu yana akut ishallerde çocuklarda çinko kullanımını desteklemektedir. Bangladeş'te Roy ve arkadaşlarının yaptığı çift kör kontrollü çalışmada, akut ishallerde malnütre çocuklarda 20mg/kg elemental çinko desteğinin ishal süresini kısalttığı, dışkı çıkarımını azalttığı, kilo alımının daha iyi olduğu ve serum çinko düzeyinin düzeldiği gösterilmiştir²¹².

İshal tedavisinde loperamid, antikolinergik ajanlar, bismut subsalisilat veya adsorbanların kullanılması önerilmemektedir. Opiyat, atropin içeren bileşiklerin kullanılması kontrendikedir.

2.6.2. Akut Gastroenteritlerde Korunma

Akut gastroenterite sebep olan enteropatojenler insandan insana en yaygın fekal oral yolla bulaşır. Salgınlar veya sporadik ishallere sebep olurlar. Kaynak genellikle infekte dışkı ile temas eden eller, eşyalar (oyuncak gibi), kontamine yüzeyler, su ve gıdalardır. Bulaşmanın önlenmesi için sanitasyon, dezenfeksiyon, kişisel ve toplumsal hijyen standartlarının yükseltilmesi ve eğitim esastır. Salgınlar sırasında hasta çocuklar izole edilmelidir.

Çocuklara bakan kişilerin, hastanede personelin hijyen kurallarına uyması, etkili el yıkaması bulaşmayı önemli ölçüde azaltır. Ayrıca anne sütü ile beslenme de önerilmelidir.

Kontamine yüzeyler, eşyalar tam temizlenmeli, dezenfekte edilmelidir. İçme sularının yeterince filtre edilmesi, klorlanması ve su şebekelerine yeterli bakım yapılmasıyla su kaynaklı salgınlar önlenir. Endemik bölgeye seyahat edenler kaynamış ya da şişelenmiş su içmeli, yüksek riskli yiyeceklerden, açıkta satılan yiyeceklerden kaçınmalı ve buz kullanılmamalıdır. Çiğ sebze ve meyveler her zaman temiz su ile iyice yıkanmalı, gıdalar iyi pişirilmelidir.

Bakteriyel gastroenteritlerden korunmada önemli olan kişisel ve toplumsal hijyen kuralları, rotavirus infeksiyonlarının önlenmesinde çok etkili değildir. Demokratik virus olarak da tanımlanan rotavirusların neden olduğu gastroenteritler, hijyen koşullarından bağımsız olarak, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde benzer sıklıkta görülür. Rotaviruslar tüm dünyada süt çocuklarında görülen ishallerin, özellikle hastaneye yatış ve bebek ölümlerine neden olan ağır gastroenteritin en önde gelen sebebidir. Bu ağır hastalık yükü nedeniyle tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de rotavirus gastroenteritlerinden korunma gereksinimi vardır ve rotavirus ishalinin önlenmesinde tek yöntem aşılama²¹³.

Rotavirus aşısından beklenen doğal rotavirus infeksiyonuna benzer immunité oluşturarak, orta/ciddi infeksiyona karşı koruması, hastane yatışları ve mortaliteleri önlemesi, ekonomik kayıpları azaltması ve hastalığın süre ve ciddiyetini hafifletmesidir^{214,215}.

Günümüzde iki yeni rotavirus aşısı; monovalan human rotavirus aşısı [Rotarix, GlaxoSmithKline] ve pentavalan human-bovine reassortant rotavirus aşısı [RotaTeq, Merck] 2008 yılı itibariyle 100'den fazla ülkede ruhsat alarak kullanıma girmiştir. Her

iki aşının da güvenilir olduğu ve barsak tıkanması ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir. Bu aşılarda herhangi bir rotavirus diareisine karşı %74-79, şiddetli rotavirus diareisine karşı ise %96-100 koruma sağladığı gösterilmiştir^{216,217}. Rotavirus aşısı, hastaneye yatışları (%96), acil servis başvurularını (%94) azaltır^{216,218,219,220}.

Monovalan human rotavirus aşısı oral yolla 2 ve 4. ayda olmak üzere 2 dozda uygulanır. Pentavalan human-bovine reassortant rotavirus aşısı ise oral yolla 2, 4 ve 6. ayda olmak üzere 3 dozda uygulanır. İlk doz bebek 15 haftalık olana kadar uygulanmalı ve aşılama 15. haftadan sonra başlanılmamalıdır ve aşılama 8 aya kadar tamamlanmalıdır.

Diğer gastroenterit etkeni virusların ve bakterilerin aşısı şimdilik yoktur, aşı çalışmaları devam etmektedir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çocuk yaş grubunda görülen gastroenteritlerde viral ve bakteriyel etkenlerin klasik ve moleküler yöntemlerle araştırılması amacı ile yapılan bu çalışmaya, Temmuz 2009 ile Ekim 2009 tarihleri arasında Adana Doğum ve Çocuk Bakımevi Hastanesi polikliniklerine ve acil servisine ishal yakınması ile başvuran akut gastroenteritli çocuklara ait 136 dışkı örneği dahil edildi. Örnek alınmadan önce çocukların anne ve babaları bilgilendirildi. Ayrıca hastaların demografik verileri (adı, soyadı, yaşı, cinsiyeti ve aile özellikleri gibi) ve klinik bilgileri alındı. Ondört günden daha kısa bir süre kusmalı veya kusmasız seyreden günde 3 kez veya daha fazla sulu veya normalden yumuşak dışkılama akut gastroenterit olarak kabul edildi.

3.1. Dışkı Örneklerinin toplanması

Akut gastroenteriti olan her çocuktan alınan dışkı örneklerinden biri steril, sızdırmaz kapaklı kaşıklı dışkı kaplarına yaklaşık 1 gr, ikincisi Selenit- F besiyerine bir öze dolusu ve en son olarak da Modifiye Carry-Blair besiyerine eküvyon yardımıyla alınmak üzere üç ayrı şekilde toplandı. Örnekler dışkının varsa kanlı ve/veya mukuslu bölgelerinden alındı. Bu örnekler buz kalıpları arasında en geç iki saat içerisinde laboratuvara taşındı.

Laboratuvarda akut gastroenteritli 136 çocuk hastadan alınan dışkı örneklerinin bakteriyolojik ve virolojik incelemeleri yapıldı. Selenit- F besiyerine ve Modifiye Carry-Blair besiyerine alınan dışkı örneklerinde klasik kültür yöntemi ile Salmonella, Shigella, Kampilobakter ve EHEC gibi enterik bakteriyel patojenler araştırıldı. İdentifikasyon yöntemleri ile tür düzeyinde tanımlama yapıldı. Patojen Escherichia coli türleri tespiti için ise DNA ekstraksiyonu ve multipleks PCR yapıldı. Akut gastroenteriti olan çocuklardan kaşıklı dışkı kapları ile toplanan dışkı örnekleri ise viruslar için test edilinceye kadar -80°C’de saklandı. Kaşıklı dışkı kapları ile toplanan dışkı örneklerinde ELISA testleri ile rotavirus, norovirus, astrovirus ve adenovirus gibi viral enterik patojenler araştırıldı. Ayrıca rotavirus için ELISA testi sonucu pozitif çıkan örneklerden RNA ekstraksiyonu ve RT-PCR ile G ve P Genotipleme yapıldı.

3.2. Rotavirus, Adenovirus, Calicivirus ve Astrovirus antijenlerinin ELISA testi ile dışkı örneklerinin araştırılması

Dışkı örnekleri Grup A rotavirus antijen tespitine yönelik Rotavirus Antigen ELISA (Ridascreen; kat. No: C 0901, Lot No: 02329 R- Biopharm AG, Germany) kiti ile araştırıldı ve daha sonra sırasıyla norovirus, astrovirus ve adenovirus antijenleri tespitine yönelik Norovirus Antigen ELISA kiti (Ridascreen; kat. No: C 1401, Lot No: 04139 R- Biopharm AG, Germany), Astrovirus Antigen ELISA kiti (Ridascreen; kat. No: C 1301, Lot No: 05269 R- Biopharm AG, Germany) ve Adenovirus Antigen ELISA kiti (Ridascreen; kat. No: C 1001, Lot No: 04329 R- Biopharm AG, Germany) kullanılarak değerlendirildi. ELISA testleri üretici firmanın önerdiği protokol ile gerçekleştirildi.

ELISA Testinin yapılışı

Dışkı örnekleri uygulama öncesi dondurucudan çıkarılıp çözülmesi için oda ısısında 15-20 dakika bekletildi. ELISA kitleri buzdolabında +4°C’de saklanmaktaydı. Çalışma öncesi oda ısısında 30 dakika bekletildi.

Kitin içindekiler

1. ELISA plağı: 96 kuyulu plak
2. Substrat: Bir şişe 10 mL
3. Konjugat: Bir şişe 10 mL
4. Pozitif kontrol: Bir şişe 1,8 mL
5. Diluent 1: Örnek dilüsyon buffer 1; bir şişe 100 mL
6. 10X Wash Buffer : % 0,1 thimerosal; bir şişe 100 mL
7. Stop solüsyonu: Bir şişe 6 mL

ELISA testinin uygulanması

1. ELISA kiti kullanılmadan önce yarım saat oda ısısında bekletildi.
2. 1X Wash Buffer hazırlamak için 100 mL 10X Wash Buffer ile 900 mL DS (Distile su) karıştırıldı.
3. Örnekler, numaralandırılan tüplere diluent 1’den 1mL konup üzerine 100 µL dışkı örneği (1 öze dolusu) ilave edilerek hazırlandı. Yaklaşık 2 dakika vorteksenerek

örneklerin çözünmesi sağlandı. Pozitif kontrolden 100 µL, negatif kontrol için ise diluent 1'den 1mL alınıp bir tüpe konarak hazırlandı.

4. Mikroplağın A1 kuyusuna pozitif kontrolden 100 µl, B1 kuyusuna negatif kontrolden 100 µl ve mikroplağın diğer kuyularına ise sırasıyla çözünmüş 94 dışkı örneklerinden 100 µl konuldu. Daha sonra her bir kuyuya 100 µl konjugat ilave edildi ve oda ısısında (20-25°C) 60 dakika inkübe edildi.

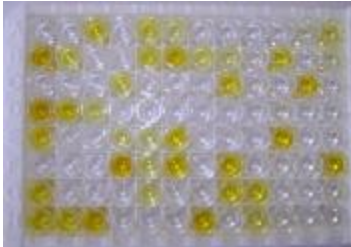
5. İnkübasyonun ardından plak ELISA yıkama cihazında (Medispec ESW300 ELISA Plate Washer) 5 kez 300 µl, 1X Wash Buffer solüsyonu ile yıkandı ve sonunda 2 kez aspire edilip iyice kurutuldu. Hiç sıvı kalmaması için kurutma kağıdı üzerinde plak ters çevrilip birkaç kez tap yapıldı.

6. Her bir kuyucuğa 100 µl substrat ilave edildi. Karanlık bir ortamda oda ısısında 15 dakika inkübe edildi ve bazı kuyucuklarda mavi renk dönüşümü başladığı gözlemlendi (Şekil 1).



Şekil 1. ELISA mikroplağı 1

9. İnkübasyonun ardından her bir kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu ilave edildi. Maviden sarıya dönen renk değişimi görüldü (Şekil 2).



Şekil 2. ELISA mikroplağı 2

10. Plaklar hafifçe sallanarak homojen bir solüsyon elde edilmeye çalışıldı.

11. Sonuçlar spektrofotometrede (Denley We Scan) 450 nm dalga boyunda okunarak değerlendirildi.

12. ELISA kiti protokolünün önerisine göre optik yoğunluğu rotavirus ve adenovirus için 0,350'den büyük olan örnekler pozitif, 0,350'den küçük olan örnekler negatif, norovirus ve astrovirus için ise 0,5'den büyük olan örnekler pozitif, 0,2'den küçük olan örnekler negatif kabul edildi.



Şekil 3. Spektrofotometre



Şekil 4. ELISA yıkama cihazı

3.3. Rotavirus RNA'sının RT-PCR ile araştırılması

ELISA testi ile rotavirus antijen pozitif bulunan dışkı rneklerinin RNA ekstraksiyonları gerçekleştirildi. Ekstrakte edilen RNA rnekleri RT-PCR ile değerlendirilene kadar -80°C'de bekletildi. Rotavirus G genotiplemesi için (G1- G4, G8- G10) rotavirusun VP7 bölgesine ait Beg9B- End9B ve P genotiplemesi için (P[4], P[6], P[8-11]) ise VP4 bölgesine ait Con2 - Con3 konsensus ve tip spesifik primerler ile RT-PCR testi yapılıp ardından multipleks semi-nested PCR testi ile tiplendirme yapıldı.

3.3.1. Dışkı rneklerinden RNA'nın ekstraksiyonu

ELISA testi sonucu rotavirus Grup A pozitif olan dışkı örneklerinden rotavirus RNA'sının ekstraksiyonu Roche High Pure Viral Nucleic Acid Kiti (Lot No: 14290100, Kat. No: 11 858 882 001) kullanılarak gerçekleştirildi. Üretici firmanın talimatlarına uygun olarak kit çalışıldı.

Dışkı rneklerinden RNA'nın ekstraksiyonu yapılışı

1. Ekstraksiyon için -80°C'de saklanan dışkı örnekleri çıkarıldı ve çözünmesi için oda ısısında bekletildi. znen dışkı örnekleri %10 oranında PBS (fosfat tamponlu su) ile sulandırıldı. Sulandırılan rnekler 2 dakika vorteksenerek

ardından 10.000 X G'de 10 dakika santrifüj edildi ve santrifüj sonrası üstte kalan sıvı kısımdan mikropipetle 200µl alınarak steril 1,5 ml'lik eppendorf tüplerine aktarıldı.

2. Bunların üzerine 5ml Binding buffer ve 50 µl Poly A çalışma solüsyonu karışımından 400 µl eklendi ve vortekslendi.
3. Oda ısısında 10 dakika inkübe edildi.
4. Kit içerisindeki toplama kapları ve filtreli tüpler iç içe geçirilerek birleştirildi ve bir sonraki aşama için hazırlandı.
5. Örneklerin bulunduğu eppendorf tüpündeki karışım, hazırlanan toplama kaplarına üstten yavaşça döküldü ve 8000 X G'de 15 saniye santrifüj edildi.
6. Santrifüj sonrası alttaki sıvı biriken toplama kabı atıldı. Üstteki filtre tüpü yeni toplama kapları üzerine yerleştirildi.
7. Üzerine 500 µl İnhibitor Removal Buffer (Guanidinium HCl) eklenip 8000 X G'de 1 dakika santrifüj edildi.
8. Santrifüj sonrası alttaki sıvı biriken toplama kabı atıldı. Üstteki filtre tüpü yeni toplama kapları üzerine yerleştirildi.
9. Üzerine 450 µl Wash Buffer eklendi ve 8000 X G'de 1 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası alttaki sıvı biriken toplama kabı atıldı. Üstteki filtre tüpü yeni toplama kapları üzerine yerleştirildi. Bu basamak bir kez daha tekrarlandı.
10. Sonra 13000 X G'de 10 saniye santrifüj edildi. Santrifüj sonrası alttaki sıvı biriken toplama kabı atıldı. Üstteki filtre tüpü 1,5 ml'lik eppendorf tüplerine yerleştirildi.
11. Üzerine 50 µl Elution Buffer eklendi ve 8000 X G'de 1 dakika santrifüj edildi.
12. Eppendorf tüp içindeki filtre tüpü atıldı ve daha sonra içinde RNA ekstraktı bulunan bu tüpler -80 °C'de saklandı.

3.3.2. Rotavirus VP7 ve VP4 genomunun tespiti için iki aşamalı RT-PCR testi

Rotavirus G genotiplemesi için rotavirusun VP7 bölgesine ait 1062 bp uzunluğundaki genom bölgesini hedef alan Beg9B (5'- GGC TTT AAA AGA GAG AAT TTC CGT CTG G- 3') ve End9B (5'-GGT CAC ATC ATA CAA TTC TAA TCT AAG- 3') konsensus primerleri, P genotiplemesi için ise rotavirusun VP4 bölgesine ait 876 bp

uzunluğundaki genom bölgesini hedef alan Con2 (5'-ATT TCG GAC CAT TTA TAA CC-3') ve Con3 (5'- TGG CTT CGC CAT TTT ATA GAC A-3') konsensus primerleri kullanılarak iki aşamalı RT-PCR testi yapıldı. İki aşamada yapılan RT-PCR testinin birinci aşamasında; RT (Reverse transcription) işlemi ile cDNA'lar elde edildi. İkinci aşamasında ise, bu cDNA'lar kullanılarak PCR işlemi gerçekleştirildi.

Amplifikasyon aşamalarının gerçekleştirilmesi için termal cycler (MJ Mini Gradient Thermal Cycler) kullanıldı.

