

Akut Gastroenterit Nedeniyle Ankara'da İki Farklı Hastaneye Başvuran 0-5 Yaş Arası Çocuklarda Norovirus Enfeksiyonu Sıklığının Araştırılması

Investigation of Norovirus Infection Incidence Among 0-5 Years Old Children with Acute Gastroenteritis Admitted to Two Different Hospitals in Ankara, Turkey

Aylin ALTAY¹, Güleendam BOZDAYI¹, Melda MERAL¹, Yıldız DALLAR BİLGE², Buket DALGIÇ³, Seçil ÖZKAN⁴, Kamruddin AHMED⁵

¹ Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

¹ Gazi University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara, Turkey.

² Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara.

² Ankara Educational and Research Hospital, Department of Pediatrics, Ankara, Turkey.

³ Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatri Anabilim Dalı, Ankara.

³ Gazi University Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Ankara, Turkey.

⁴ Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Ankara.

⁴ Gazi University Faculty of Medicine, Department of Public Health, Ankara, Turkey.

⁵ Oita Üniversitesi Araştırma Enstitüsü, Oita, Japonya.

⁵ Oita University Research Promotion Institute, Oita, Japan.

Geliş Tarihi (Received): 25.06.2012 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 13.08.2012

ÖZET

Noroviruslar, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde, özellikle beş yaş altı çocuklarda hastaneye yatışı gerektiren ağır gastroenterit olgularına neden olmaktadır. Bu çalışmada, Ankara'daki iki farklı hastaneye başvuran ve akut gastroenterit tanısı konulan 0-5 yaş arası çocuklarda norovirus (NoV) antijen pozitifliğinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya, Eylül 2004 ile Haziran 2011 tarihleri arasında Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim Araştırma Hastanesi ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne başvuran akut gastroenteritli 0-5 yaş arasındaki 1000 çocuktan (413 kız, 587 erkek) alınan dışkı örnekleri dahil edilmiştir. Örneklerde NoV genogrup GI ve GII antijen pozitifliği ELISA yöntemi ile (RIDASCREEN® Norovirus (C1401) 3rd Generation, R-Biopharm, Almanya) araştırılmıştır. NoV GI ve GII antijeni; 62 (%15)'si kız, 79 (%13.5)'u erkek olmak üzere toplam 141 (%14.1) hasta örneğinde pozitif olarak saptanmış, cinsiyetler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir (p>

İletişim (Correspondence): Doç. Dr. Güleendam Bozdayı, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Beşevler, 06560 Ankara, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 312 202 6979, **E-posta (E-mail):** gbozdayi@hotmail.com

0.05). En yüksek NoV pozitifliğinin 12-23 aylık çocuklarda (%17.1) saptandığı izlenmiş; ancak ELISA pozitifliği ile yaş arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). Norovirusun en sık saptandığı yıllar 2007 (%18.4) ve 2009 (%18) yılları olmuş, bununla birlikte yıllara göre dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p > 0.05$). Norovirus enfeksiyon sıklığı ilkbahar, yaz, sonbahar ve kış mevsimlerinde sırasıyla %13.8, %17.7, %14.7 ve %11.2 olarak saptanmış ve enfeksiyonun mevsimler arasındaki dağılımı da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$). Buna karşın aylara göre NoV sıklığı incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuş ($p < 0.05$) ve bu farkı temmuz (%24.2) ve aralık (%4.1) aylarının oluşturduğu görülmüştür. Klinik bulgular incelendiğinde, NoV pozitif 141 hastanın tümünde (%100) ishal, 72 (%51.1)'inde ise kusma olduğu izlenmiştir. Olguların dışkı örnekleri parazitolojik ve bakteriyolojik olarak incelendiğinde; norovirus ve parazit koenfeksiyon oranı %3.3 (4/122; üç hastada *Entamoeba histolytica*, bir hastada *Enterobius vermicularis*) olarak tespit edilmiş, hiçbir olgunun dışkı örneğinde patojen bakteriye rastlanmamıştır. Sonuç olarak, Ankara'da sekiz yıllık bir süreci içeren bu retrospektif çalışmada, akut gastroenteritli 0-5 yaş grubu çocuklarda %14.1 olarak saptanan norovirus GI/GII prevalans değerinin, bölgemiz verilerini yansıtabileceği ve ülkemiz epidemiyolojik verilerine katkıda bulunacağı düşünülmüştür. Ayrıca, ülkemizde rotavirus aşısının kullanılmaya başlanmasının bir sonucu olarak 0-5 yaş ishalleri arasında noroviruslara daha sıklıkla rastlanacağı öngörülmüştür. Bu nedenle, NoV antijen saptama testlerinin, sporadik ve/veya epidemik enfeksiyonların tanısı için rutin uygulamaya girmesi gerektiği kanısına varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Norovirus; gastroenterit; insidans; çocuk.

