



**0-5 YAŞ ARASI ÇOCUKLARDA ÇEŞİTLİ YÖNTEMLERLE
ADENOVİRÜS VARLIĞININ GÖSTERİLMESİ VE ADENOVİRÜS 40/41
DIŞINDAKİ GASTROENTERİT ETKENİ SEROTİPLERİN DNA DİZİ
ANALİZİ İLE BELİRLENMESİ, GENOTİP TAYİNİ VE FİLOGENETİK
ANALİZİ**

Meryem ÇOLAK

DOKTORA TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

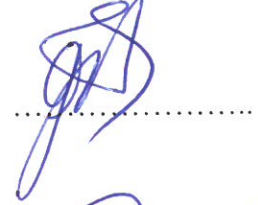
HAZİRAN 2015

Meryem ÇOLAK tarafından hazırlanan “0-5 yaş arası çocuklarda çeşitli yöntemlerle Adenovirüs varlığının gösterilmesi ve Adenovirüs 40/41 dışındaki gastroenterit etkeni serotiplerin DNA dizi analizi ile belirlenmesi, genotip tayini ve filogenetik analizi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Gülendamar BOZDAYI

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

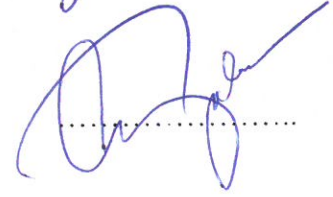
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Başkan: Prof. Dr. Meltem YALINAY ÇIRAK

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye: Prof. Dr. Aydın KARAARSLAN

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

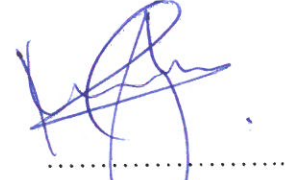
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye: Prof. Dr. Kayhan ÇAĞLAR

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

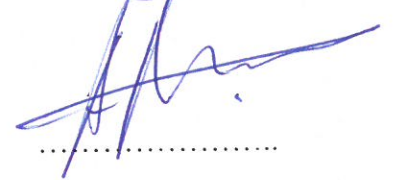
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye: Prof. Dr. Ahmet PINAR

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Tez Savunma Tarihi: 29/06/2015

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Doktora Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....
Doç. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Meryem ÇOLAK

29.06.2015

0-5 YAŞ ARASI ÇOCUKLARDA ÇEŞİTLİ YÖNTEMLERLE ADENOVİRÜS
VARLIĞININ GÖSTERİLMESİ VE ADENOVİRÜS 40/41 DIŞINDAKİ
GASTROENTERİT ETKENİ SEROTİPLERİN DNA DİZİ ANALİZİ İLE
BELİRLENMESİ, GENOTİP TAYİNİ VE FİLOGENETİK ANALİZİ

(Doktora Tezi)

Meryem ÇOLAK

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2015

ÖZET

Bu çalışmada, adenovirüsün sıklığının belirlenmesi, klinik bulgularına, yaş gruplarına, aylara ve mevsimlere göre dağılımının incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışma, Temmuz 2007 ile Haziran 2011 tarihleri arasında akut gastroenterit şikayeti ile Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne başvuran 0-5 yaş arasındaki 180 hastanın gaita örnekleri ile gerçekleştirilmiştir. Gaita örnekleri immünokromatografik yöntem, EIA ve PZR ile analiz edilmiştir. Örneklerin 9'u (%5) immünokromatografik yöntemle; 11'i (%6.1) EIA; 25'i (%13.9) PZR ile pozitif bulunmuştur. Adenovirüs gastroenteritinin yaş grubu, cinsiyet, ay ve mevsim açısından fark göstermediği tespit edilmiştir. Adenovirüs gastroenteriti yaşayan çocuklarda günlük ishal sayısının 6 ve üzeri olduğu görülmüştür. PZR ile kıyaslandığında immünokromatografik yöntemin duyarlılığı %36, özgüllüğü %100, PPD %100 ve NPD %90.6; EIA testinin duyarlılığı %44, özgüllüğü %100, PPD %100 ve NPD %91.7 olarak tespit edilmiştir. PZR ile adenovirüs pozitifliği bulunan 25 örneğin 16'sı (%64) AdV41; 6'sı (%24) AdV40, 2'si (%8) AdV31, 1 tanesi (%4) AdV7 pozitif bulunmuştur. Çalışmamız sonucunda AdV40/41 yanı sıra AdV31 ve AdV7 serotiplerinin de gastroenteritle ilişkili olabileceği gösterilmiştir. En yüksek bulunan adenovirüs serotipi %64 ile AdV41 olmuştur. Bu çalışma ile enterik adenovirüslerin genotiplendirilmesi ve filogenetik analizi ülkemizde ilk kez yapılmıştır. Adenovirüs serotipleri %80 (20/25) oranında Asya, %20 (5/25) oranında Amerika kıtasındaki genotipler ile benzerlik göstermiştir. Bizim çalışmamızda tespit edilen adenovirüs serotiplerinin Asya serotipleri ile yakın ilişkili olduğu görülmüş; ancak, AdV31'e ait örnekler Amerika Birleşik Devletleri (ABD) kaynaklı serotipler ile benzerlik göstermiştir.