Rotavirus G genotiplemesi için iki aşamalı RT-PCR testinin yapılışı

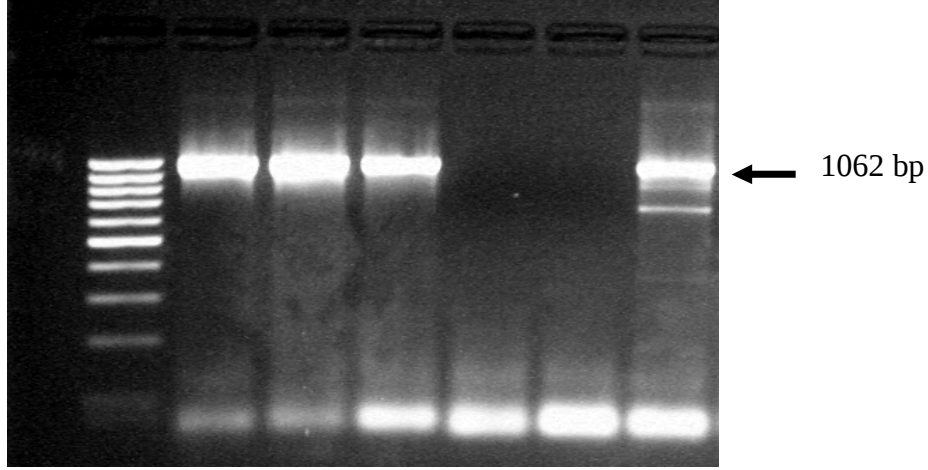
Rotavirus G genotiplemesi için rotavirusun VP7 bölgesine ait 1062 bp uzunluğundaki genom bölgesini hedef alan Beg9B - End9B konsensus primerleri kullanılarak iki aşamalı RT-PCR testi gerçekleştirildi.

Çalışmada iki aşamadan oluşan RT-PCR testinin RT aşamasında cDNA ürünleri eldesi için her bir PCR tüpüne rotavirusun G genotipini belirleyen her bir primerden (Beg9B - End9B konsensus primerleri) 25 pmol, 7 µl deiyonize distile su (ddH₂O) ve 5 µl RNA ekstraktı olmak üzere toplam 13 µl RT karışımı konuldu. Ardından 95°C'de 5 dakika termal cycler'da inkübe edildi ve sonra 5 dakika buz üzerinde bekletildi. Daha sonra bu PCR tüplerinin üzerine 1X RT-Buffer (100mM Tris-HCl [pH 8,8], 500mM KCl), 1mM dNTP, 20 U RNasin ve 10 U RT enzim (Transcriptor reverse transcriptase, Roche) ilave edilerek her bir örnek için toplam 20 µl'lik karışım hazırlandı. Sonra termal cycler'da 55 C^o'de 30 dakika ve ardından 85 C^o'de 5 dakika inkübe edilerek cDNA sentezi gerçekleştirildi.

RT-PCR testinin PCR aşamasında, amplifikasyon ayrı bir PCR tüpünde, 1X PCR Taq Buffer (100mM Tris-HCl [pH 8,8], 500mM KCl), 1,5mM MgCl₂, 200 µM dNTP, her bir primerden 25pmol, 2U *Taq* DNA polymerase (Fermentas), distile su ve elde edilen cDNA ürününden 5 µl olmak üzere toplam 50 µl PCR karışımında gerçekleştirildi. PCR aşamasında yine Beg9B ve End9B primerleri kullanıldı ve termal cycler'da amplifikasyon aşağıdaki şekilde tamamlandı:

1.	94° C'de	3 dk	} 35 siklus
2.	94° C'de	1 dk	
	42° C'de	2 dk	
	72° C'de	1 dk	
3.	72° C'de	10 dk	

G genotiplemesi; birinci amplifikasyon ürünleri 1062 bp uzunlukta bant varlığı yönünden etidyum bromürlü % 2'lik agaroz jel elektroforezi ile incelendi (Şekil 5).

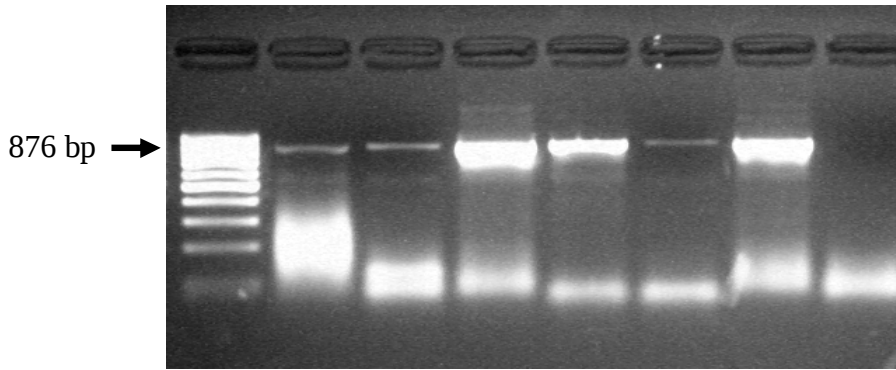


Şekil 5. Rotavirusun VP7 bölgesine ait 1062 bp uzunluğundaki genom bölgesi

Rotavirus P genotiplemesi için iki aşamalı RT-PCR testinin yapılışı

Rotavirus P genotiplemesi için rotavirusun VP4 bölgesine ait 876 bp uzunluğundaki genom bölgesini hedef alan Con2- Con3 konsensus primerleri ile yukarıda anlatılan G genotiplemesi için kullanılan aynı protokol gerçekleştirildi.

P genotiplemesi; birinci amplifikasyon ürünleri 876 bp uzunlukta bant varlığı yönünden etidyum bromürlü % 2'lik agaroz jel elektroforezi ile incelendi (Şekil 6).



Şekil 6. Rotavirusun VP4 bölgesine ait 876 bp uzunluğundaki genom bölgesi

3.4. Rotavirus G genotiplemesi için RT-PCR testi

3.4.1. G genotiplemesi için Multipleks Semi-nested PCR testi

İlk PCR sonucu 1062 bp uzunluğunda elde edilen amplikonlardan G genotiplemesi için multipleks semi-nested PCR testi gerçekleştirildi. Bu testte rotavirusun VP7 bölgesine ait tip spesifik primerler (G1, G2, G3, G4, G8, G9 ve G10) ve RVG9 konsensus primer kullanıldı. Bu test G1 genotipi için 749 bp, G2 genotipi için 652 bp, G3 genotipi için 374 bp, G4 genotipi için 583 bp, G8 genotipi için 885 bp, G9 genotipi için 306 bp ve G10 genotipi için 397 bp uzunluğundaki genom bölgesi varlığı yönünden değerlendirildi. Tip spesifik primerlerin gen dizisi; aşağıda verilmiştir.

G1 (5'- CAA GTA CTC AAA TCA ATG ATG G -3')

G2 (5'- CAA TGA TAT TAA CAC ATT TTC TGT G -3')

G3 (5'- CGT TTG AAG AAG TTG CAA CAG -3')

G4 (5'- CGT TTC TGG TGA GGA GTT G -3')

G8 (5'- GTC ACA CCA TTT GTA AAA TTC G -3')

G9 (5'- CTA GAT GTA ACT ACA ACT AC -3')

G10 (5'- ATG TCA GAC TAC AGA TAC TGG -3')

RVG9 (5'- GGT CAC ATC ATA CAA TTC T -3')

G genotiplemesi için Multipleks Seminested PCR testinin yapılışı

Multipleks semi-nested PCR için amplifikasyon ayrı bir PCR tüpünde, 1X PCR Taq Buffer (100mM Tris-HCl [pH 8,8], 500mM KCl), 2mM MgCl₂, 200µM dNTP, her bir primerden (G1, G2, G3, G4, G8, G9, G10 ve RVG9) 20pmol, 2U *Taq* DNA polymerase (Fermentas), distile su ve ilk elde edilen PCR ürününden 2 µl olmak üzere toplam 50 µl PCR karışımında gerçekleştirildi. Amplifikasyon aşağıdaki gibi tamamlandı:

1.	94° C'de	3dk	} 30 siklus
2.	94° C'de	1 dk	
	42° C'de	2 dk	
	72° C'de	1 dk	
3.	72° C'de	10 dk	

İkinci amplifikasyon ürünleri G1 genotipi için 749 bp, G2 genotipi için 652 bp, G3 genotipi için 374 bp, G4 genotipi için 583 bp, G8 genotipi için 885 bp, G9 genotipi için 306 bp ve G10 genotipi için 397 bp uzunluğunda ampliconların varlığı yönünden etidyum bromürlü % 2'lik agaroz jel elektroforezi ile incelendi.

3.5. Rotavirus P genotiplemesi için RT-PCR testi

3.5.1. P genotiplemesi için Multipleks Semi-nested PCR testi

İlk PCR sonucu 876 bp uzunluğunda elde edilen ampliconlardan P genotiplemesi için multipleks semi-nested PCR testi gerçekleştirildi. Bu testte rotavirusun VP4 bölgesine ait tip spesifik primerler (P4, P6, P8, P9, P10 ve P11) ve Con 3A konsensus primer kullanıldı. Bu test P4 genotipi için 483 bp, P6 genotipi için 267 bp, P8 genotipi için 345 bp, P9 genotipi için 391 bp, P10 genotipi için 583 bp ve P11 genotipi için 312 bp uzunluğundaki genom bölgesi varlığı yönünden değerlendirildi. Tip spesifik primerlerin gen dizisi; aşağıda verilmiştir.

P4 (5'- CTA TTG TTA GAG GTT AGA GTC -3')

P6 (5'- TGT TGA TTA GTT GGA TTC AA -3')

P8 (5'- TCT ACT TGG ATA ACG TGC -3')

P9 (5'- TGA GAC ATG CAA TTG GAC -3')

P10 (5'- ATC ATA GTT AGT AGT CGG -3')

P11 (5'- GTA AAC ATC CAG AAT GTG -3')

Con3A (5'- TGG CTT CGC CAT TTT ATA GAC A-3')

P genotiplemesi için Multipleks Semi-nested PCR testinin yapısı

Rotavirusun VP4 bölgesine ait primerler ile yukarıda anlatılan G genotiplemesi için kullanılan protokol uygulandı. Burada farklı olarak P4, P6, P8, P9, P10 ve P11 tip spesifik primer ve Con3A konsensus primerleri kullanıldı.

İkinci amplifikasyon ürünleri P4 genotipi için 483 bp, P6 genotipi için 267 bp, P8 genotipi için 345 bp, P9 genotipi için 391 bp, P10 genotipi için 583 bp ve P11 genotipi için 312 bp uzunluğunda ampliconların varlığı yönünden etidyum bromürlü % 2'lik agaroz jel elektroforezi ile incelendi.

DNA ekstraksiyonu, RT-PCR ana karışımının hazırlanması (master mix) ve örneklerin ana karışıma eklenmesi izole edilmiş üç ayrı odada yapıldı. RT-PCR aşamasında ana karışımın hazırlanması ve örneklerin ana karışıma eklenmesi buz üzerinde gerçekleştirildi. PCR kontaminasyonunu engellemek için reagenler, küçük hacimlerde tüplere bölündü. Aerosol bariyerli pipet uçların kullanımı, eldivenlerin sık sık değiştirilmesi ve yüzeylerin dekontaminasyonu için UV ışık ve sodyum hipokloritle silinmesi gibi kontaminasyona karşı genel önlemler alındı.

3.6. Agaroz jel elektroforezi ve görüntüleme

Amplifikasyon ürünleri etidyum bromürlü % 2'lik agaroz jel elektroforezi ile araştırıldı. Hem tank tamponu olarak, hem de agaroz jelinin hazırlanmasında TBE tamponu kullanıldı. TBE (Tris Borik EDTA) konsantre (40x TBE) stok solüsyonu olarak hazırlandı ve gerektiğinde 1 x TBE olacak şekilde sulandırıldı.

40x TBE tamponunun hazırlanması

38,2 gr Tris-Base (1,6 M) (Sigma)
21,78 gr Na Asetat x3 H₂O (0,8 M)
3,04 gr EDTA (40 M) (Sigma)

Maddeler distile su ile 200 ml'ye tamamlandı (pH 7,2).

Agaroz jel elektroforezi uygulaması

1. Elektroforez için kullanılan 40x TBE tamponundan 1x TBE solüsyonu elde etmek için distile su ile dilüe edildi.
2. Eridiğinde % 2'lik jel oluşturacak şekilde 2 gram agaroz (Sigma) tartılıp bir balon içerisine konuldu.
3. Üzerine 100ml 1x TBE tamponu ilave edilerek mikrodalga fırında eritildi.
4. Bir süre 60 °C'nin altına düşmeyecek şekilde soğutuldu.
5. Jelin içerisine etidyum bromid 0,5µg/ml konsantrasyonda eklendi.
6. Önceden hazırlanmış ve tarakları uygun olarak yerleştirilmiş kalıp tepsisinin üzerine jel yavaşça döküldü.
7. Oda sıcaklığında 20-30 dakika bekletilerek katılaşması sağlandı.
8. Elektroforez tankındaki (OWL Separation Systems Model B2 Mini Gel Electrophoresis System) taraklar yavaşça çıkarıldı.
9. Örneklerden 10'ar µl alınıp 1,5µl yükleme tamponu (% 20 sükröz, % 0.25 brom

fenol mavisi (1xTBE ile hazırlanmış)) ile karıştırılarak, her kuyuya dağıtıldı. İlk kuyuya 100 bp'lik DNA ladderdan (Fermentas) 6 µl yüklendi.

10. Tankın güç kaynağı (LABNET International Power Station 300) çalıştırılarak 90 V akım verildi.
11. Brom fenol mavisinin migrasyonu takip edilerek 30-45 dakika yürütülen jelin 2/3'lik kısmına ulaştığında elektroforez durduruldu.

Jel tanktan çıkarıldı ve jel görüntüleme sistemi (DNR Bio-Imaging Systems Visible & Ultraviolet Transilluminator, MiniBIS Bio-Imaging System) ile görüntülenerek rotavirus pozitif örneklerin varlığı yönünden incelendi.

3.7. Shigella, Salmonella, E. coli ve Campilobakterlerin kültürde üretilmesi

3.7.1. Shigella, Salmonella, E. coli ve Campilobakterlerin ekimi ve üremelerinin değerlendirilmesi

Dışkı örneklerinin konvansiyonel kültür yöntemi ile değerlendirilmesinde gastroenterit yapan Salmonella, Shigella, Kampilobakter ve EHEC (Enterohemorajik E. Coli) gibi enterik bakteriyel patojenler araştırıldı. Modifiye Carry-Blair besiyerinde taşınan dışkı örneklerinden kanlı agar, Mc Conkey, sorbitollü Mc Conkey, Hekto-en (HE), Xylose Lysine Deoxycolate (XLD)ve Modifiye Charcoal Cefoperazon Deoxycholate Agar (MCCDA) katı besiyerlerine eş zamanlı ekim yapıldı. Eküvyon doğrudan besiyerlerinin üst ¼'üne sürüldü ve sürüntü materyali plastik öze kullanılarak plakların geri kalan kısmına azaltma yöntemi ile yayıldı ve plağa tek koloni düşürülmesi amaçlandı. Ayrıca Salmonella ve Shigella izolasyonu için zenginleştirici besiyeri olan Selenit-F buyyona inoküle edilen örnekler 37°C'de 8 saat inkübe edildikten sonra, besiyerlerinden bir öze dolusu alınarak XLD veya HE besiyerine pasajlandı. MCCDA besiyeri dışındaki ekim ve pasaj yapılan tüm besiyerleri 35- 37°C'de aerobik etüvlerde 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda yapılan değerlendirmede Mc Conkey, HE veya XLD besiyerlerinde üreyen 2-3 mm çapında renksiz koloniler şüpheli kabul edilip oksidaz aktivitesi yönünden test edildi. Oksidaz aktivitesi göstermeyen, laktozu fermente etmemiş Salmonella ve Shigella yönünden şüpheli kolonilerden saf koloni eldesi için pasaj yapıldı. EHEC tespiti için sorbitollü Mc Conkey besiyerinde renksiz kolonilerin varlığı araştırıldı.

Kampilobakter üretilmesi için ise MCCDA besiyerine yapılan ekimler 42°C % 10 CO₂ içeren kavanozlarda 48-72 saat inkübe edildi. Ekim yapılan plaklarının tamamı, inkübasyon süresi sonunda kampilobakter üremesi yönünden değerlendirildi. Üremenin olmadığı plaklar içlerindeki kitler yenilenerek tekrar kapatıldı ve her gün üreme yönünden kontrol edilerek 5 gün süre ile inkübasyona devam edildi. Bu sürenin sonunda üreme görülmeyen plaklar atıldı. İnkübasyon süresi sonunda besiyeri yüzeyinde üreyen ve 0,3-0,5 mm çaplı gri, şeffaf, hemoliz yapmayan, su damlası gibi nemli koloniler ise şüpheli kabul edilerek oksidaz aktiviteleri yönünden test edildi. Oksidaz aktivitesi gösteren koloniler, Gram boyası ile boyanarak mikroskopik morfolojileri yönünden ışık mikroskopunda X 100 büyütmede değerlendirildi. Kampilobakter türleri için spiral şeklinde, kıvrık veya virgül şeklinde, Gram negatif basil görünümü tipiktir. Kampilobakter kolonilerini MCCDA besiyerlerinde saf olarak elde etmek üzere pasajlan yapıldı ve ilk üretme şartlarında tekrar inkübasyona bırakıldı.