ABSTRACT

Norovirus causes severe gastroenteritis requiring hospitalization especially in children less than five years of age both in developed and developing countries. Therefore, we aimed to investigate the incidence of norovirus (NoV) in 0-5 years old children with acute gastroenteritis in two large hospitals in Ankara, Turkey. Stool samples were obtained from 1000 (413 female, 587 male) children between 0-5 years old with acute gastroenteritis who attended to the Department of Paediatrics, Ministry of Health Ankara Training and Education Hospital and affiliated hospital of Gazi University Faculty of Medicine between October 2004 and June 2011. Antigens of norovirus GI and GII genogroups in the stool specimens were detected by ELISA (RIDASCREEN® Norovirus (C1401) 3rd Generation, R-Biopharm, Germany). Norovirus GI and GII antigens were determined in a total of 141 (14.1%) samples, of them 62 (15%) were female and 79 (13.5%) were male, yielding no statistically significant difference ($p > 0.05$). The highest NoV positivity was detected in children between 12-23 months (17.1%), however there was no statistically significant difference between ELISA positivity and age ($p > 0.05$). NoV detection rate was highest in 2007 (18.4%) and in 2009 (18%), and the difference regarding ELISA positivity among the study years was not statistically significant ($p > 0.05$). The prevalences of norovirus infection in spring, summer, autumn and winter were 13.8%, 17.7%, 14.7% and 11.2%, respectively. Therefore no seasonal variation was found in the incidence of norovirus infection. However when the monthly prevalence was analyzed, a statistically significant difference was found ($p < 0.05$) between the rate of norovirus infection in July (24.2%) and December (4.1%). When evaluating the clinical symptoms, all of 141 patients (100%) had diarrhoea, while 72 (51.1%) had vomiting. Stool samples were also evaluated for the presence of parasitic and bacterial agents. Coinfection rate with parasites was detected as 3.3% (4/122; norovirus + *Entamoeba histolytica* in three cases, norovirus + *Enterobius vermicularis* in one case), while no pathogenic bacteria were isolated from norovirus positive stool samples. The prevalence rate of 14.1% for NoV GI/GII infection detected in this retrospective study including 0-5 years old children in Ankara for 2004-2011 period was thought to reflect the regional data and would contribute to national epidemiological data. We anticipate that the incidence of norovirus will increase in 0-5 year old children as a result of increasing use of rotavirus vaccine in Turkish children. It was concluded that, NoV antigen detection tests

should be used in routine laboratories for appropriate diagnosis of sporadic and/or epidemic norovirus infections.

Key words: *Norovirus; gastroenteritis; incidence; children.*

GİRİŞ

Noroviruslar, epidemik gıda ve su kaynaklı viral gastroenteritlerin en yaygın viral etyolojik ajanları olarak kabul edilmektedir¹. Norovirusun, yüksek gelirli ülkelerde beş yaş altındaki çocuklar arasında yaklaşık 900.000 poliklinik başvurusu ve 64.000 hastaneye yatışı gerektiren gastroenterit olgularına neden olduğu tahmin edilmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde ise, beş yaş altı çocuklar arasındaki şiddetli gastroenterit olgularının ~%12'sinden sorumludur ve her yıl 1.1 milyon çocuğun hastaneye yatışı ile 218.000 çocuğun ölümüne sebep olmaktadır². Çocukların yanında, yaşlılar ve immün sistemi basılanmış hastalarda da morbidite ve mortalite riski yüksektir³. Noroviruslar, enfektif dozun düşük olması (18-1000 virus), cansız yüzeylerdeki kalıcılığı ve geleneksel temizlik yöntemlerine dirençli olmaları ile enterik salgın patojeni olarak ideal özelliklere sahiptir⁴. Norovirus (NoV) salgınları sağlık sistemleri ile turizm ve gıda endüstrisinde büyük bir ekonomik yük ortaya çıkarmaktadır⁵.

Noroviruslar, çıplak, yaklaşık 40 nm büyüklüğünde, ikozahedral yapılı viruslardır. Viral genom, pozitif polariteli, ~ 7.5 kb'lık tek zincirli RNA yapısında olup üç açık okuma bölgesi (ORF1, 2, 3) içermektedir⁶. *Caliciviridae* ailesinde yer alan *Norovirus* cinsinde beş genogrup (GI-GV) yer alır ve bunlar arasında yaklaşık %46 nükleotid farklılığı vardır. İnsanları enfekte eden genogruplar GI (8 genotip), GII (19 genotip) ve GIV olup, dünya genelinde NoV salgınlarının en yaygın (> %85) nedeni GII.4 genotipidir^{7,8}. Son 15 yılda yeni GII.4 varyantları tanımlanmış ve bunların birkaçı salgınların sayısındaki küresel artış ile ilişkilendirilmiştir⁹. Türkiye'de ise NoV prevalansı konusunda yapılmış fazla çalışma ve 2008 yılına kadar bildirilmiş bir NoV salgını bulunmamaktadır. Az sayıda yapılan çalışmalarda, GI ve GII genogrupları saptanmıştır. Ancak, ülkemizde yeterli epidemiyolojik veri bulunmadığı için daha geniş boyutta çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır^{10,11}. Bu çalışma; Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim Araştırma Hastanesi ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine başvuran akut gastroenteritli 0-5 yaş arası çocuklarda norovirus insidansının belirlenmesi ve rotavirus aşısı sonrası NoV görülme sıklığındaki durumun irdelenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Dışkı Örneklerinin Toplanması