Bilim Kodu	1039.1.142
Anahtar Kelimeler	Adenovirüs, PZR, genotip, filogenetik
Sayfa Adedi	102
Danışman	Prof. Dr. Gülendam BOZDAYI

DEMONSTRATION OF ADENOVIRUS BY VARIOUS METHODS IN CHILDREN
BETWEEN 0-5 YEARS OLD AND DETERMINATION OF VIRAL
GASTROENTERITIS AGENT SEROTYPES EXCEPT ADENOVIRUS SEROTYPE
40/41 BY DNA SEQUENCING, GENOTYPING AND PHYLOGENETIC ANALYSIS

(Ph. D. Thesis)

Meryem ÇOLAK

GAZİ UNIVERSITY

INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

June 2015

ABSTRACT

We aimed to determine the frequency of adenovirus in children between 0-5 years old and investigate the distribution according to clinical findings, age groups, months and seasons. Stool samples were obtained from 180 children of 0-5 years old with acute gastroenteritis attended between July 2007-June 2011 to the Ankara Training and Education Hospital. Stool samples were analyzed by immunochromatographic method, EIA and PCR. The samples were found to be positive 5%(9/180) by immunochromatographic method; 6.1%(11/180) by EIA; 13.9%(25/180) by PCR. Adenovirus gastroenteritis positivity did not show any difference in age, gender, month and season. Children that seen adenovirus gastroenteritis daily diarrhoea were found to be 6 and above were observed. Compared to PCR, the sensitivity of the immunochromatographic method was 36% and specificity, PPV, NPV was 100%, 100%, 90.6%; EIA test sensitivity was 44%, specificity, PPV, NPV was 100%, 100%, 91.7% respectively. 25 samples were found to be positive by PCR, 16(64%) for positive AdV41; 6(24%) for positive AdV40, 2(8%) for positive AdV31, 1(4%) for positive AdV7. Our study reveals that AdV31 and AdV7 can be associated with gastroenteritis with AdV40/41 serotypes. Highest frequency of adenovirus serotypes was 64% with AdV41. In this study, genotyping and phylogenetic analysis of enteric adenoviruses have been made for the first time in our country. Adenovirus serotypes showed similarity with Asian and American serotypes 80%(20/25) and 20%(5/25) respectively. Adenovirus serotypes that detected in our study were in concordance with Asian serotypes; however, samples which detected as AdV31 showed similarity with United States of America.

Science Code	1039.1.142
Key Words	Adenovirus, PCR, genotype, phylogenetic
Page Number	102
Supervisor	Prof. Dr. Gülendem BOZDAYI

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca bilimsel katkıları, değerli görüş, öneri, deneyimleri ile yönlendirici ve yol gösterici olan, maddi manevi yardımlarını hep yanımda hissettiğim değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Gülendam BOZDAYI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez İzleme Komitesinde bulunan hocalarım; Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Meltem YALINAY ÇIRAK'a ve Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Ahmet PINAR'a bilimsel katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Doktora eğitimim boyunca bilgileri ile bana yol gösteren Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyelerinden Prof. Dr. Nedim SULTAN'a, Prof. Dr. Kayhan ÇAĞLAR'a, Prof. Dr. Ayşe KALKANCI'ya ve danışman hocam Prof. Dr. Gülendam BOZDAYI'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca ihtiyaç duyduğum anlarda değerli yardımlarını gördüğüm hocalarım; Japonya Oita Üniversitesinden Prof. Dr. Kamruddin AHMED'e ve Gazi Üniversitesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Seçil ÖZKAN'a teşekkür ederim.

Çalışmada kullanılan örneklerin toplanmasında ve tez çalışmamın her aşamasında yardımcı olan doktorant arkadaşım Aylin ALTAY'a; REFGEN Gen Araştırmaları ve Biyoteknoloji Laboratuvarı çalışanlarına ve tüm Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarında çalışan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatımın her anında olduğu gibi, tez çalışmam boyunca da anlayışları, sevgileri ve sabırlarıyla beni destekleyen değerli anneme, babama, her zaman yanımda olan eşim Dr. Mehmet ÇOLAK'a ve özellikle sabrından dolayı canım oğlum Yusuf Furkan'a da teşekkürü borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Tarihçe	5
2.2. Sınıflandırma	6
2.3. Adenovirüsün Yapısı ve Proteinleri	8
2.4. Adenovirüsün Replikasyonu	12
2.4.1. Adenovirüslerin hücre içine girişi	12
2.4.2. Adenoviral replikasyon	14
2.5. Adenovirüsün Patogenezi	16
2.6. Adenovirüs Enfeksiyonlarında İmmün Yanıt	18
2.7. Adenovirüs Enfeksiyonlarında Klinik Bulgular	19
2.7.1. Solunum hastalıkları	20
2.7.2. Göz enfeksiyonları	20
2.7.3. Gastrointestinal sistem hastalıkları	21
2.7.4. Diğer hastalıklar	22
2.8. Adenovirüs Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi	22
2.9. Adenovirüsün Bulaş Yolları	24
2.10. Adenovirüs Enfeksiyonlarında Tanı	25
2.10.1. Adenovirüs Enfeksiyonlarının Tanısında Kullanılan Yöntemler	26
2.11. Adenovirüs Enfeksiyonlarında Tedavi	30

	Sayfa
2.11.1. Gen tedavisinde adenoviral vektörler	31
2.12. Adenovirüs Enfeksiyonlarından Korunma.....	32
2.13. Adenovirüs Aşısı.....	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	33
3.1. Dışkı Örneklerinin Toplanması.....	33
3.2. Laboratuvar Araç ve Gereçleri	33
3.3. Adenovirüs Antijeninin İmmünokromatografik Yöntem İle Saptanması.....	34
3.4. Adenovirüs Antijeninin Enzim-Immunoassay Testi İle Saptanması	36
3.5. Adenovirüsün Moleküler Analiz İle Saptanması	39
3.5.1. DNA ekstraksiyon yöntemi	40
3.5.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)	42
3.5.3. Adenovirüs pozitif DNA örneklerinin agaroz jel elektroforezi.....	43
3.5.4. Adenovirüs pozitif DNA örneklerinin dizi analizi	44
3.5.5. Adenovirüs tiplerinin filogenetik analizi	45
3.6. Klinik Veriler	46
3.7. İstatistiksel Analiz	46
4. BULGULAR.....	47
4.1. İmmünokromatografik Yöntem Sonuçları	48
4.2. Enzim-Immünoassay (EIA) Sonuçları	54
4.3. Moleküler Analizler	59
4.4. Klinik Bulgular.....	72
4.5. Adenovirüs Tanısında Kullanılan Yöntemlerin Karşılaştırılması.....	74
5. TARTIŞMA	77
6. SONUÇ	87
KAYNAKLAR.....	89
EKLER.....	99
EK-1. Etik Kurul Onayı.....	100
ÖZGEÇMİŞ	102