3.7.2. Shigella, Salmonella, E. coli ve Campilobakterin İdentifikasyonu

Salmonella ve Shigella yönünden şüpheli kolonilerden elde edilen saf koloni ileri identifikasyonu için, biyokimyasal reaksiyonları incelemek amacıyla Three Sugar Iron (TSI), Braun A ve B besiyerlerinde glikoz, laktoz ve mannitole etkileri ile gaz, H₂S ve indol oluşumu yönünden değerlendirildi. Ayrıca sitratı karbon kaynağı olarak kullanma özelliğini değerlendirilmesi için Simon's Sitrat agar besiyerine, üreaz aktivitelerinin değerlendirmesi için Christensen'in %2'lik sıvı üre besiyerine ve hareket özelliklerinin değerlendirilmesi için Motilite İndol Lizin Medium (MIL) hareket besiyerine ekim yapıldı ve 35- 37°C'de 18-24 saat inkübe edildi. Salmonella ve Shigella olduğu düşünülen koloniler sırasıyla Salmonella ve Shigella poli O antiserumları ile araştırılarak subtip tespiti yapıldı ve değerlendirildi.

İkinci pasajda üretilen, makroskopik ve mikroskopik morfolojik özellikleri kampilobakterlerle uyumlu koloniler; fenotipik identifikasyon amacı ile oksidaz ve katalaz aktiviteleri, hippuratu hidrolize etme yetenekleri, TSI agarda H₂S oluşturma özellikleri, Sefalotin, Nalidiksik asit ve Tuz tolerans yeteneklerine göre değerlendirilerek ileri identifiye edildi.

3.7.3. İdentifikasyonda kullanılan testler

Oksidaz testi

Oksidaz ayıracının hazırlanışı:

0,1 gr	Tetramethyl-1,4-phenylenediamine
10 ml	distile su

Tetramethyl-p-phenylenediamine distile suya ilavesi ile günlük olarak hazırlanan ayıraç, ışık geçirmeyen kapaklı cam şişelere koyuldu ve kullanılıncaya kadar +4°C' saklandı.

Önceden bantlar halinde kesilip, steril edilmiş filtre kağıtları temiz lamın üzerine konuldu. Filtre kağıdının üzerine 2-3 damla oksidaz ayıracı damlatıldı. Besiyerinden plastik öze yardımı ile alınan şüpheli koloni, filtre kağıdı üzerindeki ayıracın damlatıldığı bölgeye sürüldü. Filtre kağıdındaki sürüntü bölgesinde 5-15 saniye içinde mor renk oluşumunun gözlenmesi halinde oksidaz testi pozitif olarak kabul edildi.

Katalaz Testi

Kullanımdan önce taze olarak hazırlanan % 3'lük hidrojen peroksitten (H_2O_2) bir lam üzerine 1-2 damla konuldu. Şüpheli koloni öze yardımı ile alınarak hidrojen peroksit'e karıştırıldı. Gaz kabarcıklarının oluşumunun gözlenmesi halinde test pozitif kabul edildi.

Hippurat Hidroliz testi

Test için gerekli olan sodyum Hippurat solüsyonu ve Ninhidrin ayıracı önceden hazırlandı ve önerilen ısıda saklandı.

Sodyum Hippurat Solüsyonunun Hazırlanışı

Toz halindeki 1 gr Sodyum Hippurat'ın 100ml distile suda eritilmesi ile hazırlanan solüsyon, 0,4 ml lik tüplere dağıtıldı ve kullanılıncaya kadar -20 °C'de saklandı.

Ninhidrin Ayıracının Hazırlanışı

50 ml Aseton ve 50ml Butanol içeren karışıma 3,5 gram Ninhidrin ayıracı eklendi ve kullanılıncaya kadar karanlıkta, oda ısısında saklandı.

Hippurat Hidroliz Testi'nin Uygulaması:

Kampilobakter kolonilerinden birkaç tane alınarak Sodyum hippurat solüsyonunda yoğun bulanıklık oluşturuldu ve 37°C' de 2 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda solüsyona 0,2 ml ninhidrin ayıracı damlatıldı ve 37°C' de 10 dakika daha inkübe edildi. Test sonucu solüsyonun renginin koyu mor renge dönüşmesi halinde pozitif, açık mor veya renksiz kalması halinde ise negatif olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Bölgemizde çocuk yaş grubunda görülen akut gastroenteritlerde viral ve bakteriyel etkenlerin klasik ve moleküler yöntemlerle araştırılması amacıyla Adana Doğum ve Çocuk Bakımevi Hastanesi polikliniklerine ve acil servisine Temmuz 2009 ile Ekim 2009 tarihleri arasında ishal yakınması ile başvuran akut gastroenteritli çocuklara ait 136 dışkı örneği değerlendirildi.

Bu çalışmada dışkı örneklerinden bakteriyel enteropatojenlerin izolasyonu için klasik kültür yöntemi kullanıldı. *Shigella* spp, *Salmonella* spp ve *Campylobacter* spp kültürde kullanılan besiyerlerinde üretilmiş olup fenotipik yöntemlerle tanı konuldu. Klasik kültür yöntemi ile hiç birinde EHEC bulunamadı.

Çalışmaya dahil edilen toplam 136 hastanın 54'ü (% 39,8) kız 82'si (% 60,3) erkek çocuklardan oluşmakta idi. Hastaların 31'i (% 22,8) 0-5 ay, 38'i (% 28) 6-12 ay, 22'si (% 16,2) 13-24 ay, 16'sı (% 11,7) 25-36 ay, 5'i (% 3,7) 37-48 ay, 8'i (% 5,9) 49-60 ay ve 16'sı (% 11,7) 61-144 ay yaş grubunda yer almaktaydı. Vakaların %67'sinin (91hasta) 0-24 ay grubunda yer aldığı tespit edildi. (Tablo 4).

Tablo 4. Akut gastroenteriti olan 136 çocuk hastanın yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş grupları	Sayı (n)	%
0-5ay	31	22,8
6-12ay	38	28
13-24ay	22	16,2
25-36ay	16	11,7
37-48ay	5	3,7
49-60ay	8	5,9
61-144ay	16	11,7

Klasik ve moleküler tanı yöntemleri kullanılarak, hastaların % 28,7'sinde (39 vaka) akut gastroenterit etkeni olarak en az bir patojen belirlenirken, %71,3'ünde (97 vaka) viral veya bakteriyel herhangi bir enteropatojen identifiye edilemedi. Akut gastroenterit etkeni belirlenen 39 vakada bakteriyel ve viral mikroorganizmalar gruplar halinde incelendiğinde, ishal etkeni olarak viral enteropatojenler 28 vakada görülürken (% 20,6), bakteriyel enteropatojenler 11 vakada (% 8,1) tespit edildi (Tablo 5).

Tablo 5. Akut gastroenterit etkeni mikroorganizma gruplarının ishali olan 136 hastada görülme oranları

Etken	Sayı (n)	%
Bakteri	11	8,1
Virus	28	20,6
Toplam	39	28,7

Akut gastroenterit etkeni belirlenen toplam 39 vakanın % 11'inde (15 vaka) norovirus, % 7,35'inde (10 vaka) rotavirus, % 6,6'sında (9 vaka) *Shigella* spp, % 2,2'sinde (3 vaka) adenovirus, % 0,7'sinde (1 vaka) *Salmonella* spp ve % 0,7'sinde (1 vaka) *Campylobacter* spp tespit edildi. Miks infeksiyon 2 vakada (% 1,5) saptandı. *Campylobacter* ve norovirus birlikte 1 vakada (% 0,7) görülürken, adenovirus ve norovirus birlikte bir diğer vakada (% 0,7) tespit edildi. Akut gastroenterit etkeni belirlenen 39 vakada enteropatojenlerin görülme oranları değerlendirildiğinde, tanılar arasında sıklık açısından ilk 3 sırada norovirus (% 11), rotavirus (% 7,35) ve *Shigella* spp (% 6,6) yer aldı (Tablo 6).

Tablo 6. Akut gastroenteritli vakalarda enteropatojenlerin görülme oranları

Etken	Sayı (n)	%
Norovirus	15	11
Rotavirus	10	7,35
<i>Shigella</i> spp	9	6,6
Adenovirus	3	2,2
<i>Salmonella</i> spp	1	0,7
<i>Campylobacter</i> spp	1	0,7
Miks infeksiyon	2	1,5

Bu çalışmada dışkı örneklerinde *Salmonella*, *Shigella*, patojen *E. coli*'ler ve *Campylobacter*leri araştırma amacıyla yapılan dışkı kültürleri sonucunda toplam 136 hastadan 11'inde (% 8,1) bakteriyel bir enteropatojen tespit edilirken, geriye kalan 125 hastada (%91,9) ise normal flora üremesi belirlendi. Konvansiyonel kültür yöntemleri ile tespit edilen toplam 11 patojenin yapılan ileri identifikasyonunda, bunların 9'unda (% 6,6) *Shigella sonnei* (grup D), 1'inde (% 0,7) *Salmonella newport* (grup C2) ve 1'inde (% 0,7) *Campylobacter jejuni* tespit edildi. Hiç birinde EHEC bulunamadı. *Campylobacter jejuni* tespit edilen örnekte aynı zamanda norovirus antijeni varlığı da belirlendi (Tablo 7).

Tablo 7. Bakteriyel enteropatojenlerin kültür sonuçları

Bakteri	Sayı (n)	%
<i>Shigella sonnei</i>	9	6,6
<i>Salmonella newport</i>	1	0,7
<i>Campylobacter jejuni</i>	1	0,7
EHEC	-	-
Toplam	11	8.1

Shigella sonnei bulunan 9 hastanın 3'ü erkek (%33,3), 6'sı (%66,7) kız, Salmonella newport bulunan 1 hasta kız ve Campylobacter jejuni tespit edilen 1 hasta da kız çocuklarından oluşmakta idi. Shigella diarezi olan hastaların yaş grupları 6 ay ile 6yaş arası gruplarda değişmekte idi. Salmonella newport bulunan hasta 11 aylık olup, Campylobacter jejuni tespit edilen vaka ise 4 yaşındaydı (Tablo 8).

Tablo8. Bakteriyel enteropatojenlerin kültür sonuçlarının cinsiyete göre dağılımı

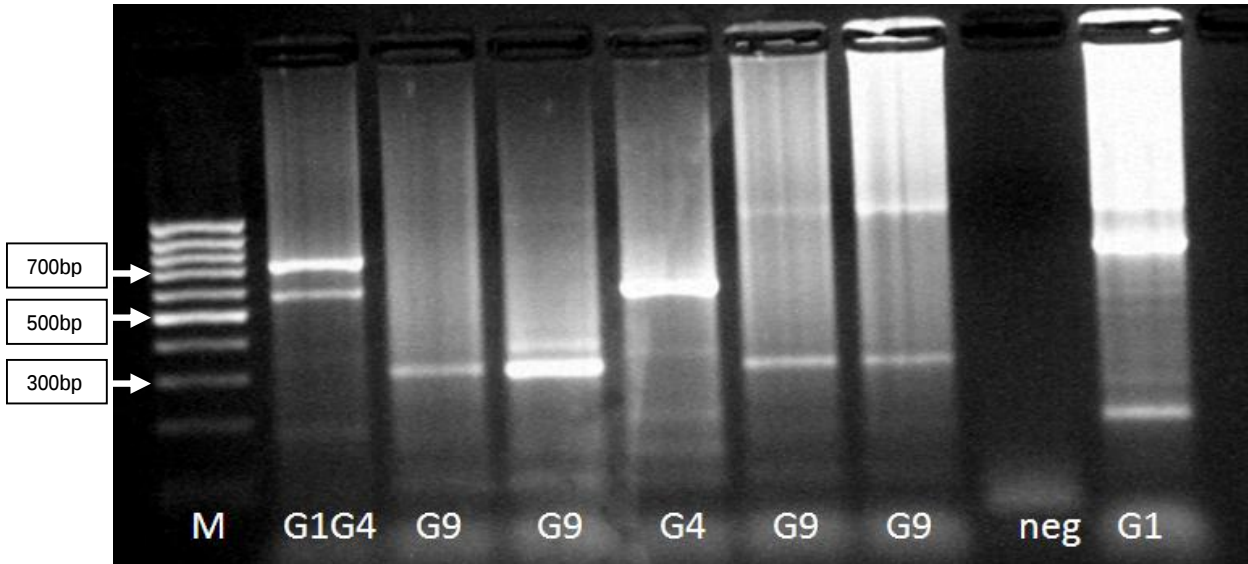
Bakteriyel Etkenler	Erkek		Kadın		Toplam
	n	%	n	%	n
Shigella sonnei	3	33,3	6	66,7	9
Salmonella newport	-	-	1	100	1
Camp. jejuni	-	-	1	100	1
EHEC	-	-	-	-	-
Miks bakteriyel inf.	-	-	-	-	-
TOPLAM	3	27,2	8	72,8	11

Dışkı örneklerinde viral enteropatojenlerden Rotavirus, Norovirus, Astrovirus ve Adenovirus spesifik antijenleri araştırma amacıyla yapılan ELISA testleri sonucunda toplam 136 hastanın toplamda 28'inde (%20,6) viral bir enteropatojen tespit edilirken, geriye kalan 108 vakada (%79,4) ELISA testleri sonucu negatif bulundu. Bunların 15'inde (%11) norovirus antijeni, 10'unda (%7,35) rotavirus grup A antijeni ve 3'ünde (%2,2) adenovirus antijeni pozitif bulundu ve hiçbirinde astrovirus tespit edilemedi. Ayrıca 1 vakada adenovirus ve norovirus (%0,7) birlikte miks viral enfeksiyon olarak görüldü. Norovirus antijeni pozitif 15 hastanın 8'i erkek (%53,3), 7'si (%46,7) kız, rotavirus antijeni pozitif 10 hastanın 6'sı erkek (%60), 4'ü (%40) kız ve adenovirus antijeni pozitif 3 hastanın ise 2'si erkek (%66,6), 1'i (%33,4) kız çocuklarından oluşmakta idi. Norovirus diarezi olan hastaların yaş grupları 3 ay 4yaş arası gruplarda, rotavirus diarezi olan hastaların yaş grupları 8 günlükten 3 yaşa kadar değişmekte idi. Adenovirus diarezi olan çocukların yaşları ise 5 ay, 30 ay ve 7 yaş idi (Tablo 9).

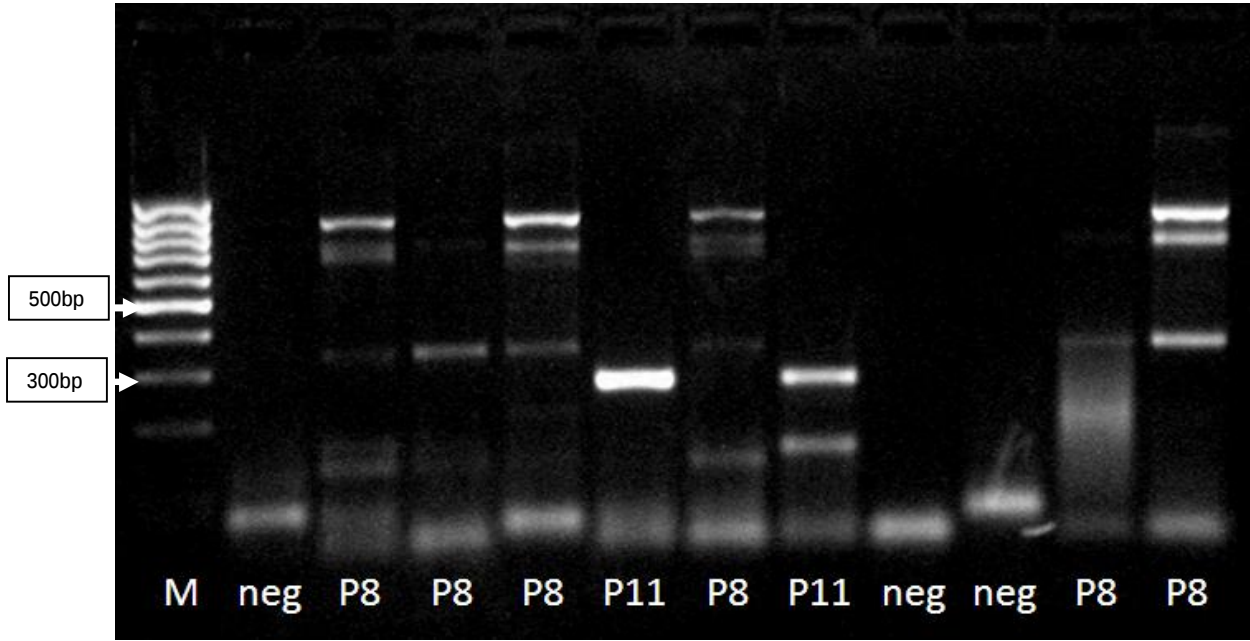
Tablo 9. Viral antijen tespit edilen akut gastroenteritli vakaların cinsiyete göre dağılımı (n=28)

Viral Etkenler	Erkek		Kadın		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
Norovirus	8	53.3	7	46.7	15	11
Rotavirus	6	60	4	40	10	7.35
Adenovirus	2	66.6	1	33.4	3	2.2
Astrovirus	0	0	0	0	0	0
Miks viral inf.	1	100	0	0	1	0.7
TOPLAM	16		12		28	20,6

Ayrıca rotavirus grup A antijeni araştırılan ELISA testi sonucu pozitif çıkan 10 dışkı örneğinden önce RT-PCR testi ile VP4 ve VP7 rotavirus genomları ve ardından semi-nested multipleks PCR testi ile G ve P genotipleri tespit edildi. (Şekil 7 ve 8)



Şekil 7. Rotavirusun G genotipleme (G1:749bp, G4:583bp ve G9:306bp)



Şekil 8. Rotavirusun P genotiplenmesi (P8: 345 bp, P11: 312 bp)

Akut gastroenteriti olan çocuklardan toplanan 136 dışkı örneğinden rotavirus antijeni pozitif 10 örneğin hepsi de hem VP7 (G genotip) hem de VP4 (P genotip) varlığı yönünden pozitif bulundu. Çalışılan 10 örnekten 6'sı(%60) G ve P için genotiplendirilirken geriye kalan 4(%40) örneğin G (VP7) veya P (VP4) genotipi belirlenemedi.