Bu retrospektif çalışmaya, Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine Eylül 2004 ile Haziran 2011 tarihleri arasında akut gastroenterit şikayeti (karın ağrısı ve/veya kusma ve/veya ishal) ile başvuran 0-5 yaş arasındaki 413'ü kız, 587'si erkek olmak üzere toplam 1000 hasta dahil edildi. Hastalar;

yaş, cinsiyet, dışkı örneklerinin alındığı yıllar, mevsimler, aylar ve hastalardaki kusma, ishal, parazit ve bakteri varlığı açısından değerlendirildi. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesine ile Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine başvuran hastalar sosyoekonomik açıdan farklılıklar göstermektedir. Bu çalışmadaki çocuklar, hastanede yatan hastalar ve poliklinik hastaları olmak üzere iki gruba ayrıldı. Tüm hastalardan toplanan dışkı örnekleri çalışma zamanına kadar -80°C'de saklandı.

Norovirus Antijeninin Saptanması

Olgulardan alınan dışkı örneklerinde norovirus GI ve GII genogrupları antijen pozitifliği, ELISA yöntemi ile (RIDASCREEN® Norovirus (C1401) 3rd Generation, R-Biopharm, Darmstadt, Almanya) araştırıldı. Kısaca; dışkı örnekleri, ELISA kiti içindeki örnek sulandırma tamponu ile %10 oranında sulandırıldı ve yöntem üreticinin talimatları doğrultusunda uygulandı. Çalışmanın sonunda mikropalak, spektrofotometrede (das Plate Reader, İtalya) 450 nm dalga boyunda okutularak elde edilen optik dansite (OD) sonuçları değerlendirildi. Pozitif kontrol olarak NoV kapsid proteini içeren örnek, negatif kontrol olarak protein tamponlu NaCl solüsyonu (örnek sulandırma tamponu) kullanıldı. Üreticinin talimatlarına göre, negatif kontrol OD < 0.2, pozitif kontrol OD > 0.5 ise testin doğru çalışıldığı kabul edildi. Eşik (cut-off) değer, "negatif kontrol OD+ 0.15" formülü ile hesaplandı. Örneklerin OD değerleri eşik değerinin %10 ve daha fazla üzerinde ise pozitif, altında ise negatif olarak kabul edildi. Kit prospektüsünde, kullanılan yöntemin çapraz reaksiyon göstermediği ve duyarlılığının %80, özgüllüğünün %100 olduğu belirtilmektedir.

Norovirus antijen pozitifliği; yaşa, cinsiyete, yıllara, mevsimlere, aylara ayrılarak ve kusma, ishal, parazitolojik ve bakteriyolojik açıdan değerlendirildi.

Bakteri ve Parazit Etkenlerinin Araştırılması

Hasta örnekleri laboratuvarımıza ulaştığında hiç bekletilmeden parazitolojik ve bakteriyolojik incelemeye alındı. Örnek yetersizliği nedeniyle 838 hasta parazit, 842 hasta ise bakteri açısından değerlendirilebildi. Parazitolojik incelemede, dışkı örnekleri direkt ve lugollü preparat hazırlanarak mikroskopik olarak incelendi. Gerektiğinde (hastanın öyküsü, klinik bulgular, direkt incelemede şüpheli durumlar), dışkı örneklerine amip için trikróm boyama, oksiyür için selofan bant yöntemi uygulandı. Bakteriyolojik inceleme için dışkı örnekleri EMB ve Selenit F besiyerlerine ekildi ve kültürler konvansiyonel yöntemlerle değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel karşılaştırmalarda Pearson ki-kare testi ve beklenen değerinin 5'in altında olduğu durumlarda Fisher'in kesin testi kullanıldı; anlamlılık düzeyi 0.05'e göre değerlendirildi.

Etik Kurul Onayı

Bu çalışma, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı (23.03.2011 tarih ve 21 no'lu karar) ve Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Has-