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Adenovirüslerin sınıflandırılması	6
Çizelge 2.2. İnsan adenovirüslerinin özellikleri (Echavarría, 2008.)	8
Çizelge 2.3. Adenovirüs enfeksiyonları ve en sık görülen serotipler (Murray ve diğerleri, 2013: 454, 460)	23
Çizelge 3.1. Termal cycler programı	42
Çizelge 4.1. Çalışmaya dahil edilen çocukların yaş gruplarına göre dağılımı (n=180)	47
Çizelge 4.2. Adenovirüs pozitif hastaların yaş gruplarına göre dağılımı (İmmünokromatografik yöntem sonucuna göre) (n=9)	49
Çizelge 4.3. Adenovirüs pozitif ve negatif hastalarda yaş verisi (İmmünokromatografik yöntem sonucuna göre)	49
Çizelge 4.4. Cinsiyetlere göre hastaların dağılımı (İmmünokromatografik yöntem sonucuna göre) (n=180)	50
Çizelge 4.5. İmmünokromatografik yöntemle göre adenovirüs pozitif hastaların cinsiyete göre dağılımı (n=9)	50
Çizelge 4.6. Yıllara göre Adenovirüs immünokromatografik yöntem sonuçlarının dağılımı (n=180)	51
Çizelge 4.7. Adenovirüs immünokromatografik yöntem sonuçlarının aylara göre dağılımı	52
Çizelge 4.8. Adenovirüs immünokromatografik yöntem sonuçlarının mevsimlere göre dağılımı	53
Çizelge 4.9. EIA pozitif hastaların yaş gruplarına göre dağılımı (n=11)	55
Çizelge 4.10. Adenovirüs pozitif ve negatif hastalarda yaş verisi (EIA sonucuna göre)	55
Çizelge 4.11. Cinsiyetlere göre hastaların dağılımı (EIA sonucuna göre) (n=180)	56
Çizelge 4.12. EIA testi pozitif hastaların cinsiyete göre dağılımı (n=11)	56

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.13. Yıllara göre Adenovirüs EIA testi sonuçlarının dağılımı (n=180).....	57
Çizelge 4.14. Adenovirüs EIA sonuçlarının aylara göre dağılımı	58
Çizelge 4.15. Adenovirüs EIA sonuçlarının mevsimlere göre dağılımı	58
Çizelge 4.16. PZR pozitif hastaların yaş gruplarına göre dağılımı (n=25).....	60
Çizelge 4.17. Adenovirüs pozitif ve negatif hastalarda yaş verisi (PZR sonucuna göre)	61
Çizelge 4.18. Cinsiyetlere göre hastaların dağılımı (PZR sonucuna göre) (n=180).....	61
Çizelge 4.19. PZR testi pozitif hastaların cinsiyete göre dağılımı (n=25).....	62
Çizelge 4.20. Yıllara göre Adenovirüs PZR testi sonuçlarının dağılımı (n=180).	62
Çizelge 4.21. Adenovirüs PZR sonuçlarının aylara göre dağılımı	63
Çizelge 4.22. Adenovirüs PZR sonuçlarının mevsimlere göre dağılımı	64
Çizelge 4.23. Dizi analizi sonucunda elde edilen diziler	66
Çizelge 4.24. Çalışmaya dahil edilen çocuklarda ishal ve kusma görülme oranları.....	72
Çizelge 4.25. Çalışmaya dahil edilen çocuklarda günlük ishal sayısı ve kusma görülme oranları (n=180).....	72
Çizelge 4.26. Adenovirüs PZR sonucuna göre hastalarda kusma görülme oranları.....	73
Çizelge 4.27. Adenovirüs PZR sonucuna göre hastalarda kusma sayısı	73
Çizelge 4.28. Adenovirüs PZR sonucuna göre hastalarda ishal sayısı	74
Çizelge 4.29. Adenovirüs tanısında kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması	74
Çizelge 4.30. İmmünokromatografik yöntem ile PZR karşılaştırılması	75
Çizelge 4.31. İmmünokromatografik yöntem ile EIA karşılaştırılması.....	75
Çizelge 4.32. EIA testinin PZR ile karşılaştırılması	75