Rotavirusun VP7 bölgesine ait G genotiplerinden G9 %60 oranla tek başına 6 örnekte ve G4 %10 oranla tek başına 1 örnekte tespit edildi. G genotiplerinden G1+G4 %10 oranla tek başına 1 örnekte bulundu. Geriye kalan 2 örnekte (%20) G genotipi belirlenemedi.

Rotavirusun VP4 bölgesine ait P genotiplerinden P[8] %50 oranla tek başına 5 örnekte ve P[11] %30 oranla tek başına 3 örnekte bulundu. Geriye kalan 2 örnekte (%20) P genotipi belirlenemedi

Toplam 10 vakada hem tek G/P genotip infeksiyonunun hem de miks infeksiyonun dahil olduğu 6 vakada G9 %60 oranla en yüksek bulunan G genotipidir ve 5 vakada P[8] %50 oranla en yüksek bulunan P genotipidir. (Tablo 10).

Tablo 10. Grup A rotavirus antijeni pozitif 10 vakada G/P genotiplerinin dağılımı

G tip /P tip (%)	P[8]	P[11]	P tiplendirilemeyen	Toplam
G4	1 (10)	-	-	1 (10)
G9	3 (30)	2 (20)	1 (10)	6 (60)
G1+G4	-	-	1 (10)	1 (10)
G tiplendirilemeyen	1 (10)	1 (10)	-	2 (20)
Toplam	5 (50)	3 (30)	2 (20)	10

Rotavirus pozitif 10 örneğin 6'sında (%60) her iki G ve P tipleri belirlendi ve sonuçta 3 farklı rotavirus G/P kombinasyonu elde edildi. Çalışma serimizde rotavirus infeksiyonları arasında tek bir G/P genotip infeksiyonu %90 oranla 9 vakada ve miks infeksiyon ise %10 oranla 1 vakada tespit edildi. Rotavirus tek G/P genotip infeksiyonları arasında G9P[8] en yüksek prevalansta %30 oranla 3 vakada bulundu ve bunu %20 oranla 2 vakada G9P[11], %10 oranla 1 vakada G4P[8] kombinasyonları izledi. Miks infeksiyon formunda G1+G4/P tiplendirilemeyen 1 vakada %10 oranında tespit edildi. (Tablo 11).

Tablo 11. Rotavirus infeksiyonu olan 10 vakada G /P genotipleri sıklığı

G/P genotipleri	Sayı (n)	%
G9 P[8]	3	30
G9 P[11]	2	20
G4 P[8]	1	10
G1G4 P	1	10
G9P	1	10
G P[11]	1	10
G P[8]	1	10
Toplam	10	100

TARTIŞMA

Çocukluk çağında görülen akut infeksiyöz ishaller, tüm dünyada halen güncelliğini koruyan önemli sağlık problemlerinden biridir²⁰. İshalli hastalıklar dünyanın her yanında yaygın olmakla birlikte, az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde özellikle 5 yaşından küçük çocuklar için önemli morbidite ve mortalite nedenleri arasında ikinci sırada yer almaktadır.

Gelişmekte olan ülkelerde beş yaş ve altı çocuklarda her yıl 1 milyardan fazla ishal vakası olduğu tahmin edilmekte ve yaklaşık 2-2,5 milyon çocuk ishal sebebi ile ölmektedir²²¹.

ABD’de iki yaşından küçük çocukların doktora başvuruların % 20’sinin, üç yaşından küçük çocuklarda ise % 10’unun sebebi akut ishaldir²⁵. Türkiye Nüfus Sağlık Araştırması (TNSA) 2003 raporuna göre, ülkemizde 5 yaşından küçük 10 çocuktan 3’ünün son iki hafta içinde ishal olduğu bildirilmiştir²²². Türkiye Sağlık Bakanlığı 2004 verilerine göre bu konuda yapılan çalışmalarda, bölgelere göre değişmekle birlikte ülkemizde ishal prevalansı kırsal yaşamda % 36, kentsel yaşamda % 26 olarak bildirilmektedir. Ankara Gölbaşı ilçe Merkezinde Ağustos 1999’da yapılan araştırmada incelenen çocuklarda akut ishal prevalansı % 14,7 olarak saptanmıştır. Ekim 1987’de Adana’da yapılan bir araştırmada prevalans % 10,1, Haziran-Temmuz 1995’de Gaziantep’te yapılan çalışmada % 22,9 ve Konya ili Çimenlik Bölgesinde yapılan bir başka araştırmada ise % 12,8 olarak bulunmuştur^{223,224,225}. Çalışmamızda klasik ve moleküler tanı yöntemlerini birlikte kullanılarak ishalleri hastaların % 28,7’sinde (39 hasta) akut gastroenterit etkeni olarak en az bir enteropatojen tespit edildi.

İshal çocukluk çağında en yaygın beş yaş altı çocuklarda ve 0-24 ay arasında en yüksek prevalansta görülmektedir. TNSA 1998 verilerinde de iki yaşın altındaki, özellikle 6-24 aylık çocukların, büyük çocuklara göre ishal olma olasılığının daha yüksek olduğu bildirilmiştir²²⁶. Ülkemizde yapılan çalışmalarda Kurugöl ve arkadaşları ishalleri çocukların % 80’inin, Karadağ ve arkadaşları % 43,7’sinin ve Gül ve arkadaşları % 71’inin 2 yaşından küçük olduğunu bildirmişlerdir^{227,228}. Bu çalışmada da

akut ishalli vakaların % 70'nin (91 hasta) 0-24 ay arası süt çocukları olduğu tespit edildi.

Çocukluk yaşlarında ortaya çıkan akut ishal ile seyreden hastalıkların en önemli sebebi gastrointestinal infeksiyonlardır. Gastroenterit etkenlerinin tespit edilmesi hastalığın tedavisi ve prognozunu belirlemede önemlidir. Son yıllarda moleküler tanı yöntemlerinin geliştirilmesiyle % 60-70'lere varan oranda etken saptanabilmektedir⁵.

Bakteriyel, viral veya paraziter ajanlar tüm dünyada halen sık görülen gastroenterit etkenleri olarak karşımıza çıkmaktadır. Diarelere yol açan infeksiyöz etkenlerin sıklığı yaş grupları, coğrafi bölgeler, sosyoekonomik faktörler ve mevsimlere göre değişmektedir. Dünyada özellikle gelişmiş ülkelerde en sık görülen etkenlerin viruslar (% 50-70) olduğu bildirilmektedir³¹. Bakteriler ise akut gastroenterit vakalarının yaklaşık % 10-20'sinden sorumludur⁷.

Günümüzde, dünya genelinde beş yaşından küçük çocuklarda akut gastroenterit etkenleri arasında viruslar ilk sırayı almakta ve rotavirus, akut viral gastroenteritlerin en sık etkeni olarak izole edilmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde ishal etkeni olarak bakteriyel ajanlar daha ön plana çıkmakta ve bunlar arasında diarojenik *E. coli* türleri, *Shigella* türleri, *Salmonella* türleri ve *Campylobacter* türleri sık görülür²²¹. Yaz aylarında bakteriyel infeksiyon kaynaklı ishaller pik yapmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde ve gelişmiş ülkelerde beş yaşından küçük çocuklarda akut ishallerde en sık tespit edilen bakteriyel enteropatojen diarojenik *E. coli* türleri'dir (% 30-40) ve genellikle gelişmekte olan ülkelerin çoğunda endemik olarak bulunur⁵. Benzer şekilde protozoonlara bağlı ishallerin prevalansı gelişmekte olan ülkelerde gelişmiş ülkelere göre 2-10 kat daha fazladır. Hijyen koşullarının iyi olduğu gelişmiş ülkelerde bakteriyel gastroenterit etkenleri daha az görüldüğünden, viral gastroenteritlere daha sık rastlanmaktadır. Gelişmiş ülkelerde rotavirus (% 25-70), norovirus, astrovirus ve enterik adenovirus (% 20-30) en sık rastlanılan ishal etkenleridir. Rotavirus özellikle kış ayları boyunca görülmektedir, oysa tropikal bölgelerde rotavirus diarezi bütün yıl boyunca gözlenmektedir. Miks infeksiyonlar ishallerde % 20-30 oranda görülmektedir²²¹.

Akut gastroenterit etyolojisi ile ilgili araştırmalardan Fred G. ve arkadaşlarının Kolombiya'da, akut ishal yakınması olan 5 yaş altı 129 çocukta ishal etkenlerini

belirlemeye yönelik yaptıkları bir çalışmada, rotavirus % 48,1, *E. coli* % 13,9 ve campylobacter % 2,3 oranında bildirilmiştir²²⁹.

Danimarka'da Mart 2000 Aralık 2001 tarihleri arasında, benzer yaş grubundaki çocuklarda yapılan ve 2 yıllık periyodu kapsayan prospektif vaka kontrol çalışmasında 424 ishalleri hastaya ait dışkı örneği ile 726 sağlıklı asemptomatik kişiden alınan dışkı örnekleri incelenmiştir. İshalleri hastaların % 54'ünde, kontrol grubunun % 22'sinde dışkı örneklerinden etken patojen tespit ettiklerini, hasta grubunun % 26'sında virus, % 17'sinde bakteri ve % 4'ünde parazitlerin ishal nedeni olduğunu bildirilmişlerdir. Sıklık sırasına göre rotavirus % 13,2, *E. coli* % 4,9, *Salmonella* spp % 4,6, norovirus % 3,9, adenovirus % 3,6, campylobacter % 2,9 ve sapovirus % 2 tespit edilmiştir²³⁰.

Abdel Moati ve arkadaşları Filistin'de, 2006-2007 yılları arasında akut ishalleri 465 çocukta ishal etkenlerini belirlemede klasik kültür yöntemi ile identifikasyon yaptıkları bir çalışmada; EHEC % 8,3, Shigella % 6,7, *Campylobacter jejuni* % 5, Aeromonas % 4,7 ve Salmonella % 4 sıklıkta tespit edilmiştir²³¹.

Ülkemizde Yıldırım ve arkadaşları Nisan 1989- Mart 1990 tarihleri arasında Sağlık Bakanlığı Ankara Hastanesine başvuran ishalleri 106 süt çocuğunda akut gastroenterit etyolojisi araştırmışlar ve % 45'inde enteropatojen tespit etmişlerdir. Sıklık sırasına göre rotavirus % 29, bakteriyel patojenler % 12 ve parazitler %4 oranında saptanmıştır²³².

Ülkemizde yapılan çalışmalarda akut gastroenteritli çocuklarda rotavirus tespit oranları % 20-57 arasındadır⁸. Yine ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda en sık saptanan bakteriyel ajanlar patojen *E. coli*, Shigella, Salmonella, Campylobacter, Aeromonas ve *Vibrio cholerae*'dir. Türkiye'nin farklı bölgelerinde 1981-2005 yılları arasında yapılan çalışmaların sonuçlarına göre, bakterilerinin dışkıdan izolasyon oranları; Salmonella % 2-11, Shigella % 2-9, Campylobacter % 1-13'dür. Ülkemizde 1985- 2001 arasında çeşitli merkezlerden bildirilen sonuçlara göre EPEC çocukluk yaş grubunda ishalleri hastaların % 3-52'sinde, ETEC % 0,2-10'unda saptanmıştır. Ayrıca az sayıda çalışma yapılmış olmakla birlikte EIEC'nin dışkı kültürlerinden izolasyon oranı % 3-18 olarak bildirilmiştir²²². Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda *E. coli* O157:H7 insidansı % 1'den az olarak görülmektedir²³³.

Biz klasik kültür yöntemleri, ELISA ve RT-PCR yöntemlerini gibi moleküler yöntemleri kullanarak yaptığımız çalışmamızda, değerlendirdiğimiz ishalleri çocuklara ait

dışkı örneklerinden % 28,7'sinde (39 vaka) en az bir enteropatojen tespit ettik ve bunların % 20,6'sının (28 vaka) viral enteropatojenler, % 8,1'inin (11 vaka) bakteriyel enteropatojenler olduğu belirledik. Akut gastroenterit etkeni belirlenen 39 vakada enteropatojenlerin görülme oranları değerlendirildiğinde en sık bulunan etken norovirus (% 11) olarak tespit edildi. Bunu rotavirus (% 7,3) ve Shigella (% 6,6) takip etmekte idi. Ayrıca % 2,2 oranında adenovirus, % 0,7 oranında Salmonella ve % 0,7 oranında Campylobacter saptandı. Miks infeksiyon 2 vakada (% 1,5) tespit edildi. Campylobacter ve norovirus birlikteliği bir vakada (% 0,7) görülürken, diğer vakada adenovirus ve norovirus birlikteliği (%0,7) vardı.

Bu çalışmada, literatürle uyumlu olarak ishal etkenleri açısından viral patojenleri % 20,6 oranla bakteriyel etkenlere (% 8,1) göre daha yüksek oranda saptandı. Ancak literatürden farklı olarak viral etkenler içinde en sık norovirus tespit edildi. Bu durumun çalışmanın rotavirus infeksiyonunun az görüldüğü yaz döneminde yapılmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz ve norovirus mevsimsel dalgalanma göstermemesi sebebiyle daha sık tespit edildi. Türkiye'de rotavirus gastroenteritleri, ılıman iklim kuşağındaki diğer ülkelerde olduğu gibi kış aylarında pik yapar. Ülkemizde yapılan çalışmalarda Karadağ ve arkadaşları rotavirus pozitifliğini Kasım- Nisan döneminde, Kurugöl ve arkadaşları Ocak-Mart döneminde pik yaptığını tespit etmişlerdir⁹⁵. Kurugöl ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada, kış aylarında rotavirusun akut gastroenterit vakalarında % 60-65, yaz aylarında ise % 20'den az oranlarda saptandığını bildirmişlerdir²²⁷.

İshal nedenleri arasında tüm dünyada viral etyoloji açısından rotavirus infeksiyonu daha sık görülmektedir. İlıman iklimlerde, rotavirus gastroenterit vakaları sıklıkla kış aylarında görülürken, tropik iklimlerde tüm yıl boyunca görülebilmektedir. Rotavirus infeksiyonları gelişmiş ülkelerde her yılın soğuk aylarında pik yapacak şekilde mevsimsel patern göstermektedir⁸⁵. Rotavirus diarezinin mevsimsel karakterizasyonu iyi bilinmekte olup ABD'de bu infeksiyon tipik olarak sonbaharın başlarında başlar ve bahar aylarının başına kadar devam eder. Avrupa'da ise kış ayları boyunca görülür.

Gelişmekte olan ülkelerde Shigella infeksiyonlarında en sık etken *S. flexneri*, gelişmiş ülkelerde ise *S. sonnei*'dir. Ülkemizde 20-25 yıl öncesinden 1990'lı yılların ikinci yarısına kadar olan dönemde genel olarak ishalleri hastalarda izole edilen *Shigella*

suşlarının sıklıkla *S. flexneri* olduğu, daha sonraki yıllarda ise yerini *S. sonnei*'ye bıraktığı görülmektedir. ABD'nde en sık bildirilen insan serotipi *S. enteritidis*'dir. Ülkemizde 1980'li yıllarda izole edilen *Salmonella* suşlarının % 70-90'ı *S. typhimurium* iken, 1990'lı yılların başında *S. enteritidis* önceki yıllara göre daha sık görülmeye başlamış ve birçok bölgede 1990'lı yılların ikinci yarısından itibaren *S. typhimurium*'a göre daha sık izole edilir olmuştur²³⁴. Genel olarak insanda *Campylobacter*lerin sebep olduğu gastroenteritlerin yaklaşık olarak % 80-90'ında en sık izole edilen tür *C. jejuni*'dir, bunu *C. coli* takip eder. Ülkemizde 1981-2005 yılları arasında yapılan çalışmaların neredeyse tamamına yakınında *C. jejuni*'nin en sık izole edilen tür olduğu, *C. coli*'nin bunu izlediği görülmektedir²²².

Çalışma serimizde konvansiyonel kültür yöntemleri ile tespit edilen toplam 11 bakteriyel patojenin yapılan ileri identifikasyonunda, bunların 9'unda (% 6,6) *Shigella sonnei* (grup D), 1'inde (% 0,7) *Salmonella newport* (grup C2) ve 1'inde (% 0,7) *Campylobacter jejuni* tespit edildi. Hiç birinde EHEC bulunamadı.