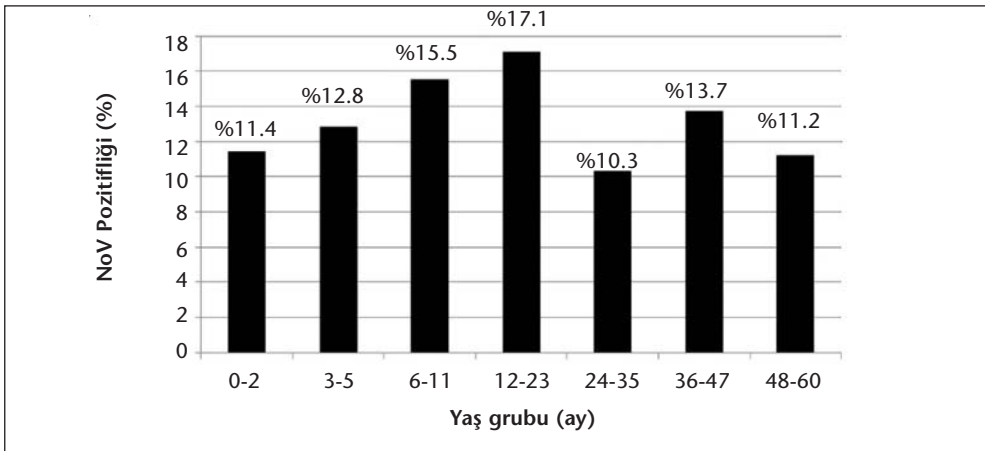
tanesi Eğitim, Planlama ve Koordinasyon Kurulu'ndan (ve 18.01.2012 tarih ve 3744 no'lu karar) alınan onaylar çerçevesinde gerçekleştirildi. Ayrıca, çalışmada kullanılan dışkı örneklerinin ilk toplandığı 2004 yılında bir başka etkenin araştırılması için her iki hastanenin etik kurullarına başvurulmuş; 2005 yılında iki hastaneden de onay alınmış; katılımcıların yasal sorumlularından da, alınan dışkıların çeşitli mikroorganizma incelemeleri için ileride kullanılabileceğine dair bilgilendirilmiş onam alınmıştı.

BULGULAR

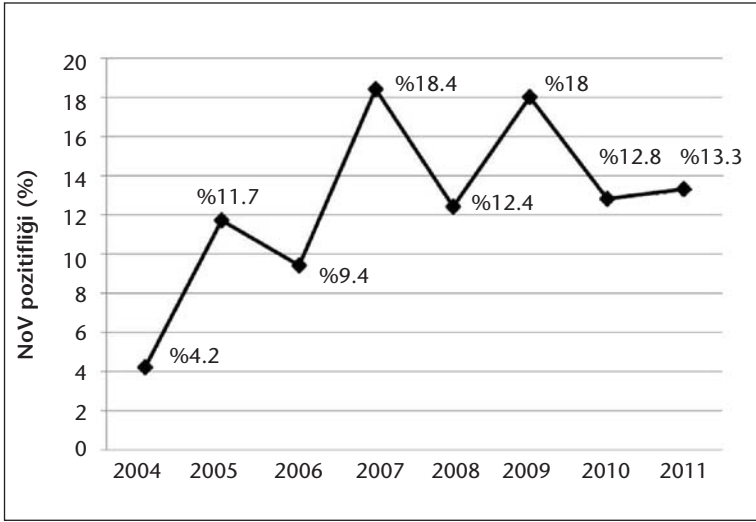
Çalışmamızda, 0-5 yaş arası akut gastroenteritli 1000 çocuğun 141 (%14.1)'inde norovirus (NoV) GI ve GII antijen pozitifliği bulunmuştur. NoV pozitifliği saptanan çocukların en sık 6-11 ay (%15.5) ve 12-23 ay (%17.1) yaş grubunda olduğu izlenmiş; ancak yaş gruplarına göre NoV pozitifliği yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0.05$) (Şekil 1). Norovirus enfeksiyonu olan çocukların 62 (%15)'si kız, 79 (%13.5)'u erkek olup, NoV pozitifliğinin cinsiyetler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediği belirlenmiştir ($p > 0.05$).

Çalışmamızın sonuçları yıllara göre değerlendirildiğinde; en yüksek insidansın 2007 (%18.4; 29/158) ve 2009 (%18; 36/200) yıllarında izlendiği belirlenmiştir (Şekil 2). En düşük pozitiflik ise 2004 yılında (%4.2; 1/24) tespit edilmiş, bu durumun, çalışmanın başladığı Eylül 2004 tarihinden sonra toplanan örnek sayısının az olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Yıllara göre NoV pozitifliği istatistiksel olarak araştırıldığında aralarında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0.05$).

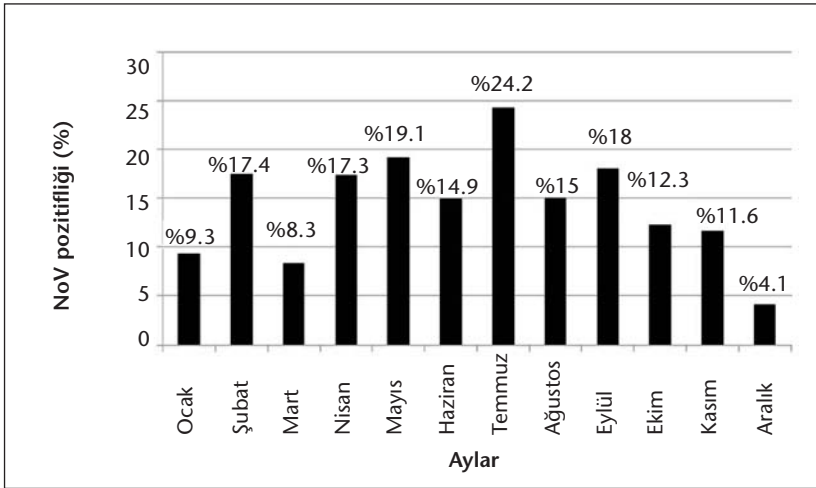
Norovirus enfeksiyonlarının mevsimsel dağılımı incelendiğinde; NoV antijen pozitifliğinin ilkbaharda %13.8 (36/260), yazın %17.7 (37/209), sonbaharda %14.7 (36/245), kışın ise %11.2 (32/286) oranlarında olduğu ve bu oranların istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediği belirlenmiştir ($p > 0.05$). Sonuçların aylara göre incelenmesinde, en yüksek pozitifliğin Temmuz (%24.2; 15/62), en düşük pozitifliğin ise Aralık (%4.1; 3/74)