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Adenovirüs grupları ve serotipleri	7
Şekil 2.2. Adenovirüsün şematik görünümü (Rein, Breidenbach ve Curiel, 2006).....	9
Şekil 2.3. Adenovirüsün yapısı ve proteinleri (Russell, 2009)	10
Şekil 2.4. Adenovirüsün CAR reseptörüne tutunması (Bru ve diğerleri, 2010).....	13
Şekil 2.5. Adenovirüsün replikasyonu (Flint ve diğerleri, 2000: 595, 598)	14
Şekil 2.6. Mastadenovirüs genom organizasyonu (Benko ve diğerleri, 2005: 213).....	15
Şekil 2.7. Adenovirüsün yayılım mekanizması (Murray ve diğerleri, 2013: 457)	17
Şekil 2.8. Adenovirüs enfeksiyonunda sitokin salınımı (Kotha ve diğerleri, 2015).....	18
Şekil 2.9. Adenovirüs enfeksiyonlarının klinik seyri (Murray ve diğerleri, 2013: 458)	19
Şekil 4.1. Adenovirüs pozitif ve negatif örneklerin dağılımı (İmmünokromatografik yöntem sonucuna göre).....	48
Şekil 4.2. Adenovirüs enfeksiyonlarının mevsimlere göre dağılımı (İmmünokromatografik yöntem sonuçlarına göre) (n=9)	53
Şekil 4.3. Adenovirüs pozitif ve negatif örneklerin dağılımı (EIA sonucuna göre)	54
Şekil 4.4. Adenovirüs enfeksiyonlarının mevsimlere göre dağılımı (EIA sonuçlarına göre) (n=11)	59
Şekil 4.5. Adenovirüs pozitif ve negatif örneklerin dağılımı (PZR sonucuna göre)	60
Şekil 4.6. Adenovirüs sonuçlarının aylara göre dağılımı (PZR sonucuna göre)	64
Şekil 4.7. Adenovirüs enfeksiyonlarının mevsimlere göre dağılımı (PZR sonuçlarına göre) (n=25)	65
Şekil 4.8. Adenovirüs genotiplendirme sonuçları.....	66

Şekil	Sayfa
Şekil 4.9. Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz adenovirüslerin filogenetik ağacı.....	70
Şekil 4.10. Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz adenovirüslerin filogenetik ağacı (dairesel görünüm)	71

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. a) AdV 41'e ait EM görüntüsü (b) Uzun fiberler (c) Kısa fiberler (Favier ve diğerleri, 2002)	11
Resim 2.2. Bronş epitelinde inklüzyon cisimciklerinin görünümü (smudge cell) (Sürmeli ve diğerleri, 2012)	26
Resim 2.3. Adenovirüsün EM'deki morfolojisi (Favier ve diğerleri, 2002).	27
Resim 3.1. VIKIA® Rota-Adeno kiti (bioMérieux, Fransa) içindikiler	35
Resim 3.2. İmmünokromatagrafik test ile adenovirüs pozitif sonucun görünümü	36
Resim 3.3. Adenoscreen®EIA kiti (Microgen Bioproduct, Birleşik Krallık) içindikiler	37
Resim 3.4. Enzim-Immunoassay mikroplağındaki renk değişiminin görünümü	39
Resim 3.5. QIAamp® Viral RNA Kiti (QIAGEN, Almanya) içindikiler.....	40
Resim 4.1. Agaroz jel görüntüsü.....	65

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
°C	Santigrat (Celcius) derece
P	Olasılık (Ki kare testinde)
X ²	Önemlilik testi
Kısaltmalar	Açıklamalar
AdV40	Adenovirüs serotip 40
AdV41	Adenovirüs serotip 41
BOS	Beyin omurilik sıvısı
CAR	Coxsackievirus-adenovirus receptor
DNA	Deoksiribonükleikasit
EAdV	Enterik adenovirüs
EIA	Enzim Immunoassay
EM	Elektron mikroskopi
HAdV	İnsan adenovirüsleri
LA	Lateks aglütinasyon
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
NPD	Negatif produktif değer
PPD	Pozitif produktif değer
pmol	Pikomol
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RNA	Ribonükleikasit

1. GİRİŞ

Gastroenterit çeşitli etmenler tarafından oluşturulan (virüs, bakteri, parazit, toksin vs.) bulantı, kusma ve ishal kliniği gösteren gastrointestinal sistem enfeksiyonudur. Gastroenteritler kliniğine göre akut veya kronik, invaziv ve noninvaziv enfeksiyon olarak sınıflandırılmaktadırlar.

İnvaziv gastroenteritler, genellikle bakteriyel veya paraziter olup barsak mukozasında invazyona neden olur. Ateş, karın ağrısı ve kanlı dışkılama görülür. Noninvaziv enfeksiyonlarda ise klinik daha hafif seyirlidir, çoğunlukla virüslerin ve bakteri toksinlerinin neden olduğu gastroenteritlerdir.

Akut ishal genellikle iki haftadan daha az sürer ve çoğunlukla bakteriyel ve viral etmenlerin neden olduğu gastroenterit tablolarında görülürken; kronik ishal iki haftadan uzun sürmektedir. İki haftadan uzun süren gastroenteritler inflamatuvar barsak hastalıkları açısından değerlendirilmelidir.

Akut gastroenterit tüm dünyada beş yaş altı çocuklarda ölümlerin yaklaşık %9'una neden olmaktadır. Her yıl 0-5 yaş arası çocuklarda yaklaşık 1 milyar diyare olgusu meydana gelmekte ve 700 000'in üzerinde ölüme yol açmaktadır (Dünya Sağlık Örgütü, 2015). Gelişmekte olan ülkelerde enfeksiyöz diyareler viral üst solunum yolu hastalıklarından sonra ikinci sıklıkta görülmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde gastroenteritlerde bakteriyel ajanlar ön planda olduğundan viral etkenlere dayalı gastroenteritlerin önemi fazla irdelenmemektedir. Viral etkenler ise hem gelişmiş, hem de gelişmekte olan ülkelerde, özellikle yeni doğan ve erken çocukluk dönemindeki gastroenteritlerin önemli etkenleri arasındadır (Soli ve diğerleri, 2014).

0-5 yaş arası çocuklarda viral gastroenteritlerin en sık etkeni rotavirüsler olmakla birlikte, enterik adenovirüsler, astrovirüsler, pikornavirüsler, togavirüsler, aichivirüsler, bufavirüsler ve calicivirüsler (norovirüsler) de gastroenterite neden olan viral etkenlerdir. Adenovirüsler, 0-5 yaş arası çocuklardaki gastroenterit olgularının %5-15'inden sorumludur. Adenovirüs tip 40 ve 41 çoğunlukta olmak üzere tip 2 ve 31 akut gastroenterit sebebidir (Chhabra ve diğerleri, 2013; Wilhelmi, Roman ve Sánchez-Fauquier, 2003).