Viral gastroenteritler başta gelişmiş ülkeler olmak üzere tüm dünyada her yıl ortaya çıkan endemik hastalıklardır. Çocuklarda viral gastroenteritin klinik spektrumu asemptomatik infeksiyondan ölüme sebep olan dehidratasyonla seyreden ciddi diareye kadar değişir. Hastaneye başvuru oranları her yıl kış aylarında en yüksektir ve hastanelere yapılan tüm başvuruların % 15-22'sini oluşturmaktadır. Hastalığın en fazla görülme devreleri sıklıkla anne sütünden kesilme, transplasental antikorların azaldığı ve koruyucu bağışıklığın gelişmesinden önceki 3-24 aylık dönemdir. Gelişmiş ülkelerde mortalite oranlarının düşük olması optimal tedavinin zamanında yapılmasına bağlıdır. Dünyada viral gastroenteritlerin en sık görülen etkeni rotavirustur, norovirus ikinci en sık etkenidir, astrovirus ve enterik adenovirus diğer sık görülen etkenlerdir.

Simpson R. ve arkadaşlarının İngiltere'de akut gastroenterit sebebiyle hastaneye başvuran 5 yaşından küçük 305 çocukta 1999-2002 yıllarında yaptığı çalışmada, rotavirus % 27,9, norovirus % 13,4, adenovirus % 7,9, astrovirus % 2,3 ve miks infeksiyon % 8,9 sıklıkta bildirilmiştir²³⁵.

Levidiotou S. ve arkadaşlarının Yunanistan'da akut ishallerli 4604 çocuğun ELISA ve moleküler yöntemler ile 2000-2006 yılları arasında değerlendirilmesinde; rotavirus % 21,35, norovirus % 4, adenovirus % 3,5, astrovirus % 2,35 ve miks infeksiyon % 4,4 sıklıkta tespit edilmiştir²³⁶.

Tran A ve arkadaşlarının, Fransa’da Ocak – Aralık 2007 tarihleri arasında akut gastroenteritli 937 çocuğun dışkı örneği ELISA testi ile incelenmesi sonucunda rotavirus, norovirus, adenovirus ve astrovirus insidansı sırasıyla % 21, % 13, % 5 ve % 1,8 olarak bildirilmiştir²³⁷.

Jakab F. ve arkadaşlarının, Macaristan’da akut gastroenteritli 311 çocuğun 2003-2005 yılları arasında değerlendirilmesinde viral patojenlerin sıklığı % 41,7 bulunmuş ve rotavirus % 34,3, adenovirus % 4,7 ve astrovirus % 2,7 tespit edilmiştir²³⁸.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda akut gastroenteritli çocuklarda rotavirus tespit oranları % 15-48,9, adenovirus tespit oranları % 4,6-23,1 arasındadır^{8,239}. Ülkemizde ishallerde norovirus sıklığı konusunda yapılmış fazla çalışma yoktur. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi’nde yapılan iki uzmanlık tezinde konu ele alınmış ve ilk çalışmada (1997-1998) RT-PCR ile erişkinde % 8, çocuklarda % 28 oranında norovirus pozitifliği saptanmıştır; ikinci çalışmada (2002-2004) pediatrik nozokomiyal ishallerde norovirus sıklığı % 6,9 oranında bulunmuştur^{240,241}.

Çalışmamızda dışkı örneklerinde viral enteropatojenlerden rotavirus, norovirus, astrovirus ve adenovirus antijenleri araştırma amacıyla yapılan ELISA testleri sonucunda 136 hastanın toplamda 28’inde (% 20,6) viral etken tespit edildi. Vakaların 15’inde (% 11) norovirus antijeni, 10’unda (% 7,3) rotavirus grup A antijeni ve 3’ünde (% 2,2) adenovirus antijeni pozitif bulundu ve hiçbirinde astrovirus tespit edilemedi. Ayrıca 1 vakada adenovirus ve norovirus (% 0,7) birlikte miks viral enfeksiyon olarak görüldü.

Rotavirus enfeksiyonu laboratuvar tanısında ELISA, LA ile viral antijen, RT-PCR ile viral genom tespiti ve ELISA ile spesifik rotavirus antikorlarının tespiti gibi yöntemler sık kullanılmaktadır. Dışkı örneklerinde rotavirus antijenlerinin ELISA ve LA ile tespiti tanıda en çok kullanılan testlerdir. ELISA ve LA testleriyle gastroenteritlerin en yaygın sebebi olan sadece rotavirus Grup A tespit edilir. RT-PCR testi ise antijen tespit metodlarına göre daha duyarlıdır. Rotavirus enfeksiyonundan korunmada; aşı kullanımının gündemde olması, herhangi bir aşılama stratejisinin uygulanması öncesinde prevalan suşların tespiti ve yeni rotavirus tiplerinin ortaya çıkışının izlenmesinde Grup A rotavirus enfeksiyonlarının G ve P genotiplerinin araştırılması önemlidir. Genotipleme için en çok RT-PCR kullanılmaktadır.

Dünya genelinde rotavirus gastroenteriti ile ilişkili en yaygın genotipler G1, G2, G3, G4 ve G9’dur ve tespit edilen bütün serotiplerin % 90’dan fazlasını oluşturur. G1

en baskın olanıdır. G9 rotavirus infeksiyonları 1995’de ilk tanındığından beri Avrupa’da genellikle infeksiyonların % 3-4,1’inde bulunur. Güney Amerika ve Avustralya’da yüksek oranlarda bulunur. Rotavirus aşılarında bulunmayan ve dolaşımda yaygın olmayan rotavirus genotipleri G5, G8, G10 veya G12 ise dünyanın bazı bölgelerinde özellikle tropikal bölgelerde son zamanlarda ortaya çıkmaktadır²⁴². İnsanlarda en yaygın P genotipleri, P[8] ve P[4]’dür. P[8] insan rotavirus tiplerinin % 90’dan fazlasını oluşturur.

Dünya genelindeki araştırmalara göre grup A rotavirusunun sebep olduğu diareli çocuklardan izole edilen G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] ve G9P[8] en yaygın G ve P genotip kombinasyonlarıdır ve bu kombinasyonların dünyada yapılan epidemiyolojik çalışmalarda rotavirus infeksiyonlarının % 90’ından sorumlu olduğu bildirilmiştir.

Çin’de Yang ve arkadaşlarının Ekim 2005-Eylül 2006 tarihleri arasında rotavirus insidansını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada 322 dışkı örneğinin 101’inde (% 31,4) grup A rotavirusları identifiye edilmiştir. Rotavirus pozitif vakalarda genotipleme yapıldığında G3P[8] % 62,6, G1P[8] % 17,6, G1+G3P[8] % 8,8, G3P[4] % 6,6, G1P[4] % 2,2 ve G9P[8] % 2,2 oranlarında bulunmuştur. Çalışılan 101 suşun G tiplerinden 67’si G3 (% 66,3), 19’u G1 (% 18,8), 8’i G1 ve G3 miks infeksiyon (% 7,9), 1’i G4 (% 1) ve 2’si G9 (% 2) olarak bulunmuş ve 4’ü (%4) tiplendirilememiştir. Her iki G ve P tipleri 91 örnekte belirlenebilmiş ve 6 farklı kombinasyon elde edilmiştir²⁴³.

Amerika’da Detroit’de Abdel-Haq ve arkadaşlarının çocuklar arasında rotavirusla ilişkili gastroenteriti araştırmak amacıyla yaptıkları bir çalışmada ise 100 çocuktan toplanan dışkı örnekleri ELISA yöntemi ile çalışılmıştır. Rotavirus pozitif örneklerin rotavirus G ve P genotiplemesini RT-PCR testi ve nükleotit dizi analizi ile belirlenmiştir. En yaygın genotip prevalansını G1[P4] (% 41), bunu takiben G1[P8] (% 16) ve G4[P4] (% 14) bulunmuştur. G genotiplerinden G1 (% 73), G4 (% 17,4), G9 (% 6,3) ve G2 (% 2,8) tespit edilmiştir. P genotipleri ise P[4] (% 71) ve P[8] (% 29) olarak gözlenmiştir. Örneklerin % 20’sinde birden fazla G genotipi olduğunu ve bunlardan 7 tanesinin G1/G9, 3’ünün G1/G2 ve 2’sinin G1/G4 olduğunu bildirmişlerdir. Buldukları bütün miks infeksiyonlar G1 genotipi içermiştir²⁴⁴.

Ülkemizin farklı bölgelerinde yapılan çalışmalarda akut gastroenteritli 5 yaş altı çocuklarda rotavirus gastroenterit insidansı % 16,7-48,9 arasında bildirilmiştir. Tekin ve arkadaşları akut gastroenteritli çocuklarda Mardin’de % 16,7, Akan ve arkadaşları

İstanbul'da % 18,7, Biçer ve arkadaşları İstanbul'da %23,9, Gül ve arkadaşları Kahramanmaraş'ta % 25,7, Karadağ ve arkadaşları Ankara'da % 36,8, Kurugöl ve arkadaşları İzmir'de % 39,8, İzmir'de Çiçek ve arkadaşları % 48,9 oranlarında rotavirus pozitifliği tespit etmişlerdir^{227,228,245,246}. Çalışma serimizde akut gastroenteritli toplam 136 çocukta % 7,3'ünde rotavirus bulunmuştur. Çalışmamızda rotavirusu düşük insidansla bulmamız, çalışmanın rotavirus infeksiyon sıklığının az görüldüğü yaz aylarında yapılmasından kaynaklanabilir.

Ülkemizde rotavirus genotiplerinin dağılımı ile ilgili az sayıda çalışma yapılmıştır. İzmir'de Kurugöl ve arkadaşları Ocak 2000-Ocak 2001 döneminde akut gastroenteriti olan 5 yaş altı 920 çocukta rotavirus insidansı % 39,8 olarak bildirilmiştir. Rotavirus suşlarının % 91'inin genotip G1-4 olduğu belirtilmiştir. G1 genotipi % 75,1 oranla en baskın genotip olup, bunu G4 genotipi % 6,3, G3 genotipi % 3 ve G2 genotipi ise % 0,8 oranında izlenmiştir. Örneklerin % 5,9'unda miks infeksiyon bulunmuştur²²⁷. Çataloluk ve arkadaşları Gaziantep'te 2000-2002 yılları arasında yaptıkları çalışmada 508 akut gastroenteritli çocuğun % 23,4'ünde rotavirus pozitif bulmuştur. En sık G4P[8] genotipi (% 42,2) saptanmıştır. Diğer rotavirus genotiplerinden G1P[8] % 26,6, G9P[8] % 3,2, G2P[4] % 3,1 ve G3P[8] % 1,5 oranlarında bulunmuştur. Miks infeksiyonlar % 7,3 oranındadır²⁴⁷. Ankara'da Bozdayı ve arkadaşları Eylül 2004-Aralık 2005 yılları arasında akut gastroenteritli 322 çocukta % 39,7'sinde rotavirus tespit etmiştir. Yaygın genotiplerin % 55,5 oranla G1P[8] ve % 10,1 oranla G9P[8] olduğu bildirilmiştir. Miks rotavirus infeksiyonu % 2,4 oranında bulunmuştur²⁴⁸. Ülkede Ankara, İstanbul, İzmir ve Adana'dan toplam dört hastaneden örneklerin toplandığı çok merkezli çalışmada Ceyhan ve arkadaşları akut gastroenterit tanısı ile hastaneye yatırılan beş yaş altı çocuklarda rotavirus infeksiyonu insidansı ve genotiplerini araştırmıştır. Rotavirus 441 çocukta % 53'ünde (338) pozitif olup, % 76 oranla G1P[8] en yaygın genotiptir. G2P[4] % 12,8, G1P[4] % 7,3, G4P[8] % 4,5, G9P[8] % 3,9, G2P[8] % 2,2, G8P[4] % 1,7, G9P[6] % 1,1, G1P[6], G3P[4], G3P[8] ve G3P[9] her biri % 0,6 oranında bulunmuştur²⁴⁹.

Bölgemizde 2009 Temmuz ile 2009 Ekim tarihleri arasında akut gastroenteritli 136 çocukta % 7,3'ünde (10 vaka) ELISA testi ile rotavirus antijeni pozitif bulundu. Rotavirus antijeni pozitif örneklerde rotavirus G ve P genotiplemesi için multipleks seminested RT-PCR testi kullanıldı. Çalışılan örneklerin 6'sı (% 60) tiplendirildi.

Yalnızca 4 (% 40) örneğin G (VP7) veya P (VP4) genotipi belirlenemedi. Bölgemizde rotavirus gastroenteriti olan 10 çocukta tek başına en baskın G genotip enfeksiyonu 6 vakada % 60 oranla G9 genotipi olup, ardından 1 vakada G4 % 10 oranında tespit edildi. Miks enfeksiyona sebep olan G genotiplerinden G1+G4 %10 oranla 1 örnekte tespit edildi. Geriye kalan 2 örnekte (% 20) G genotipi belirlenemedi. Rotavirusun P genotiplerinden ise tek başına P[8] 10 örneğin 5'inde % 50 oranla en baskın genotipti. P genotiplerinden 3 örnekte ise P[11] % 30 oranında bulundu. Geriye kalan 2 örnekte (% 20) P genotipi bulunamadı.

Çalışmamızda rotavirus G9 genotipi en yüksek oranda 6 vakada % 60 oranında tespit edilen G genotipi olup ardından G4 vakaların 1'inde % 10 oranla bulundu. En yaygın P genotipi 5 vakada % 50 oranla P[8] olup vakaların 3'ünde % 30 oranla P[11] bulundu.

Çalışma serimizde dünyada yaygın görülen insan rotavirus genotiplerinden G9P[8] 3 vakada % 30 oranla en baskın rotavirus G/P kombinasyonu olup bunu 2 vakada % 20 oranla G9P[11] , 1 vakada % 10 oranla G4P[8] izledi. G9P[11] rotavirus genotipi muhtemelen hayvan rotavirus kaynaklı zoonotik rotavirus genotipidir. Yine G4P[8] genotipi dünyada yaygın rastlanan insan rotavirus genotipidir. Rotavirus mik s enfeksiyon prevalansı ise 1 vakada %10 oranda G1+G4/P olarak tespit edildi.

Tüm dünyada 5 yaşından küçük rotavirus gastroenteriti sebebiyle hastaneye yatan çocuklarda 2001-2008 yılları arasında WHO'nun yaptığı surveyans çalışmasında G9P[8] genotipi ABD'de % 21, Avrupa'da % 20, Afrika'da % 31 ve Doğu Asya'da % 5 oranında bildirmiştir²⁵⁰.

Macaristan'da Bonje ve arkadaşlarının 2003-2006 döneminde yaptığı çalışmada G9 genotipini % 42 oranla en yaygın genotip bulurken, G1 % 22 ve G4 % 18,5 oranında tespit edilmiştir²⁵¹.

Avustralya'da Kirkwood CD ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda 2002 Temmuz-2003 Haziran döneminde G9 rotavirus genotipi % 74,7 oranla en baskın genotip olup, izleyen yıllarda bu oran % 11,7 (2003-2004), % 6,9 (2004-2005) ve % 31,1 (2006-2007), % 12,2 (2007-2008) oranında değişen insidanda seyir göstermiştir^{252,253,254,255,256}. Biz de 2009 yaz döneminde G9'u en baskın genotip bulduk.

Ülkemizde Çataloluk ve arkadaşları 2000-2002 yılları arasında Gaziantep'te yaptıkları çalışmada G9P[8]'i % 3,2, Bozdayı ve arkadaşları Akara'da 2004 Eylül -

2005 Aralık döneminde G9P[8]'i % 10,1 ve 2005-2006 yılları arasında Ankara, İstanbul, İzmir ve Adana'dan toplam dört hastaneden örneklerin toplandığı çok merkezli çalışmada Ceyhan ve arkadaşları G9P[8]'i % 3,9 oranında tespit etmiş olup bu bizim G9P[8] (% 30) bulgumuzdan daha düşüktür^{247,248,249}.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada bölgemizde çocuk yaş grubunda görülen akut gastroenteritlerde viral ve bakteriyel etkenlerin klasik ve moleküler yöntemlerle araştırılması amacıyla akut gastroenteritli çocuklara ait 136 dışkı örneği değerlendirilmiştir. Çalışmamızın sonucunda;

- a) Akut gastroenteritli vakaların % 67'sinin 0-24 ay grubunda yer aldığı tespit edildi.
- b) Vakaların % 28,7'sinde akut gastroenterit etkeni olarak viral veya bakteriyel en az bir patojen görüldü.
- c) Viral enteropatojenler % 20,6 oranında tespit edilirken, bakteriyel enteropatojenler % 8,1 oranında bulundu.
- d) Akut gastroenterit etkeni belirlenen vakalarda sıklık sırasına göre: norovirus % 11, rotavirus % 7,3, *Shigella sonnei* % 6,6, adenovirus % 2,2, *Salmonella newport* % 0,7 ve *Campylobacter jejuni* % 0,7 oranda tespit edildi.
- e) Miks infeksiyon 2 vakada (% 1,5) belirlendi. *Campylobacter* ve norovirus birlikte 1 vakada (% 0,7) görülürken, adenovirus ve norovirus birlikte bir diğer vakada (% 0,7) bulundu.
- f) ELISA testi sonucu rotavirus grup A antijeni pozitif çıkan 10 dışkı örneğinden önce RT-PCR testi ile VP4 ve VP7 rotavirus genomları ve ardından semi-nested multipleks PCR testi ile G ve P genotipleri tespit edildi. Çalışılan 10 örnekten 6'sı (% 60) G ve P için genotiplendirilirken geriye kalan 4 (% 40) örneğin G (VP7) veya P (VP4) genotipi belirlenemedi.
- g) G9 % 60 oranla en yüksek bulunan G genotipi ve P[8] % 50 oranla en yüksek bulunan P genotipi oldu.
- h) En yaygın genotip prevalansı G9P[8] (% 30), bunu takiben G9P[11] (% 20) ve G4P[8] (% 10) bulunmuştur. Miks infeksiyon formunda G1+G4/P tiplendirilemeyen 1 vakada %10 oranında tespit edildi.