Şekil 1. Norovirus pozitifliğinin yaş dağılımı (n= 1000).



Şekil 2. Yıllara göre norovirus pozitifliği (n= 1000).



Şekil 3. Norovirus enfeksiyonlarının aylara göre dağılımı (n= 1000).

ayında saptandığı bulunmuştur (Şekil 3). Çalışmamızda sekiz yıllık sürede aylara göre NoV ELISA sonuçları değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuş ($p < 0.05$); bu farkı, temmuz ve aralık aylarının verilerinin birlikte oluşturduğu görülmüştür.

Çalışmamızda, parazit açısından incelenen 838 hastanın 29 (%3.5)'unda pozitiflik tespit edilmiş; bunlardan 28'inin *Entamoeba histolytica*, birinin ise *Enterobius vermicularis* ile enfekte olduğu saptanmıştır. Dışkı örneğinde *E.histolytica* saptanan üç hasta ile *E.vermi-*

cularis saptanan bir hastanın aynı zamanda NoV ELISA pozitif olduğu görülmüş; norovirus ve parazit birlikteliği oranı %3.3 (4/122) olarak hesaplanmıştır. Bakteri açısından incelenen 842 hasta örneğinden hiçbirisinin kültüründe patojen etken ürememiştir. NoV ELISA pozitifliğinin parazit ve bakteri varlığına göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediği saptanmıştır (her ikisi için de; $p > 0.05$).

Norovirus enfeksiyonlarında klinik bulgular değerlendirildiğinde; NoV ELISA pozitif bulunan hastaların tümünde (%100; 141/141) ishal ve yarısında (%51.1; 72/141) kusma şikayeti olduğu belirlenmiştir. Hastalarda ishal ve kusma varlığına göre NoV ELISA pozitifliği yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (her ikisi için de; $p > 0.05$).

TARTIŞMA

Noroviruslar, tüm dünyada su ve besin kaynaklı viral gastroenterit salgınlarının en önemli nedeni olup tüm yaş gruplarını etkilemektedir^{1,2}. Rotavirus aşısının 2006-2007 yıllarında uygulanmaya başlamasından sonra norovirus (NoV) gastroenteritlerinde bir artış olduğu görülmektedir. Literatüre göre, çocuklarda NoV gastroenteritleri, tüm akut gastroenteritlerin ortalama %14'ünden sorumludur^{12,13}. Birçok ülkede gastroenteritli hastaların dışkı örneklerinde NoV antijen testi rutin olarak yapılmadığından, enfeksiyonlardan kaynaklanan sorunların farkına varılamamakta ve gerçek insidans bilinmemektedir.

Norovirus enfeksiyonlarının tanısında, ELISA, ters transkripsiyonlu polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR), gerçek zamanlı RT-PCR (RtRT-PCR) ve elektron mikroskopik inceleme (Transmission electron microscopy; TEM) gibi yöntemler kullanılmaktadır¹⁴. ELISA, dışkı örneklerinde NoV antijeninin saptanmasında yaygın olarak kullanılan hızlı ve pratik bir yöntem olup, çok sayıda örneğin kısa sürede çalışılabilmesine olanak vermektedir. Moleküler yöntemler ise, gerek tanı gerekse genotiplendirme için yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olmakla birlikte, kalifiye eleman gereksinimi ve yüksek maliyet açısından rutin uygulamada zorlayıcı olmaktadır¹⁵⁻¹⁸.

Dışkıda NoV antijen tespiti için çeşitli ELISA testlerinin duyarlılık ve özgüllüklerinin araştırıldığı çalışmalarda, Ridascreen® kitinin en yüksek duyarlılığa sahip olduğu ve gerek sporadik olguların gerekse salgınların tanısında pratik ve güvenilir bir yöntem olarak kullanılabileceği belirtilmiştir^{18,19}. Bu kitin aynı zamanda, dünyada en yaygın görülen iki majör genogrup olan GI ve GII'nin tanımlanmasında da başarılı sonuçlar verdiği ifade edilmiştir^{9,18-20}. Bu verilere dayanılarak, bizim planladığımız retrospektif çalışmada da Ridascreen®-ELISA kiti tercih edilmiştir. Üretici firma (R-Biopharm, Almanya) tarafından bu kitin duyarlılığı %80, özgüllüğü %100 olarak belirtilmekte; çapraz reaksiyon vermediği ve genogrup tanımlamasını başarıyla gerçekleştirdiği ifade edilmektedir. Çalışmamızda, 0-5 yaş arasındaki çocuklardan alınan 1000 dışkı örneğinde saptadığımız %14.1 (141/1000) oranındaki norovirus GI ve GII antijen pozitifliği, literatürdeki benzer çalışmalarda bildirilen oranlarla uyumlu bulunmuştur^{5,12,21,22}.