Adenovirüs kaynaklı enfeksiyonlar; özellikle küçük çocuklarda görülen akut febril farenjit ve gastroenterit, yüzme havuzu kaynaklı faringokonjunktival ateş, askeri birliklerde akut solunum yolu hastalığı epidemileri, bronşit, pnömoni ve özellikle erkek çocuklarda hemorajik sistit olarak ortaya çıkmaktadır. Adenovirüse bağlı enfeksiyonlar tüm yıl boyunca ve her yaşta görülebilmektedir (Us ve Ergünay, 2012: 177, 215).

Adenovirüsler; moleküler biyolojinin de çalışma alanını oluşturmuşlardır. Lenfoid hücrelerde latent, epitel hücrelerde litik enfeksiyon oluşturabilmeleri, hayvanlarda tümör meydana getirebilme ve hücre kültürlerinde transformasyona neden olabilmeleri nedeniyle ilgi çekicidirler. Adenovirüs hekson proteini gen analizi; intronların keşfedilmesini ve intronlar çıkarıldıktan sonra tekrar birleştirilmesi (splicing-uç birleştirme) işleminin anlaşılmasını sağlamıştır. Adenovirüslerin hazırlanmalarının ve saflaştırılmalarının kolay olması nedeniyle sıklıkla gen tedavilerinde vektör olarak kullanılmaktadırlar (Zhao, Chen ve Pettersson, 2014).

Adenovirüslerin hücre kültürlerinde üretilmesi zaman alıcı ve teknik olarak elverişsiz olduğundan tanıda güçlükler yaşanmaktadır. Adenovirüs antijenleri, grup reaktif poliklonal ya da monoklonal antikorlar kullanılarak gösterilebilir. Gaita örneğinde hem grup spesifik (hekson antijeni), hem de tip spesifik (tip 40 ve 41) antijenler çeşitli yöntemler ile tespit edilebilmektedir (Murray, Rosenthal ve Pfaller, 2013: 454, 460).

Gastroenterit virüslerinin tanısında, lateks aglütinasyon (LA), EIA, ELISA, immünokromatografik yöntem, histopatolojik inceleme, elektron mikroskopi (EM), immün EM, hücre kültürü ve polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) kullanılmaktadır (Jawetz, Melnick ve Adelberg, 2010: 419, 426; Murray ve diğerleri, 2013: 454, 460).

Laboratuvar imkânlarının yetersiz oluşu, personel sıkıntısı gibi ekonomik sebeplerden dolayı tüm gastroenteritlere tetkik yapılamamakta ve ülkemizdeki enterik adenovirüs enfeksiyonlarının epidemiyolojisi çok iyi bilinmemektedir. Ayrıca viral gastroenteritlerin tedavisi dehidratasyonu önlemeye yönelik olduğundan ayırıcı tanı ve etkenin belirlenmesi, çocuklarda gereksiz yere antibiyotik kullanılmasının engellenmesi açısından oldukça önemlidir.

Bu çalışmada, 0-5 yaş arası çocuklarda viral gastroenterit etkenlerinden adenovirüsün sıklığının belirlenmesi, klinik bulgularına, yaş gruplarına, aylara ve mevsimlere göre dağılımının incelenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca gaita örnekleri immünokromatografik hızlı tanı testi, EIA ve PZR ile incelenmiş, adenovirüs tanısında kullanılan bu yöntemler birbirleri ile de karşılaştırılarak yöntemlerin birbirlerine üstünlüklerinin de tartışılması amaçlanmıştır. Hekzon gen bölgesine özgü primerler kullanılarak PZR'u yapılan örneklerde DNA dizi analizi yapılmış, adenovirüs tiplerinin (40-41) doğrulanması ve adenovirüs serotip 40 ve 41 dışında gastroenterit etkeni olan serotiplerin tespit edilerek filogenetik analizi yapılması ve şhremizde tespit ettiğimiz adenovirüslerin bölgesel bulunuşlarının değerlendirilmesi de hedeflenmiştir. Bu alışma ile enterik adenovirüslerin filogenetik analizi ülkemizde ilk kez yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Adenovirüsler ilk kez 1950'li yılların başında iki farklı araştırma grubu tarafından tanımlanmıştır. Wallace Rowe ve arkadaşları (1953) insan adenoid dokudan hazırlanmış primer hücre kültüründe kendiliğinden meydana gelen farklılaşmalar gözlemlemiş ve bu dokudan bir virüs izole etmişlerdir. Bu virüse adenoid hücrelerden izole edildiği için de "Adenovirüs" adını vermişlerdir. Aynı yıllarda (1954) Hillermann ve Werner de askeri birliklerdeki solunum yolu enfeksiyonlarını araştırırken insan hücre kültürlerinde yeni bir viral etken tespit etmişlerdir. İki farklı çalışma ile tanımlanmış olan bu virüsün daha sonra aynı virüs olduğu anlaşılmıştır.

Adenovirüslerin ilk izolasyonundan sonraki 20 yıl içinde Rowe ve arkadaşları solunum yolu enfeksiyonları, keratokonjunktivit, gastroenterit gibi enfeksiyonlardan yaklaşık 30 adenovirüs serotipi izole etmişlerdir. Çalışmalarda tanımlanan adenovirüs serotiplerine 1'den başlayarak numaralar verilerek isimlendirilmiştir.