Bu çalışma akut gastroenteritlerin etyolojik tanısı ile destekleyici tedavi gerektiren viral etkenler ve antibiyotik tedavisi gerektiren shigella ve campylobacter gibi bakterilerin tespiti sonucu uygun hasta yönetimi sağlanacaktır. Uygunsuz ve gereksiz antibiyotik kullanımının önlenmesi hem maliyeti hem de patojenlerde antibiyotiklere karşı direnç gelişimini azaltacaktır.

KAYNAKLAR

1. **Assis AM.** Growth faltering in childhood related to diarrheae: A longitudinal community based study. *Eur J Clin Nutr* **2005**; 59:1317-1323.
2. **Victoria CG.** Reducing deaths from diarrheae through oral rehydration therapy. *Bull World Health Organ* **2000**; 78:1246-1255.
3. **Guerrant RL, Corneiro-Filho BA et al.** Cholera, diarrheae and oral rehydration therapy: Triumph and indictment. *Clin Infect Dis* **2003**; 37:398-405.
4. **Bryce J.** WHO estimates of the causes of death in children. *Lancet*, **2005**;365:1147-1152.
5. **Nataro JP.** Diarrheagenic *Escherichia coli* infection in Baltimore, Maryland and New Haven, Connecticut. *Clin Infect Dis* **2006**; 43:402-407.
6. **Kosek M, Bern C and Guerrant LR.** The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. *Bulletin of the World Health Organization* **2003**; 81:197-204.
7. **Koletzko S, Osterrieder S.** Acute Infectious Diarrheae in Children. *Dtsch Arztebl Int* **2009**; 106:539-548.
8. **Akıncı N, Ercan TE, Yalman N et al.** Akut Gastroenteritli Çocuklarda Adenovirus ve Rotavirus. *Çocuk Enf Derg* **2007**; 1:98-101.
9. **Guandalini S.** *Lactobacillus* GG administered in oral rehydration solution to children with acute diarrheae: A multicenter European trial. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* **2000**; 30:54-60.
10. **Gouvea V, Allen JR, Glass RI, et al.** Detection of group B and C rotaviruses by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* **1991**;29:519-523.
11. **Kleinman RE, Sanderson IR, Goulet O, Sherman PM, Mieli-Vergani G, Shneider BL.** *Walker's Pediatric Gastrointestinal Disease*. 10th Ed Volume1, India: International Print-O-Pac Limited, **2008**.
12. **BorrielloSP, Murray PR, Funke G.** *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections*. 10th Ed Bacteriology Volumes, London: Hodder Arnold Company, **2005**.
13. **Nataro JP, Kaper JB.** Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* **1998**;11:142-201.
14. **Estes MK, Kapikian AZ.** Virology. *Hong Kong* **2007**;1917-1957.
15. **Kapikian AZ.** The discovery of the 27 nm Norwalk virus: An historic perspective. *J Infect Dis* **2000**;181:295-3002.
16. **Bishop RF, Davidson GP, Holmes IH, et al.** Evidence for viral gastroenteritis. *N Eng J Med* **1973**; 289:1096-1097.
17. **Bishop RF, Davidson GP, Holmes IH, et al.** Dedection of a new virus by electron microscopy of fecal extracts from children with acute gastroenteritis. *Lancet* **1974**;1:149-151.

18. **Wilhelmi I, Roman E, Sanchez-Fauquier A.** Viruses causing gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect* **2003**;9:247-262.
19. **Flewett T, Bryden A, Davies H.** Relation between viruses from acute gastroenteritis of children and newborn calves. *Lancet* **1974**;2:61-63.
20. **Wilks D, Farrington M, Rubenstein D.** *The Infectious Diseases Manual*. 2th Ed. Berlin: Blackwell Science Ltd, **2003**.
21. **İpek İÖ, Paketçi C, Bozaykut A.** Bir Yaş Altı Çocuklarda Rotavirus Gastroenteriti. *Zeynep Kamil Tıp Bülteni* **2009**;1.
22. **Abu-Elamreen FH, Abed AA, Sharif FA.** Viral, Bacterial and Parasitic Etiology of Pediatric Diarrhea in Gaza, Palestine. *Med Princ Pract* **2008**; 17:296-301.
23. **Parashar UD, Hummelman EG, Bresee JS, et al.** Global Illness and Deaths Caused by Rotavirus Disease in Children. *Emer Infect Dis* **2005**; 9:5.
24. **Guarino A, Albano F, Ashkenazi S, et al.** European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/European Society for Paediatric Infectious Diseases Evidence- Based Guidelines for the Management of Acute Gastroenteritis in Children in Europe: Executive Summary. *JPGN* **2008**;46:619-621.
25. **Avendano P.** Costs associated with office visits for diarrheae in infants and toddlers. *Pediatr Infect Dis J* **1993**; 12:897-902.
26. **Pickering LK, Synder JD.** Infectious Diseases. In: Nelson Textbook of Pediatrics. 15th Ed. Nelson, Behraman, Kliegman, Arun, **1996**, 721.
27. **King CK, Glass R, Bresee JS et al.** Managing Acute Gastroenteritis Among Children. *Nat C Infect Dis* **2003**;52:1-16.
28. <http://saglik.gov.tr/>
29. **Etiler N, Velipaşaoğlu S, Aktekin M.** Risk factors for overall and persistent diarrhoea in infancy in Antalya, Turkey: a cohort study. *Public Health* **2004**;118:62-69.
30. **Alp H.** Gastroenteritler. *Clinic Pediatri* **2007**;2:1306-2131.
31. **Elliot EJ.** Acute gastroenteritis in children. *BMJ* **2007**; 334:35-40.
32. **Roy CC, Silverman A, Alagille D.** Diarrheal disorders. In: Roy CC, Silverman A, Alagille D Ed. *Pediatric Clinical Gastroenterology* 4th ed. St Louis Mosby, **1995**;216-227.
33. **Walker WA, Goulet O, Kleinman RE, Sherman PM, Shneider BJ, Sanderson IR.** *Pediatric Gastrointestinal Disease*. 10th Ed Volume1, United States: BC Decker Inc, **2004**.
34. **Pickering LK, Cleary TG.** Approach to patients with gastrointestinal tract infections and food poisoning. In: Feigin RD, Cherry JD eds. *Textbook of Pediatric Infectious Diseases* 4th ed vol 1. WB Saunders Co, **1998**:567-601.
35. **Akira S, Takeda K, Koisho T.** Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nat Immunol*, **2001**;2:675-680.
36. **Giardin SE, Sonsonetti PJ, Philpott DJ.** Intracellular vs. extracellular recognition of pathogens-common concepts in mammals and flies. *Trends Microbiol* **2002**;10:193-199.

37. **Inohara N, Nunez G.** Nods: intracellular proteins involved in inflammation and apoptozis. *Nat Rev Immunol* **2003**; 3: 371-382.
38. **Ellen S, Dante A, Sharon G.** Rotavirus. *Pediatr Rev* **2007**; 28: 183-191.
39. **Rota S, Fidan I.** Noninflamatuvar ishallerin patogenezi. *Türk Mikrobiyol Cem Der* **2007**;37:234-241.
40. **Cheng AC, McDonald JR, Thielman NM.** Infectious Diarrhea in Developed and Developing Countries. *J Clin Gastroenterol* **2005**;39: 757-773.
41. **Widdowson MA, Bresee JS, Gentsch JR, et al.** Rotavirus disease and its prevention. *Curr Opin Gastroenterol* **2005**;21: 26-31.
42. **Lundgren O, Peregrin AT, Persson K, et al.** Role of the enteric nervous system in the fluid and electrolyte secretion of rotavirus diarrhea. *Science* **2000**;287: 491-495.
43. **Gray J, Vesikari T, Van Damme P, et al.** Rotavirus. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* **2008**;2: 24-31.
44. **Raming R.** Pathogenesis of Intestinal and Systemic Rotavirus Infection. *J Virol* **2004**;78: 10213-10220.
45. **Kordasti S, Sjovall H, Lundgren O, et al.** Serotonin and vasoactive intestinal peptide antagonists attenuate rotavirus diarrhoea. *Gut* **2004**;53: 952-957.
46. **Hyser JM, Zeng CQ-Y, Beharry Z.** Epitope mapping of the rotavirus SA 11 NSP4 cytoplasmic tail. *Virology* **2008**;373: 212-228.
47. **Brian WJ, Mahy and Volker ter Meulen.** *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections*. 10th Ed Virology Volumes, London: Hodder Arnold Company, **2005**.
48. **Sebire NJ, Malone M, Shah N, et al.** Pathology of astrovirus associated diarrhoea in pediatric bone marrow transplant recipient. *J Clin Pathol* **2004**;57: 1001-1003.
49. **Gray EW, Angus KW, Snodgrass DR.** Ultrastructure of the small intestine in astrovirus infected lambs. *J Gen Virol* **1980**;49: 71-82.
50. **Gauthier A, Thomas NA, Finlay BB.** Bacterial injection machines. *J Biol Chem* **2003**;278:25273-25276.
51. **Buttner D, Bonas U.** Port of entry the type III secretion translocan. *Trend Microbiol* **2002**;10: 186-192.
52. **Hacker J, Kaper JB.** Pathogenicity islands and the evolution of microbes. *Annu Rev Microbiol* **2000**;54:641-679.
53. **Huang DB, Mohanty A, DuPont HL, et al.** A review of an emerging enteric pathogen: enteroaggregative *Escherichia coli*. *J Med Microbiol* **2006**;55:1303-1311.
54. **Elliott SJ, Hutcheson SW, Dubois MS, et al.** Identification of Cest, a chaperone for the type III secretion of Tir in enteropathogenic *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* **1999**;33:1176-1189.
55. **Scaletsky I, Silva CA, Trabulsi LR.** Distinctive patterns of adherence of enteropathogenic *Escherichia coli* to HeLa cells. *Infect Immun* **1984**;45:534-536.

56. **Nataro JP, Kaper JB, et al.** Patterns of adherence of diarrheagenic *Escherichia coli* to Hep2 cells. *Pediatr Infect Dis J* **1987**;6:829-831.
57. **Simonovic I, Arpin M, Kautsouris A, et al.** Enteropathogenic *Escherichia coli*. activates ezrin, which participates in disruption of tight junction barrier function. *Infect Immun* **2001**; 69:5679-5688.
58. **Kaper JB.** Molecular pathogenesis of enteropathogenic *Escherichia coli*. In: Miller VL, Kaper JB, et al (eds), Molecular genetics of bacterial pathogenesis. Washington, DC: *American Society for Microbiology* **1994**:173-195.
59. **DeVinney R, Stein M, Reinscheid D, et al.** Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 produces Tir, which is translocated to the host cell membrane but is not tyrosine phosphorylated. *Infect Immun* **1999**; 67:2389-98.
60. **Campellone KG, Leong JM.** Tails of two Tirs: actin pedestal formation by enteropathogenic *Escherichia coli* and enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Curr Opin Microbiol* **2003**; 6:82-90.
61. **Endo Y, Tsurugi K, et al.** Site of action of verotoxin 2 (VT2) from *Escherichia coli* O157:H7 on eukaryotic ribosomes. *Eur J Biochem* **1988**; 171:45-50.
62. **Ismaili A, Philpott DJ, McKay DM, et al.** Epithelial cell responses to Shiga toxin- producing *Escherichia coli* infection. In: Kaper JB, O'Brein AD (eds), *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin- producing *Escherichia coli*. Washington: *American Society for Microbiol Press*, **1998**:213-215.
63. **Elsinghorst EA.** Enterotoxigenic *Escherichia coli*. In: Donnenberg MS (ed), *Virulence mechanisms of a versatile pathogen*. San Diego: Academic Press, **2002**:157-87.
64. **Guerrant RL, Hughes JM, et al.** Activation of intestinal guanylate cyclase by heat-stable enterotoxin of *Escherichia coli*, studies of tissue specificity, potential receptor and intermediates. *J Infect Dis* **1980**; 142:220-8.
65. **Raupach B, Mecsus J, et al.** Bacterial epithelial cells cross talk. *Curr Top Microbiol Immunol* **1999**; 236:137-61.
66. **Zychlinsky A, Prevost MC and Sansonetti PJ.** *Shigella flexneri* induces apoptosis in infected macrophages. *Nature*, **1992**; 358:167-169.
67. **Fontaine A, Arondel J and Sansonetti PJ.** Role of Shiga toxin in the pathogenesis of bacillary dysentery as studied with a Tox- mutant of *Shigella dysenteriae* 1. *Infect Immun* **1988**; 56:3099-109.
68. **Sansonetti PJ.** Rupture, invasion and inflammatory destruction of the intestinal barrier by *Shigella*, making sense of prokaryote- eukaryote cross-talk. *FEMS Microbiol Rev* **2001**; 25:3-14.
69. **Manteville MR, Yoon JE, Konkell ME.** Maximal adherence and invasion of INT 407 cells by *Campylobacter jejuni* requires the Cad F outer membrane protein and microfilament reorganization. *Microbiology* **2003**; 149:153-165.
70. **Jin S, Song YC, Emili A, et al.** JlpA of *Campylobacter jejuni* interacts with surface-exposed heat shock protein 90 alpha and triggers signalling pathways leading to the activation of NF-kappa B and p38 MAP kinase in epithelial cells. *Cell Microbiol* **2003**; 5:165-174.
71. **Ketley MJ, Konkell ME.** *Campylobacter Molecular and Cellular Biology*. 1th ed Norfolk: Horizon Bioscience, **2005**.

72. **Zilbauera M, Dorrell NW, Wrenb B, Bajaj-Elliott M.** *Campylobacter jejuni* mediated disease pathogenesis: an update. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **2008**; 102:123-129.
73. **Smibert RM.** *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2th ed USA: Springer, **2005**;1145-1165.
74. **Yurdakök K, Asaker O, Berkman E.** Salmonella gastroenteritis in children. *Turk J Pediatr* **1998**; 40:69-78.
75. **Finlay BB, Leung KY, et al.** Salmonella interactions with the epithelial cells. *ASM News* **1992**; 58:486-9.
76. **Guiney DG, Fang FC, et al.** Biology and clinical significance of virulence plasmids in Salmonella serovars. *Clin Infect Dis* **1995**;21(2): 146-51.
77. **Wallis TS, Galyov EE.** Molecular basis of Salmonella-induced enteritis. *Mol Mikrobiol* **2000**;36: 997-1005.
78. **John DI.** CDC 42:an essential Rho-type GTPase controlling eukaryotic cell polarity. *Mikrobiol Mol Biol Rev* **1999**; 63:54-105.
79. **Chen L-M, Hobbie S, Galan JE.** Requirement of CDC 42 for Salmonella-induced cytoskeletal and nuclear responses. *Science* **1996**; 274:2115-8.
80. **Akıncı N, Ercan TE, Yalman N, ve ark.** Akut gastroenteritli çocuklarda Adenovirus ve Rotavirus. *J Pediatr Inf* **2007**; 1:98-101.
81. **Biçer S, Şahin GT, Koncay B, ve ark.** Çocuk acil servisinde saptanan Rotavirus gastroenteritli olguların sıklığı. *J Pediatr Inf* **2008**; 3:96-99.
82. **Roman E, Wilhelmi I, Colomina J, et al.** Acute viral gastroenteritis: proportion and clinical relevance of multiple infections in Spanish children. *J Med Microbiol* **2003**; 52:435-440.
83. **Christensen ML.** Rotaviruses. In: **Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, eds.** *Manual of clinical microbiology*. Washington: ASM Press, **1999**: 999-1004.
84. **Mondell GL, Bennett JE, Dolin R.** *Principles and Practice Of Infectious Disease*. 4th ed. New York: Churchill- Livingstone, **1995**;1448-55, 965-73, 1382-7.
85. **Ramsay M, Brown D.** Epidemiology of group A rotaviruses. In: Gray J, Desselberger U, eds. *Rotaviruses: Methods and Protocols*. Totowa, NJ: Humana Press Inc, **2000**:217-36.
86. **Meqdam MM, Thwiny IR.** Prevalence of group a rotavirus, enteric adenovirus, norovirus and astrovirus infections among children with acute gastroenteritis in Al-Qassim, Saudi Arabia. *Pak J Med Sci* **2007**; 23:551-5.
87. **Nazik H, İlktaç M, Öngen B.** Çocukluk yaş grubu gastroenteritlerinde rotavirus sıklığının araştırılması. *Ankem Derg* **2006**; 20:233-5.
88. **Ehlken B, et al.** Prospective population-based study on rotavirus disease in Germany. *Acta Paediatrica* **2002**; 91: 769–775.
89. **Lynch M, et al.** Rotavirus in Ireland: national estimates of disease burden, 1997 to 1998. *Pediatric Infectious Disease Journal* **2001**; 20: 693–698.
90. **Roma'n E, et al.** Acute viral gastroenteritis: proportion and clinical relevance of multiple infections in Spanish children. *Journal of Medical Microbiology* **2003**; 52:435–440.