Ülkemizde de norovirus prevalansı ve tiplendirilmesi ile ilgili az sayıda da olsa çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Altındış ve arkadaşları²², Kasım 2006-Haziran 2007 tarihleri arasında Orta-Batı Anadolu Bölgesi'nde çocuklarda RT-PCR yöntemi ile NoV enfeksiyonu sıklığını araştırmışlar ve %17 (15/88) oranında pozitiflik saptamışlardır. Yapılan dizi analizine göre, suşların çoğu GIIb/Hilversum olarak, birer tanesi de GII.4/2006a ve GII.6 olarak tanımlanmıştır²². 2008 yılının Mayıs ayı sonundan itibaren Aksaray, Şereflikoçhisar, Kırşehir ve Adana'da salgınlar görülmüş ve sırasıyla 7, 4, 25 ve 14 olmak üzere toplam 50 örnek, Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı Viroloji Referans ve Araştırma Laboratuvarına gönderilerek RtRT-PCR ve ELISA testleri yapılmıştır¹⁰. Örneklerin %26 (13/50)'sında ELISA testi ile NoV antijeni saptanmış; bu örneklerden PCR ile çalışılan 40 tanesinin 13 (%33)'ü NoV pozitif bulunmuştur. NoV RNA varlığı saptanan 13 örneğin dokuzu GI, dördü ise GII genogrubu olarak sınıflandırılmıştır¹⁰. Sağlık Bakanlığı 2008 yılında ilk önce Aksaray'da görülen gastroenterit olgularının "Türkiye'deki ilk norovirus salgını" olduğunu resmi olarak açıklamıştır. Bunu takiben 2009 yılında Albayrak ve arkadaşları²³, 11 ayrı ilden toplanan 147 dışkı örneğinde multipleks gerçek zamanlı PCR yöntemi ile viral gastroenterit etkenlerini araştırmışlar; bir yıllık süre içinde en sık tespit edilen etkenin norovirus olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar; Balıkesir, Tokat, Kocaeli, Tunceli, Kastamonu, Ordu ve Sivas illerinden gelen örneklerde, esas etken olarak norovirus GI ve GII genotiplerini ayrı ayrı (GI %18, GII %57) ya da birlikte (%40) tespit ettiklerini rapor etmişlerdir²³. Özkul ve arkadaşlarının¹¹ 2011 yılında İstanbul'da yaptıkları bir çalışmada, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi ve Haseki Hastanesine başvuran ishallerli çocuklardan 238 dışkı örneği toplanmış ve %10.5'inde ELISA ile NoV GII pozitifliği saptanmıştır. Norovirus pozitiflik oranı SYBR Green RtRT-PCR ve prob-kökenli RtRT-PCR yöntemleriyle ise sırasıyla, %15.1 ve %10.9 oranında bulunmuş; suşların %72.2'si GII.4, %5.5'i GII.16, %16.7'si GIIb ve %5.5'i GIIe olarak tanımlanmıştır¹¹. Bizim çalışmamız sekiz yıllık bir süreci içerdiğinden, saptanmış olan %14.1'lik oranın Ankara ili için güvenilir bir veri olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda ayrıca, NoV enfeksiyonlarının cinsiyet, yaş, aylara ve yıllara göre dağılımı gibi çeşitli parametreler ile ilişkisi de değerlendirilmiştir. Norovirus antijen pozitifliği, çalışmaya alınan kız (%15) ve erkek (%13.5) çocuklarda benzer oranlarda saptanmış; cinsiyetler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p > 0.05$). Yaş grupları dikkate alındığında; 0-5 yaş (0-60 ay) arası çocuklarda en yüksek pozitiflik oranı 12-23 ay (%17.1) arasındaki olgularda saptanmış; ancak istatistiksel olarak NoV pozitifliğinin yaş grupları arasında farklılık göstermediği belirlenmiştir ($p > 0.05$) (Şekil 1). Bu bulgu, Oldak ve arkadaşlarının¹² 0-5 yaş arası gastroenteritli 242 olguda, en çok etkilenen yaş grubunu 12-24 aylık çocukların oluşturduğunu bildirdikleri çalışma ile uyum göstermektedir. Bu durum, çocukların yürümeye başladıkları, çevrelerindeki objeler ile ilgilenip, onları tanımak için ağızlarına götürdükleri ve zamanlarının çoğunu çocuk bakımevlerinde geçirdikleri dönem olan 12-24 ay içinde gerçekleşen doğal bir sürecin sonucudur.