Tanımlanan ilk insan adenovirüsleri 1'den 7'ye kadar numaralandırılmış olan ve en sık rastlanan serotipler olmuştur. 1955 yılında epidemik keratokonjunktivit etkeni olarak adenovirüs serotip 8 tanımlanmıştır.

Adenovirüslerin tanımlanmasından (1953) bu yana adenovirüslerin yaklaşık 100 serotipi tanımlanmıştır. Bu serotiplerin 57 tanesi insan adenovirüs enfeksiyonlarından sorumludur. Adenovirüs 40, 41 tiplerinin (AdV40, AdV41) de viral gastroenteritten sorumlu olması nedeniyle serotip 40 ve 41 "Enterik adenovirüsler" (EAdV) olarak adlandırılmaktadır.

John Trentin ve diğerleri (1962) adenovirüs tip 12 enjekte ettikleri yenidoğan hamsterlarda AdV12'nin tümör gelişimine neden olduğunu tespit etmişlerdir. Takip eden yıllarda kanser-virüs ilişkisinin incelenmesi için adenovirüslerin model olarak kullanıldığı pek çok çalışma yapılmıştır. Ancak virüsün insanda kanserle bağlantısı bulunamamıştır (Murray ve diğerleri, 2013: 454, 460).

2.2. Sınıflandırma

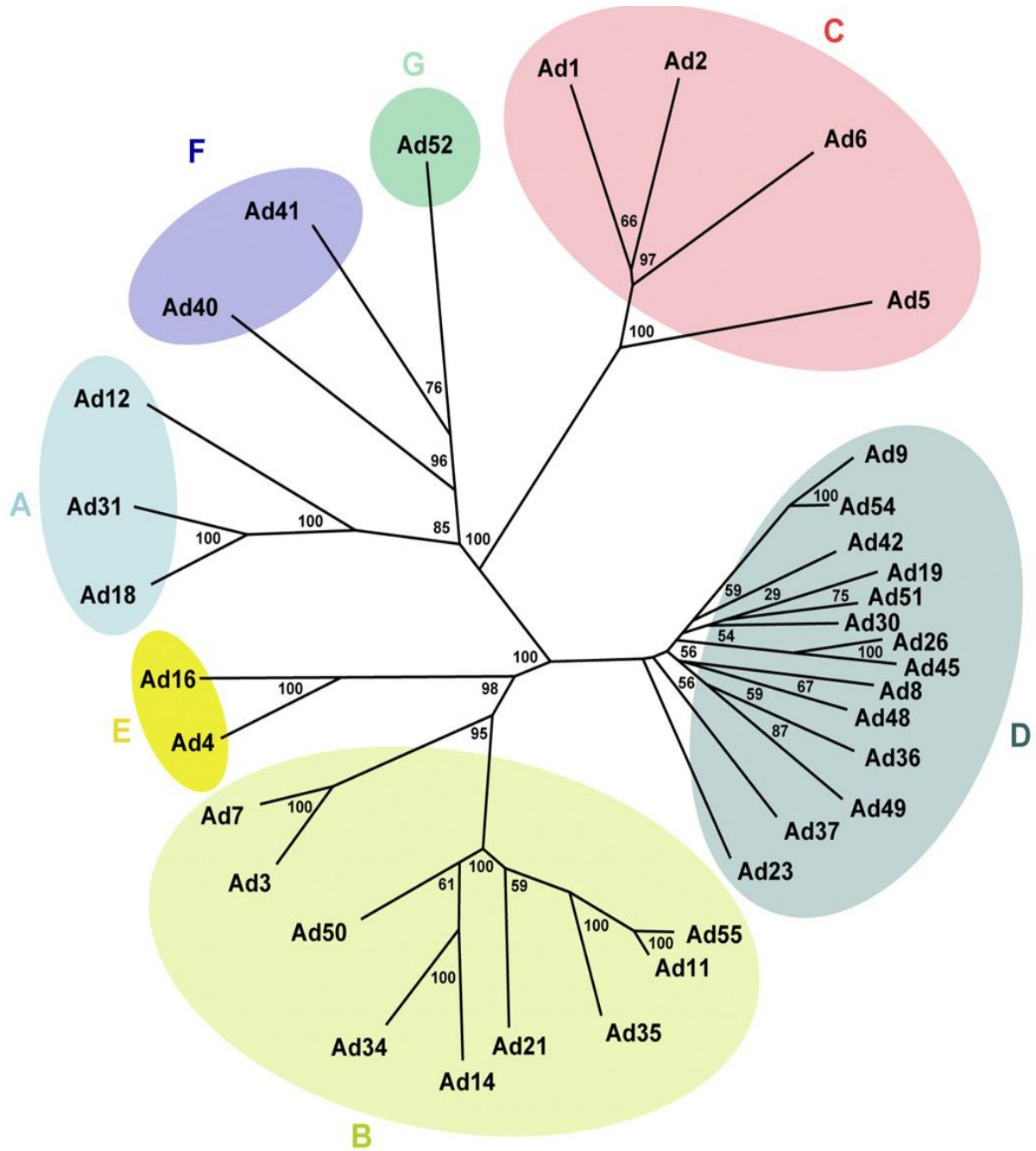
Adenoviridae ailesinde *Mastadenovirus*, *Aviadenovirus*, *Siadenovirus*, *Atadenovirus* ve *Ichtadenovirus* olmak üzere 5 cins bulunmaktadır (Çizelge 2.1). İnsanları enfekte eden adenovirüsler, Adenoviridae ailesinin *Mastadenovirus* cinsinde yer almaktadır. *Mastadenovirus*, Yunanca meme anlamındaki mastos kelimesinden gelmekte ve memelileri infekte eden adenovirüsler anlamı taşımaktadır. *Mastadenovirus* cinsi içinde insandan izole edilmiş olan 57 adet serotip vardır ve bu serotiplere “insan adenovirüsleri” (HAdV) adı verilmektedir (Murray ve diğerleri, 2013: 454, 460).