91. **Offit PA, Clark HF.** Rotavirus In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (Eds). *Principles and Practice of Infectious Disease* 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, **2000**:1696-703.
92. **Koneman EW, Allen WMJ, Schreckenberger PC, (eds).** *Diagnostic Microbiology* 4th ed. Philadelphia: JB Lippincott Co, **1993**:1036.
93. **Parashar UD, et al.** Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerging Infectious Diseases* **2003**; 9: 565–572.
94. **Parashar UD.** Rotavirus and rotavirus vaccines. *Proceedings of the 6th International Rotavirus Symposium*, Mexico City, Mexico. **2004**.
95. **Yasa O, Ergüven M, Karacaatakan S ve ark.** Yatarak izlenen Rotavirus Vakalarımızın Epidemiyolojik Özellikleri ve Nazokomiyal İnfeksiyon. *Çocuk Der* **2009**;9(3):127-130.
96. **Yarkın F.** Gastroenterit virusları. *Moleküler, klinik tanısal viroloji* **2006**; 233-262.
97. **Parez N.** Rotavirus gastroenteritis: why to back up the development of new vaccines. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* **2008**;31(2-3):253-69.
98. **Desselberger U, Wolleswinkel-van den Bosch J, Mrukowicz J.** Rotavirus types in Europe and their significance for vaccination. *Pediatr Infect Dis J* **2006**;25:S30–41.
99. **Shaw AR.** The rotavirus vaccine saga. *Annu Rev Med* **2006**;57:167–80.
100. **Nakagomi O and Cunliffe NA.** Rotavirus vaccines: entering a new stage of deployment. *Curr Opin Infect Di* **2007**;20:501–507.
101. **Yoshinaga M, Phan TG, Nguyen TA, et al.** Changing distribution of group A rotavirus G-types and genetic analysis of G9 circulating in Japan. *Arch Virol* **2006**;151(1):183-92.
102. **Todd S, Page NA, Steele DA, et al.** Rotavirus Strain Types Circulating Africa: Review of Studies Published during 1997-2006. *J Infect Dis* **2010**;202:34-42.
103. **Iturriza-Gomara M, Auchterlonie IA, Zaw W.** Rotavirus gastroenteritis and central nervous system (CNS) infection: characterization of the VP7 and VP4 genes of rotavirus strains isolated from paired fecal and cerebrospinal fluid samples from a child with CNS disease. *J Clin Microbiol* **2002**;40, 4797–9.
104. **Clark B, McKendrick M.** A review of viral gastroenteritis. *Curr Opin Infect Dis*, **2004**; 17(5): 461-9.
105. **Pickering LK.** Summaries of Infectious Diseases, Adenovirus Infections. In: Pickering LK Ed. *American Academy of Pediatrics Red Book*, New York: Elk Grove Co, **2003**:190-192.
106. **Tekin A.** Mardin'deki akut gastroenteritli çocuklarda Rotavirus ve Enterik Adenovirus sıklığı. *Klin Den Ar Derg* **2010**;1:41-45.
107. **Bass DM.** Rotavirus and other agents of viral gastroenteritis. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, Eds. *Nelson Textbook of Pediatrics* 17th ed, Philadelphia :WB Saunders Co, **2004**:1081-3.
108. **Seiradake E, Cusack S.** Crystal Structure of Enteric Adenovirus Serotype 41 Short Fiber Head. *J Virology* **2005**; 79:14088–94.

109. **Rodriguez-Baez N, O'Brien R, Qiu SQ, Bass DM.** Astrovirus, adenovirus, and rotavirus in hospitalized children: prevalence and association with gastroenteritis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* **2002**; 35(1): 64-8.
110. **Moore PL, Steele AD, Alexander JJ.** Relevance of commercial diagnostic tests to detection of Enteric adenovirus infections in South Africa. *J Clin Microbiol* **2000**; 4: 1661-1663.
111. **Fankhauser RL, Monroe SS, Noel JS, et al.** Epidemiologic and molecular trends of "Norwalk-like viruses" associated with outbreaks of gastroenteritis in the United States. *J Infect Dis* **2002**;186:1-7.
112. **Moreno-Espinosa S, Farkas T and Jiang X.** Human Caliciviruses and Pediatric Gastroenteritis. *Ped Infect Dis* **2004**;237-245.
113. **Brugha R, Vipond IB, Evans MR, et al.** A community outbreak of food-borne small round-structured virus gastroenteritis caused by a contaminated water supply. *Epidemiology and Infection* **1999**;122:145-154.
114. **CDC.** Outbreak of acute gastroenteritis associated with Norwalk-like viruses among British military personnel– Afghanistan. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, **2002**;51:477-479.
115. **Parashar UD, Quiroz ES, Mounts AW, et al.** "Norwalk-like viruses:" Public health consequences and outbreak management. *Morbidity and Mortality Weekly Report* **2001**;50:1-17.
116. **Thornton AC, Jennings-Conklin K S, McCormick MI.** Noroviruses: agents in outbreaks of acute gastroenteritis. *J Infect Dis* **2004**;2(1):4-9.
117. **Donaldson EF, Lindesmith LC, LoBue AD and Baric RS.** Viral shape-shifting: norovirus evasion of the human immune system. *Natural Reviews Microbiology* **2010**; 8:231-241.
118. **Jiang X, Graham DY, Wang KN, et al.** Norwalk virus genome cloning and characterization. *Science* **1990**;250: 1580-1583.
119. **Liu BL, Clarke IN, Caul EO, et al.** Human enteric caliciviruses have a unique genome structure and are distinct from the Norwalk-like viruses. *Arch Virol* **1995**;140:1345-1356.
120. **Le Pendu, JRuvoen- Clouet N, Kindberg E, Suenssol L.** Mendelian resistance to human norovirus infections. *Science* **2006**;18:375-86.
121. **Ando T, Noel JS, Fankhauser RL.** Genetic classification of "Norwalk-like viruses". *J Infect Dis* **2000**;181:336–348.
122. **Me´ndez-Toss M, Griffin DD, Calva J, et al.** Prevalence and genetic diversity of human astroviruses in Mexican children with symptomatic and asymptomatic infections. *J Clin Microbiol* **2004**;42:151–157.
123. **Finkbeiner SR, Kirkwood CD and Wang D.** Complete genome sequence of a highly divergent astrovirus isolated from a child with acute diarrhea. *Virology Journal* **2008**;5:117-120.
124. **Guix S, Bosch A and Pinto RM.** Under the microscope: Human astrovirus diagnosis and typing, current and future prospects. *Society for Applied Microbiology* **2005**; 41:103-105.
125. **Matsui SM and Greenberg HB.** Astroviruses. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Martin MA, Lamb RA, Roizman B and Straus SE, Eds. *Fields Virology*, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, **2001**: 875–893.
126. **Dalton RM, Pastrana EP and Sánchez-Fauquier A.** Vaccinia virus recombinant expressing an 87kD polyprotein that is sufficient to form astrovirus-like particles. *J. Virol* **2003**; 77:9094–9098.

127. **Cook S, Glass R, Lebaron C.** Global seasonality of rotavirus infections. *Bull World Health Org* **1990**; 68:171–177.
128. **Herring AJ, Inglis NF, Ojeh CK, Snodgrass DR, and Menzies JD.** Rapid diagnosis of rotavirus infection by direct detection of viral nucleic acid in silver-stained polyacrylamide gels. *J Clin Microbiol* **1982**; 16:473-477.
129. **Buser J, Risch L, Rutz T, Manang S, Munzinger J.** Comparison of rotavirus latex agglutination test with two rapid immunochromatographic test devices for detection of rotavirus in human feces. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **2001**; 20: 295-296.
130. **Dennehy PH, Hartin M, Nelson SM, and Reising SF.** Evaluation of the ImmunoCardSTART rotavirus assay for detection of group A rotavirus in fecal specimens. *J Clin Microbiol* **1999**; 37:1977-1979.
131. **Gouvea V, Allen JR, Glass RI, et al.** Detection of group B and C rotaviruses by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* **1991**;29:519-523.
132. **Coulson BS, Masendycz PJ.** Measurement of rotavirus neutralizing coproantibody in children by fluorescent focus reduction of serotype G9 rotaviruses. *J Clin Microbiol* **1990**;28:1652-1654.
133. **Ando T, Monroe S, Gentsch JR, Jin Q, Lewis DC and Glass RI.** Detection and differentiation of antigenically distinct small round-structured viruses (Norwalk-like viruses) by reverse transcription PCR and southern hybridization. *J Clin Microbiol* **1995**;33:64-71.
134. **Vinje J and Koopmans MP.** Molecular detection and epidemiology of small round-structured viruses in out-breaks of gastroenteritis in the Netherlands. *J Infect Dis* **1996**;174:610-615.
135. **Glass RI, Noel J, Mitchell D, Herrmann, et al.** The changing epidemiology of astrovirus associated gastroenteritis: areview. *Arch Virol* **1996**;12:287-300.
136. **Herrmann JE, Taylor DN, Echeverria P.** Astroviruses as a cause of gastroenteritis in children. *Engl J Med* **1991**;324:1757-1760.
137. **Moe CL, Allen JR, Monroe SS, et al.** Detection of astrovirus in pediatric stool samples by immunoassay and RNA probe. *J Clin Microbiol* **1991**;29:2390-2395.
138. **Guix S, Bosch A, and Pinto RM.** Human astrovirus diagnosis and typing: current and future prospects. *Lett Appl Microbiol* **2005**;41:103-105.
139. **Moore PL, Steele AD, Alexander JJ.** Relevance of Commercial Diagnostic Tests to Detection of Enteric Adenovirus Infections in South Africa. *J Clin Microbiol* **2000**;38(4):1661-1663.
140. **Kim M, Lim MY, Ko G.** Enhancement of Enteric Adenovirus Cultivation by Viral Transactivator proteins. *App Env Microbiol* **2010**;76:2509-2516.
141. **Steinsland H, Valentiner-Branth P, Grewal HM, et al.** Development and evaluation of genotypic assays for the detection and characterization of enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Diagn Microbiol Infect Dis* **2003**;45:97-105.
142. **Toneja N, Rao P, Rao DS, et al.** *Infect Dis* causing cholera-like syndrome during an interepidemic period of cholera in North India. *Jpn J Infect Dis* **2006**;59:245-8.
143. **Quadri F, Das SK, Faruque GJ, et al.** Prevalence of toxin types and colonization factors in enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated during a 2 year period from diarrheal patients in Bangladesh. *J Clin Microbiol* **2000**;38:27-31.

144. **Quadri F, Suennerholm A, Faruque AS, et al.** Enterotoxigenic *Escherichia coli* in Developing Countries: Epidemiology, Microbiology, Clinical Features, Treatment and Prevention. *Clin Microbiol Rev* **2005**;18:465-483.
145. **Vernacchio L, Vezina RM, Mitchell AA, et al.** Diarrhea in American infants and young children in the community setting: Incidence, clinical presentation and microbiology. *Pediatr Infect Dis J* **2006**;25:2-7.
146. **Trabulsi LR, Keller R, Tardelli Gomes TA.** Typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. *Emerg Infect Dis* **2002**;8:508-513.
147. **Fagundes-Neto U, Scaletsky IC.** The gut at war: The consequences of enteropathogenic *Escherichia coli* infection as a factor of diarrhea and malnutrition. *Sau Paulo Med J* **2000**;118:21-29.
148. **Slutsker L, et al.** *Escherichia coli* O 157:H7 diarrhea in the United States: Clinical and epidemiologic features. *Ann Intern Med* **1997**;126:505-513.
149. **Uc A, et al.** Pseudomembranous colitis with *Escherichia coli* O 157:H7. *JPGN* **1997**;24:590-593.
150. **Mead PS, Slutsker L, Dietz V, et al.** Food related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis* **1999**;5:607-625.
151. **Hancock D, Besser T, et al.** The control of verotoxigenic *Escherichia coli* in the animal reservoir. *Int J Food Microbiol* **2001**;66:71-78.
152. **Reida P, Wolff M, et al.** An outbreak due to enterohemorrhagic *Escherichia coli* O 157:H7 in a children day care center characterized by person to person transmission and environmental contamination. *Zentralbl Bacteriol* **1994**;28:534-543.
153. **Rangel JM, Sparling PH, Crowe C, et al.** Epidemiology of *Escherichia coli* O 157:H7 outbreaks, United States, 1982-2002. *Emerg Infect Dis* **2005**;11:603-609.
154. **Hung DB, Mohanty A, DuPont HL, et al.** A review of an emerging enteric pathogen: Enteroaggregative *Escherichia coli*. *J Med Microbiol* **2006**;55:1303-1311.
155. **Bratnagar S, et al.** Enteroaggregative *Escherichia coli* may be a new pathogen causing acute and persistent diarrhea. *Scand J Infect Dis* **1993**;25:579-583.
156. **Fang GD, et al.** Etiology and epidemiology of persistent diarrhea in northeastern Brazil: a hospital based prospective case control study. *JPGN* **1995**;21:137-144.
157. **Smith HR, Cheasty T, Rowe B.** Enteroaggregative *Escherichia coli* and outbreaks of gastroenteritis in UK. *LANCET* **1997**;350:814-15.
158. **Cobeljic M, et al.** Enteroaggregative *Escherichia coli* associated with an outbreak of diarrhea in a neonatal nursery ward. *Epidemiol Infect* **1996**;117:11-16.
159. **Grion JA, et al.** Diffuse adhering *Escherichia coli* as a putative cause of diarrhea in Mayan children in Mexico. *J Infect Dis* **1991**;163:507-513.
160. **Steiner TS, Lima AAM, Nataro JP, Guerrant RL.** Enteroaggregative *Escherichia coli* produce intestinal inflammation and growth impairment and cause IL-8 release from intestinal epithelial cells. *J Infect Dis* **1998**;177:88-96.
161. **Levine MM, et al.** Epidemiologic studies of *Escherichia coli* diarrheal infections in a low socioeconomic level periurban community in Santiago, Chile. *Am J Epidemiol* **1993**;138:849-69.

162. **Ratchtrachenchai OA, Subpasu S, Hayashi H.** Prevalence of childhood diarrhoea associated *Escherichia coli* in Thailand. *J Med Microbiol* **2004**;53:237-43.
163. **Hartman AB, Essiet II, Isenbarger DW, Lindler LE.** Epidemiology of tetracycline resistance determinants in *Shigella* spp and enteroinvasive *Escherichia coli*: Characterization and dissemination of tet(A). *J Clin Microbiol* **2003**;41:1023-32.
164. **Lan R, Alles MC, Donohoe K, et al.** Molecular evolutionary relationship of enteroinvasive *Escherichia coli* and *Shigella* spp. *Infect Immun* **2004**;72:5080-88.
165. **Niyogi SK.** Shigellosis. *J Microbiol* **2005**;43:133-43
166. **Askenazi S.** Shigella infections in children: New insights. *Semin Pediatr Infect Dis* **2004**;15:246-52.
167. **Talukder KA, Khajanchi BK, Dutta DK, et al.** An Unusual cluster of dysentery due to *Shigella dysenteriae* type 4 in Dhaka, Bangladesh. *J Med Microbiol* **2005**;54:511-3.
168. **DuPont HL, et al.** Inoculum size in shigellosis and implications for expected mode of transmission. *J Infect Dis* **1989**;159:1126-28.
169. **Sur D, Rammamurthy T, Deen J, et al.** Shigellosis: challenges and management issues. *Indian J Med* **2004**;120:454-62.
170. **Samuel MC, Vugia DJ, Shallow S, et al.** Epidemiology of sporadic *Campylobacter* infection in the United States and declining trend in incidence, Food Net 1996-1999. *Clin Infect Dis* **2004**;38:165-74.
171. **Gerner-Smidt P, Hise K, Kincaid J, et al.** Pulse Net USA: A five year update. *Foodborne Pathog Dis* **2006**;3:9-19.
172. **On SLW.** Taxonomy of *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter*, and related bacteria: current status, future prospects and immediate concerns. *Symp Ser Soc Appl Microbiol* **2001**; 90:1-115
173. **Stanley K, Jones K.** Cattle and sheep farms as reservoirs of *Campylobacter*. *J. Appl Microbiol* **2003**; 94:104-113.
174. **Vliet van AHM, Ketley JM.** Pathogenesis of enteric *Campylobacter* infection. *J Appl Microbiol* **2001**; 90:45-56 .
175. **Wagenaar JA, Mevius DJ, Havelaar AH.** *Campylobacter* in primary animal production and control strategies to reduce the burden of human campylobacteriosis. *Rev Sci Tech* **2006**;25:581-94.
176. **Friedman CR, Hoekstra RM, Samuel M, et al.** Risk factors for sporadic *Campylobacter* infection in the United States. A case control study in Food Net sites. *Clin Infect Dis* **2004**;38:285-96.
177. **Allos BM.** *Campylobacter jejuni* infections: update on emerging issues and trends. *Clin Infect Dis* **2001**;32:1201-6.
178. **Blakelock RT, Beasley SW.** Infection and the gut. *Semin Pediatr Surg* **2003**;12:265-74.
179. **Blaser MJ, Allos BM.** *Campylobacter jejuni* and related species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Principles and practice of infectious diseases*. 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, **2005**: 2548-57.