Çalışmamızın sonuçları, 2004-2011 yıllarını kapsayan bir sürecin ürünüdür ve yıllara göre NoV ELISA pozitifliği değerlendirildiğinde yıllar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0.05$). Buna rağmen 2007 ve 2009 yıllarında, diğer yıllara oranla daha yüksek pozitiflik (%18) saptanmıştır. Bu durum, 2006-2007 yıllarında rotavirus aşısının uygulanmaya başlanması ve buna bağlı olarak norovirus sıklığının artması şeklinde açıklanabilirse de, daha önceki yıllarda saptanan düşük yüzdeleri açıklayamamaktadır. NoV pozitiflik oranının 2004 yılında en az (%4.2) tespit edilmesi ise, toplanan örneklerin tüm yılı değil, eylül-aralık aylarını kapsamış olmasından kaynaklanmaktadır. Norovirus enfeksiyonlarının mevsimsel dağılımı incelendiğinde; en yüksek prevalansın yaz aylarında görüldüğü, ancak mevsimler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir (ilkbahar: %13.8, yaz: %17.7, sonbahar: %14.7, kış: %11.2; $p > 0.05$). Buna karşın, aylara göre NoV ELISA sonuçları değerlendirildiğinde, istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edilmiş ($p < 0.05$); bu farkı, en fazla NoV pozitifliği saptanan temmuz ayı (%24.2) ile en az NoV pozitifliği saptanan aralık (%4.1) ayının birlikte oluşturduğu izlenmiştir. Yapılan çalışmalarda, her ne kadar norovirus enfeksiyonlarının daha ziyade kış mevsimi ve ilkbaharın ilk aylarında daha yüksek oranlarda görüldüğü ifade edilmekteyse de, diğer bazı çalışmalarda yaz mevsiminde de enfeksiyon sıklığının yükseldiği, hatta mevsimsel bir dağılım göstermeksizin yılın her döneminde benzer oranlarda görülebileceği vurgulanmaktadır^{13,21,23,24}.

Norovirus enfeksiyonlarında görülen en önemli klinik belirtiler kusma ve ishaldir⁴. Çalışmamızda, NoV antijeni saptanan 141 hastanın tümünde ishal, %51.1'inde ise kusma mevcuttur. Çocuklardan oluşan hastalarımızın yarısına yakın kısmında (%49) kusmanın saptanmaması, bu bulgunun -en azından küçük çocuklarda- mutlaka olması gereken bir belirti olmadığını düşündürmektedir.

Çalışmamızda, norovirus enfeksiyonuna eşlik eden koenfeksiyon varlığının araştırılması amacıyla, akut gastroenteritli çocukların dışkı örneklerinde parazitolojik ve bakteriyo-lojik incelemeler de yapılmıştır. Hastaların 28'inde *E.histolytica*, birinde *E.vermicularis* olmak üzere 29 (%3.5)'unda pozitiflik saptanmış; bu olgulardan 4 (%3.3)'ünde NoV ile parazit koenfeksiyonu olduğu izlenmiştir. Buna karşın hastalarımızın hiçbirinde bakteriyel bir patojen tespit edilmemiştir. Nitekim bir gastroenterit salgınında etkenin norovirus olduğunun düşünülmesinden önce dikkate alınması gereken kriterlerden biri dışkıda bakteriyel patojenin olmamasıdır²⁵.

Tüm yaş gruplarını etkileyen noroviruslar, küreselleşen dünyada giderek artan sıklıkta sporadik ve epidemik viral gastroenterit etkenleri olarak karşımıza çıkmaktadır. İleriki yıllarda, rotavirus aşısının kullanımının yaygınlaşmasıyla, norovirus enfeksiyonlarının görece olarak artacağı öngörülmektedir. Moleküler yöntemlerin, tanı ve genotiplendirmede üstünlüğü tartışmasız olmakla birlikte, dışkıda antijen tespitine yönelik üçüncü kuşak ELISA kitleri pratik ve ekonomik bir yöntem olarak rutinde uygulanabilirliğini sürdürmektedir. Sonuç olarak, ülkemizde viral gastroenterit şüpheli olguların ayırıcı tanısında ya da salgınlarda, dışkı örneklerinin norovirus antijen varlığı yönünden rutin olarak araştırılma-