Çizelge 2.1. Adenovirüslerin sınıflandırılması

Cins	Tip	Konakçı
<i>Atadenovirus</i>	Koyun adenovirüsü	Omurgalı
<i>Aviadenovirus</i>	Kümes hayvanı adenovirüsü	Omurgalı
<i>Ichtadenovirus</i>	Balık adenovirüsü	Omurgalı
<i>Mastadenovirus</i>	İnsan adenovirüsü	Omurgalı
<i>Siadenovirus</i>	Hindi adenovirüsü	Omurgalı

İnsan adenovirüsleri (*Mastadenovirus*) hemagglütinasyon paternlerine, DNA homolojilerine, yeni doğmuş rodentlerde tümör oluşturma potansiyellerine, viral DNA'nın G+C oranına göre çeşitli şekillerde sınıflandırılmaktadır.

İnsanlardan izole edilen 57 serotip, DNA homolojileri ve hemagglütinasyon özelliklerine göre A'dan G'ye kadar yedi alt grupta sınıflandırılmaktadır (Jawetz ve diğerleri, 2010: 419, 426; Tebruegge ve Curtis, 2012). Farklı kaynaklarda bu alt gruplar “grup”, “tür” yada “alt cins” olarak da adlandırılmaktadır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Adenovirüs grupları ve serotipleri

B grubu B1 ve B2 olarak ayrılmaktadır (Segerman ve diğerleri, 2003). Gruplar ve grupların doku tropizmleri ile klinikleri arasında da ilişki bulunmaktadır. B1, C ve E grubu genellikle solunum hastalıkları etkeni olarak karşımıza çıkarken D, ve E göz enfeksiyonlarına neden olmaktadır. F grubu gastroenteritten, B2 ise böbrek enfeksiyonundan sorumlu tutulmaktadır (Russell, 2009).

Adenovirüsler yapılarında bulunan guanin+sitozin (G+C) oranına göre üç gruba ayrılırlar:

I. Düşük miktarda (%48) G+C içerenler

II. Orta derecede (%50) G+C içerenler

III. Yüksek Oranda (%58) G+C içerenler

G+C oranı düştükçe virüsün onkojenik potansiyeli artmaktadır. Grup A adenovirüsleri (AdV12, AdV18, AdV31) bebek hamsterlarda 4 ay içinde tümör oluşturmaktadır (John Trentin ve diğerleri, 1962).

Çizelge 2.2. İnsan adenovirüslerinin özellikleri (Echavarria, 2008.)

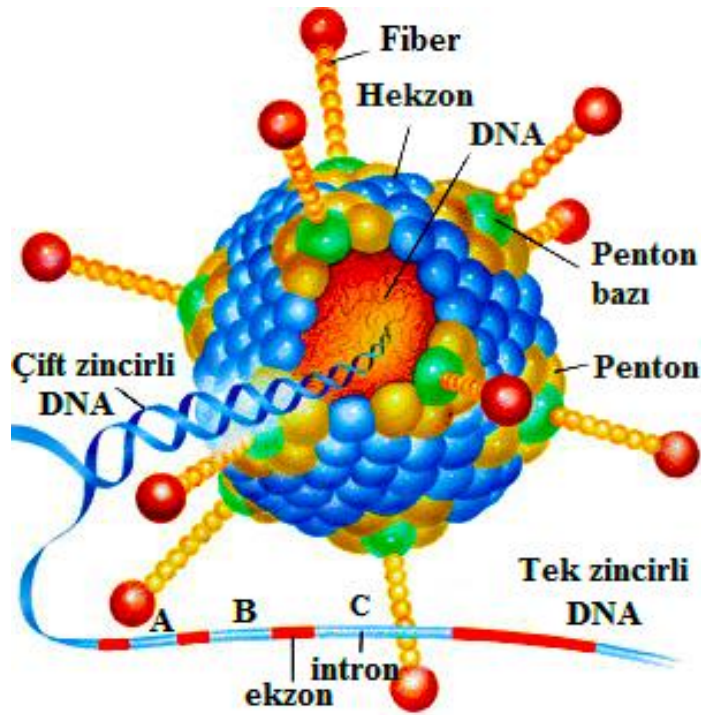
Grup	Serotipler	Onkojenik potansiyel	% G+C	Hemaglutinasyon		Fiber uzunluğu (nm)
				Maymun	Rodent	
A	12,18,31	Yüksek	48-49	-	±	28-31
B1	3,7,16,21,50,55	Zayıf	50-52	+	-	9-11
B2	11,14,34,35	Zayıf	50-52	+	-	9-11
C	1,2,5,6,57*	Yok	57-59	-	±	23-31
D	8-10, 13, 15, 17, 19, 20, 22-30, 32, 33, 36-39, 42-44, 51,53,54,56	Yok	58	±	+	12-13
E	4	Yok	57-61	-	±	17
F	40,41	Yok	57-59	-	±	~29
G	52	Belirlenmedi	Belirlenmedi	Belirlenmedi	Belirlenmedi	Belirlenmedi

*Tebruegge ve Curtis, 2012

2.3. Adenovirüsün Yapısı ve Proteinleri

Adenovirüsler 70-90 nm çapında, ikozahedral kapsid yapılı, doğrusal çift zincir DNA içeren zarfsız virüslerdir. Genom yaklaşık 36 000 baz çifti ve 40 genden oluşur. Virion 252 kapsomerden oluşur ve bu kapsomerlerden 240'ı eşkenar üçgen yüzeylerini, 12'si köşelerini meydana getirir.