180. **Skirrow MB, Blaser MJ.** Clinical aspects of *Campylobacter* infection. In: Nachamkin I and Blaser MJ, eds. *Campylobacter* . 2nd ed. Washington: DC, **2000**: 69-88.
181. **Centers for Disease Control and Prevention (CDC).** Preliminary of foodborne illness selected sites, United States, 2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* **2003**;52:340-3.
182. **Khoshoo V, et al.** *Salmonella* typhimurium associated severe protracted diarrhea in infants and young children. *JPGN* **1990**;10:33-36.
183. **Hohmann EL.** Nontyphoidal Salmonellosis. *Infect Dis Society* **2001**;32:263-9.
184. **Crum-Cianflane NF.** Salmonellosis and the GI Tract: More than Just Peanut Butter. *Curr Gastroenterol Rep* **2008**;10(4):424-31.
185. **Todd B.** The increasing risk of *Salmonella* infections. Food industry practices inadequate regulation and antimicrobial resistance heighten concerns. *Am J Nurs* **2006**;106:35-37.
186. **Fredriksson-Ahomaa M, Stolle A, Korkealo H.** Molecular epidemiology of *Yersinia enterocolitica* infections. *FEMS Immunol Med Microbiol* **2006**;47:315-29.
187. **Cover TL, Aber RC.** *Yersinia enterocolitica* *Yersinia pseudotuberculosis*. In: Blaser MJ, eds. *Infections of the Gastrointestinal Tract*. New York: Raven Press, **1995**:811-23.
188. **Çullu F.** Çocukluk çağında Akut ishalleri ve Antibiyotik tedavisi. *Çocuklarda Akılcı Antibiyotik Kullanımı Sempozyumu Dizisi* **2002**;3:59-76.
189. **Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G eds.** Curved Gram negative bacilli and oxidase positive fermenters: *Campylobacteraceae* and *Vibrionaceae*. In: *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6th ed. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, **2006**: 321-361.
190. **Aspinall ST, Wareing DR, Hayward PG, Hutchinson DN.** Selective medium for thermophilic campylobacters including *Campylobacter upsaliensis*. *J Clin Pathol* **1993**; 46(9): 829-831.
191. **Merino FJ, Agulla A, Villasante PA, et al.** Comparative Efficacy of Seven Selective Media for Isolating *Campylobacter jejuni* *J Clin Microbiol* **1986**; 9:451-452.
192. **On S L W.** Identification Methods for *Campylobacters*, *Helicobacters* and Related Organisms *Clinical Microbiology Reviews* **1996**:405-422.
193. **Park CH, Hixon DL, Polhemus AS, et al.** A rapid diagnosis of *Campylobacter* enteritis by direct smear examination. *Am J Clin Pathol* **1983**; 80:388-90.
194. **Hindiyeh M, Jense S.** Rapid Detection of *Campylobacter jejuni* in Stool Specimens by an Enzyme Immunoassay and Surveillance for *Campylobacter upsaliensis* in the Greater Salt Lake City Area. *J Clin Microbiol* **2000**;8:3076-3079.
195. **Tolcın R, Lasalvia MM, Kirkley BA, Vetter EA, et al.** Evaluation of the Alexon-Trend ProSpecT *Campylobacter* Microplate Assay. *J Clin Microbiol* **2000**; 10:3853-3855.
196. **Wang G, Clifford G.** Colony Multiplex PCR Assay for Identification and Differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C.coli*, *C.lari*, *C upsaliensis* and *C. fetus* subsp. *fetus*. *J Clin Microbiol* **2002**; 12:4744-47.
197. **Kulkarni SP, Lever S, Logan JMJ, Lawson AJ, Stanley J, Shafi MS.** Detection of campylobacter species: a comparison of culture and polymerase chain reaction based methods. *J Clin Pathol* **2002**; 55:749-753.

198. **Houng HS, Sethabutr O, Nirdnay W, et al.** Development of a *ceuE*-based multiplex polymerase chain reaction (PCR) assay for direct detection and differentiation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in Thailand. *Diagn Microbiol Infect Dis* **2001**; 40(1-2):9-11.
199. **Schmidt OR, Brass F.** Improved serodiagnosis of *Campylobacter jejuni* infections using recombinant antigens. *J Med Microbiol* **2005**; 54:761–767.
200. **Subcommittee of the PHLS Advisory Committee on Gastrointestinal Infections 2000.** Guidelines for the control of infection with Vero cytotoxin producing *Escherichia coli*. *Commun Dis Pub Health* **2000**;3:14-23.
201. **Manafi M and Kremsmaier B.** Comparative evaluation of different chromogenic/fluorogenic media for detecting *Escherichia coli* O157:H7 in food. *Int J Food Microbiol* **2001**;71:257-262.
202. **Mackenzie AM, Lebel P, Orrbine E, et al.** Sensitivities and specificities of Premier *Escherichia coli* O157:H7 and Premier enterohemorrhagic *Escherichia coli* enzyme linked immunoassays for diagnosis of infection with verotoxin producing *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* **1998**;36:1608-11.
203. **Prager R, Annemuller S and Tschape H.** Diversity of virulence patterns among shigatoxin producing *Escherichia coli* from human clinical cases need for more detailed diagnostics. *Int J Med Microbiol* **2005**;295:29-38.
204. **Vial PA, Mathewson JJ, DuPont HL, et al.** Comparison of two assay methods for patterns of adherence to Hep 2 cells of *Escherichia coli* from patients with diarrhea. *J Clin Microbiol* **1990**;28:882-85.
205. **Cohen MB, Nataro JP, Bernstein DI.** Prevalence of diarrheagenic *Escherichia coli* in acute childhood enteritis: a prospective controlled study. *J Pediatr* **2005**;146:54-61.
206. **Yam W, Lung M.** Evaluation and optimization of a latex agglutination assay for detection of cholera toxin and *Escherichia coli* heat labile toxin. *J Clin Microbiol* **1992**;30:2518-20.
207. **Wong CS, et al.** The risk of the hemolytic uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157:H7 infections. *N Engl J Med* **2000**;342:1930-6.
208. **Guarino A, et al.** Oral immunoglobulins for treatment of acute rotaviral gastroenteritis. *Pediatrics* **1994**; 93:12-6.
209. **Kanfer EJ et al.** Severe rotavirus associated diarrhea following bone marrow transplantation: Treatment with oral immunoglobulin. *Bone Marrow Transplant* **1994**;14: 651-2.
210. **Guandalini S, et al.** Lactobacillus GG administered in oral rehydration solution to children with acute diarrhea. A multicenter European trial. *J PGN* **2000**;30: 54-60.
211. **Guandalini S, et al.** Probiotics for children. Use in diarrhea. *J Clin Gastroenterol* **2006**;40: 244-8.
212. **Roy SK et al.** Randomised controlled trial of zinc supplementation in malnourished Bangladeshi children with acute diarrhoea. *Arch Dis Child* **1997**;77:196-200.
213. **Manuel A, Franco A, Angel J, Greenberg HB.** Immunity and correlates of protection for rotavirus vaccines, *Vaccine* **2006**; 27:18–31.
214. **De Vos B, Vesikari T, Linhares AJ, et al.** A rotavirus vaccine for prophylaxis of infants against rotavirus gastroenteritis. *Pediatr Infect Dis J* **2004**; 23(10): 179-82.

215. **Angel J, Franco MA, Greenberg HB.** Rotavirus vaccines: recent developments and future considerations. *Nat Rev Microbiol* **2007**; 5(7):529-39.
216. **Vesikari, T.** Safety and efficacy of a pentavalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine. *N.Engl J Med* **2006**; 354, 23–33.
217. **Dennehy PH.** Rotavirus vaccines: an overview. *Clin Microbiol Rev* **2009**;21:198 –208.
218. **Clark A.** The cost-effectiveness of rotavirus vaccine in Peru and Bengaldesh. *7th International Rotavirus Symposium, Lisbon* **2006**:12-30.
219. **O'ryan M, Linhares AC.** Update on Rotarix: an oral human rotavirus vaccine. *Expert Rev Vaccines* **2009**; 8:1627-41.
220. **Ciarlet M, Schödel F.** Development of a rotavirus vaccine: Clinical safety, immunogenicity, and efficacy of the pentavalent rotavirus vaccine, RotaTeg®. *Vaccine* **2009**; 27:72–81.
221. **Torres ME, Pirez MC, Schelotto F, et al.** Etiology of children's diarrhea in Montevideo, Uruguay: associated pathogens and unusual isolates. *J Clin Microbiol* **2001**;39:2134-39.
222. **Öngen B.** Türkiye'de İshal Etkenleri. *Ankem Derg* **2006**;20:122-134.
223. **Bozdemir N, Akın L, Sargın C.** Adana ilinde İshal Morbiditesi. *İstanbul Halk Sağlığı Bülteni* **1989**; 3 (10):13-18.
224. **Bozkurt İ, Özgür S, Özçırpacı B.** Gaziantep'te Farklı Sosyoekonomik Düzeye Sahip Bölgelerde 5 Yaş Altı Çocuklarda ishal Görülme Sıklığı. *V. Ulusal Halk Sağlığı Kongresi Bildiri Kitabı, İstanbul. 1996*: 433-7.
225. **Çivi S, Güler S, Tanrıku Z.** Konya İli Çimenlik Bölgesinde 0-59 Ay Bebeklerde Gelişme Düzeyleri ve İshal ve ÜSYE Prevalansları. *V. Halk Sağlığı Günleri Bildiri Özet Kitabı, Isparta. 1997*: 120.
226. **Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması 1998.** Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü, *Measure DHS Macro International Inc* 1998.
227. **Kurugöl Z, Geylani S, Karaca Y, et al.** Rotavirus gastroenteritis among children under five years of age in İzmir, Turkey. *Turkish J Pediatr* **2003**;45:290-94.
228. **Karadağ A, Açıkgöz ZC, Avcı Z, et al.** Childhood diarrhoea in Ankara, Turkey: epidemiological and clinical features of rotavirus-positive versus rotavirus-negative cases. *Scand J Infect Dis* **2005**; 37: 269-75.
229. **Fred G, Abril M, Billon D, Tigne Y, et al.** Diarrhoea-causing agents in children aged less than five in Tunja, Colombia Rev. *Salud pública* **2006**:8.
230. **Olesen B, Neimann J, Bottiger B, et al.** Etiology of Diarrhea in Young Children in Denmark: a Case-Control Stud. *J Clin Microbiol* **2005**; 8:3636–3641.
231. **Abdel Moati A, Jarousha A, Mahmoud A, et al.** Enteropathogens and Risk Factors Associated With Childhood Diarrhea. *Indian J Pediatr* **2010**.
232. **Yıldırım Y, Tanyer G, Dallar Y, Serdaroglu A.** Süt çocuklarının rotavirus ve diğer etyolojik ajanlara bağlı akut gastroenteritlerinde klinik ve epidemiyolojik özellikler. *T Klin Pediatri* **1992**;1:1-6.
233. **Taş E, Ardic N.** Akut gastroenteritli Olgularda Termofilik Campylobacter, *Escherichia coli* O157 ve Rotavirus Sıklığı. *Klim Derg* **2004**;3:186-90.

234. **Baysallar M, Küçükkaraslan A, Albay A, Başustaoğlu AC, Gün H.** Dışkı ve kan örneklerinden izole edilen Salmonella serotiplerinin insidansı ve çoklu antibiyotik direnci. *Klinik Derg* **1995**;8(1):32-5.
235. **Simpson R, Aliyu S, Iturriza-Gomara M, Desselberger U, Gray J.** Infantile viral gastroenteritis: On the way to closing the diagnostic gap. *J Med Virol* **2003**;70:258–262.
236. **Levidiotou S, Gartzonika C, Papaentsis D, et al.** Viral agents of acute gastroenteritis in hospitalized children in Greece. *Clin Microbiol Inf* **2009**;15:596-598.
237. **Tran A, Talmud D, Lejeune B, et al.** Prevalence of Rotavirus, Adenovirus, Norovirus and Astrovirus Infections and Coinfections among Hospitalized Children in Northern France. *J Clin Microbiol* **2010**;48(5):1943-46.
238. **Jakab F, Varga L, Nyul Z, et al.** Acute viral gastroenteritis among hospitalized children between 2003 and 2005 in Boranya Country, Hungary. *J Clin Virol* **2009**;44:340-41.
239. **Palandüz A.** Gastrointestinal Enfeksiyon Etkenleri ve Neden Oldukları Klinik Tablolar. *J Pediatr Inf* **2009**;3(1):116-8.
240. **Özdamar M.** Pediatrik nozokomial ishallerde viral etkenlerin saptanması. Uzmanlık Tezi, İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, **2004**.
241. **Özkaya AA.** Bakteriyel olmayan sporadik ishal olgularında kalısivirüs sıklığının RT-PCR (Reverse Transcriptase-Polymerase Chain reaction) ile araştırılması, Uzmanlık Tezi, İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, **2004**.
242. **Matthijnsens J, Ciarlet M, Rahman M, et al.** Recommendations for the classification of group A rotaviruses using all 11 genomic RNA segments. *Arch Virol* **2008**; 153:1621–1629.
243. **Wuhan C, Yang J, Wang T, et al.** Emergence of human rotavirus group a genotype G9 strains. *Emerg Infect Dis.* **2007**;13(10):1587-9.
244. **Abdel-Haq NM, Thomas RA, Asmar BI, Zacharova V, Lyman WD.** Increased prevalence of G1P[4] genotype among children with rotavirus-associated gastroenteritis in metropolitan Detroit. *J Clin Microbiol* **2003**; 41(6):2680-2.
245. **Gül M, Garipardıç M, Çyradil P, Aral M, Karabiber H, Güler Y.** 0-5 Yaş Arası Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirüs ve Adenovirüs Tip 40/41 araştırması. *ANKEM Derg* **2005**; 19: 64-7.
246. **Çicek C, Karatas T, Altuglu I, Koturoglu G, Kurugol Z, Bilgic A.** Comparison of ELISA with shell vial cell culture method for the detection of human rotavirus in fecal specimens. *New Microbiol* **2007**; 30(2):113-8.
247. **Çataloluk O, Iturriza M, Gray J.** Molecular characterization of rotaviruses circulating in the population in Turkey. *Epidemiol. Infect* **2005**; 133, 673–678.
248. **Bozdayı G, Dogan B, Dalgic B, et al.** Diversity of human rotavirus G9 among children in Turkey. *J Med Virol* **2008**;80(4):733-40.
249. **Ceylan M, Alhan E, Salman N, Kurugol Z, et al.** Multicenter Prospective Study on the Burden of Rotavirus Gastroenteritis in Turkey, 2005-2006. *J Infect Dis* **2009**;200:234-8.
250. **World Health Organization.** *Rotavirus Surveillance Worldwide, 2001-2008.* **2008**;57(46):1255-57.

251. **Banyai K, Bogdan A, Domonkos G, et al.** Genetic diversity and zoonotic potential of human rotavirus strains, 2003-2006, Hungary. *J Med Viral* **2009**;81(2):362-70.
252. **Kirkwood CD, Cannan D, Boniface K, et al.** Australian Rotavirus Surveillance Program annual report, 2007-2008. *Commun Dis Intell* **2008**;32(4):425-9.
253. **Kirkwood CD, Bogdanovic-Sakran N, Bishop R, et al.** Report of Australian Rotavirus Surveillance Program 2003-2004. *Commun Dis Intell* **2004**;28(4):481-5.
254. **Kirkwood CD, Cannan D, Bogdanovic-Sakran N, Bishop R, et al.** Australian Rotavirus Surveillance Program: annual report, 2006-2007. *Commun Dis Intell* **2007**;31(4):375-9.
255. **Kirkwood CD, Bogdanovic-Sakran N, Clark R, Bishop R, et al.** Australian Rotavirus Surveillance Program 2002-2003. *Commun Dis Intell* **2003**;27(4):492-5.
256. **Kirkwood CD, Bogdanovic-Sakran N, Clark R, Bishop R, et al.** National Rotavirus Surveillance Program annual report, 2004-2005. *Commun Dis Intell* **2005**;30(4):487-9.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ayşegül TÜMGÖR
Doğum Tarih ve Yeri : 28.09.1978
Medeni Durumu : Evli
Adres : Gürsel Paşa mah. Şenbayrak apt. No: 211 Kat:2/3
Seyhan /ADANA
Telefon : 0505 713 12 57
Faks : -
E.posta : atumgor78@yahoo.com
Mezun Olduğu Tıp Fakültesi : Çukurova Üniversitesi
Dernek Üyelikleri : Klinik Mikrobiyoloji Uzmanları Derneği
Alınan Burslar : Yok
Yabancı Dil(ler) : İngilizce
Diğer Hususlar : -