sının uygun olacağı düşünülmüştür. Ayrıca, bu çalışma ile Ankara ilinde sekiz yıllık süreçte akut gastroenteritli 0-5 yaş grubu çocuklarda %14.1 olarak saptanan norovirus genogrup I ve II pozitiflik oranının, ülkemiz epidemiyolojik verilerine katkıda bulunacağı umulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Thornton AC, Jennings-Conklin KS, McCormick MI. Noroviruses: agents in outbreaks of acute gastroenteritis. *Disaster Manag Response* 2004; 2(1): 4-9.
2. Patel MM, Widdowson MA, Glass RI, Akazawa K, Vinje J, Parashar UD. Systematic literature review of role of noroviruses in sporadic gastroenteritis. *Emerg Infect Dis* 2008; 14(8): 1224-31.
3. Donaldson EF, Lindesmith LC, Lobue AD, Baric RS. Norovirus pathogenesis: mechanisms of persistence and immune evasion in human populations. *Immunol Rev* 2008; 225: 190-211.
4. Koo HL, Ajami N, Atmar RL, Dupont HL. Noroviruses: the principal cause of foodborne disease worldwide. *Discov Med* 2010; 10(50): 61-70.
5. Mladenova Z, Korsun N, Geonova T, et al. Prevalence and molecular epidemiology of noroviruses detected in outbreak and sporadic cases of acute gastroenteritis in Bulgaria. *J Med Virol* 2008; 80(12): 2161-8.
6. Zeng D, Ando T, Fankhauser RL, Beard RS, Glass RI, Monroe SS. Norovirus classification and proposed strain nomenclature. *Virology* 2006; 346(2): 312-23.
7. Bull RA, White PA. Mechanisms of GII.4 norovirus evolution. *Trends Microbiol* 2011; 19(5): 233-40.
8. Marshall JA, Bruggink LD. The dynamics of norovirus outbreak epidemics: recent insights. *Int J Environ Res Public Health* 2011; 8(4): 1141-9.
9. Vega E, Barclay L, Gregoricus N, Williams K, Lee D, Vinje J. Novel surveillance network for norovirus gastroenteritis outbreaks, United States. *Emerg Infect Dis* 2011; 17(8): 1389-95.
10. Uyar Y, Çarhan A, Özkaya E, Ertek M. Türkiye’de 2008 yılında ortaya çıkan ilk norovirus salgınının laboratuvar sonuçlarının değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul* 2008; 42(4): 607-15.
11. Ozkul AA, Kocazeybek BS, Turan N, et al. Frequency and phylogeny of norovirus in diarrheic children in Istanbul, Turkey. *J Clin Virol* 2011; 51(3): 160-4.
12. Oldak E, Sulik A, Rozkiewicz D, Liwoch-Nienartowicz N. Norovirus infections in children under 5 years of age hospitalized due to the acute viral gastroenteritis in northeastern Poland. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012; 31(4): 417-22.
13. Oldak E, Sulik A, Rozkiewicz D, Liwoch-Nienartowicz N, Zawadzka E. Norovirus and Rotavirus- two major causative agents of sporadic viral gastroenteritis in hospitalized Polish children. *Adv Med Sci* 2009; 54(2): 183-6.
14. Rabenau HF, Stürmer M, Buxbaum S, Walczok A, Preiser W, Doerr HW. Laboratory diagnosis of norovirus: which method is the best? *Intervirology* 2003; 46(4): 232-8.
15. Parashar UD, Monroe SS. Norwalk-like viruses as a cause of foodborne disease outbreaks. *Rev Med Virol* 2001; 11(4): 243-52.
16. Gunson RN, Miller J, Carman WF. Comparison of real-time PCR and EIA for the detection of outbreaks of acute gastroenteritis caused by norovirus. *Commun Dis Public Health* 2003; 6(4): 297-9.
17. Kurokawa M, Ono K, Ishiyama S, Rai SK. Evaluation of rapid diagnostic methods for pediatric viral diarrhea using samples collected in Nepal and Japan. *Nepal Med Coll J* 2004; 6(2): 78-82.
18. Castriciano S, Luinstra K, Petrich A, et al. Comparison of the RIDASCREEN norovirus enzyme immunoassay to IDEIA NLV GI/GII by testing stools also assayed by RT-PCR and electron microscopy. *J Virol Methods* 2007; 141(2): 216-9.
19. Morillo SG, Luchs A, Cilli A, et al. Norovirus 3rd Generation kit: an improvement for rapid diagnosis of sporadic gastroenteritis cases and valuable for outbreak detection. *J Virol Methods* 2011; 173(1): 13-6.

20. Gray JJ, Kohli E, Ruggeri FM, et al. European multicenter evaluation of commercial enzyme immunoassays for detecting norovirus antigen in fecal samples. *Clin Vaccine Immunol* 2007; 14(10): 1349-55.
21. Kele B, Abrok MP, Deak J. Sporadic norovirus infections among hospitalized and non-hospitalized 0-3-year-old infants. *Scand J Infect Dis* 2009; 41(1): 67-9.
22. Altindis M, Banyai K, Kalayci R, et al. Frequency of norovirus in stool samples from hospitalized children due to the acute gastroenteritis in Anatolia, Turkey, 2006-2007. *Scand J Infect Dis* 2009; 41(9): 685-8.
23. Albayrak N, Yağcı Çağlayık D, Altaş AB, Korukluoğlu G, Ertek M. 2009 yılı akut viral gastroenterit verilerinin değerlendirilmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg* 2011; 68(1): 9-15.
24. O'Ryan ML, Peña A, Vergara R, et al. Prospective characterization of norovirus compared with rotavirus acute diarrhea episodes in Chilean children. *Pediatr Infect Dis J* 2010; 29(9): 855-9.
25. Said MA, Perl TM, Sears CL. Healthcare epidemiology: gastrointestinal flu: norovirus in health care and long-term care facilities. *Clin Infect Dis* 2008; 47(9): 1202-8.