Eşkenar üçgen yüzeylerdeki kapsomerlere hekzon, köşelerdeki 12 adet kapsomerlere ise penton adı verilir. Adenovirüsler, 12 köşesindeki penton bazlarında fiber adı verilen ve yumru şeklinde uçları olan uzantılarının bulunmasıyla benzersizdir. Hekzonlar, pentonlar ve fiberler virüsün sınıflandırmasında ve tanısında önemli olan adenovirüs antijenlerini taşırlar (Jawetz ve diğerleri, 2010: 419, 426) (Şekil 2.2).

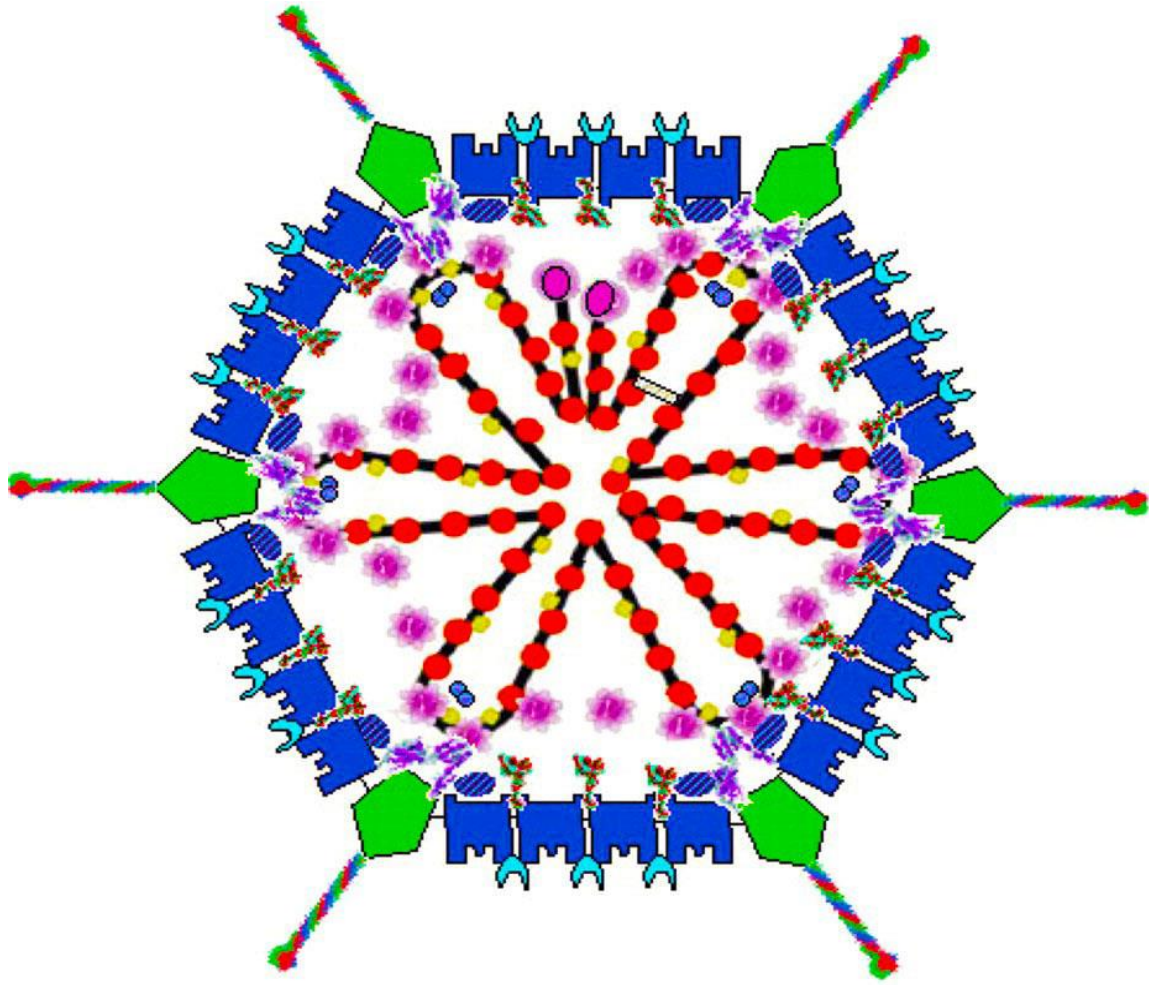















Şekil 2.2. Adenovirüsün şematik görünümü (Rein, Breidenbach ve Curiel, 2006)

Hekzon geni, yaklaşık olarak 2.9 kb'dır ve tüm insan adenovirüslerinde ortak olan bölgeler taşımaktadır. Bu nedenle hekzon primerleri adenovirüs PZR çalışmalarında bütün adenovirüs serotiplerini amplifiye ettiği için en sık kullanılan primerlerdir. Fiber antijenleri ise serotipe özgüdür ve serotiplendirmede önemli olan tipe özgül antijenleri içerir. Fiberler, virüsün hücreye bağlanmasını sağlar ve hemagglütinasyondan sorumludur. Penton bazlı antijenler ise tüm adenovirüs ailesinde ortaktır (Echavarria, 2008; Russell, 2009).

Adenovirüsün sahip olduğu proteinler ve konumları Şekil 2.3'de gösterilmiştir. Bir viryon yaklaşık olarak %13 DNA ve %80 protein içermektedir. Viral genom 13 polipeptitten oluşur. Viral proteinler kor proteinleri, kapsid proteinleri ve minor proteinler ve olmak üzere üç başlık altında toplanırlar. Kapsid proteinleri: hekzon, penton ve fiberler (polipeptit IV); Minor proteinler: polipeptit IIIa, VI, VIII, IX ve Kor proteinleri: polipeptit V, VII, Mu, terminal protein, IVa2 ve proteaz'dır.

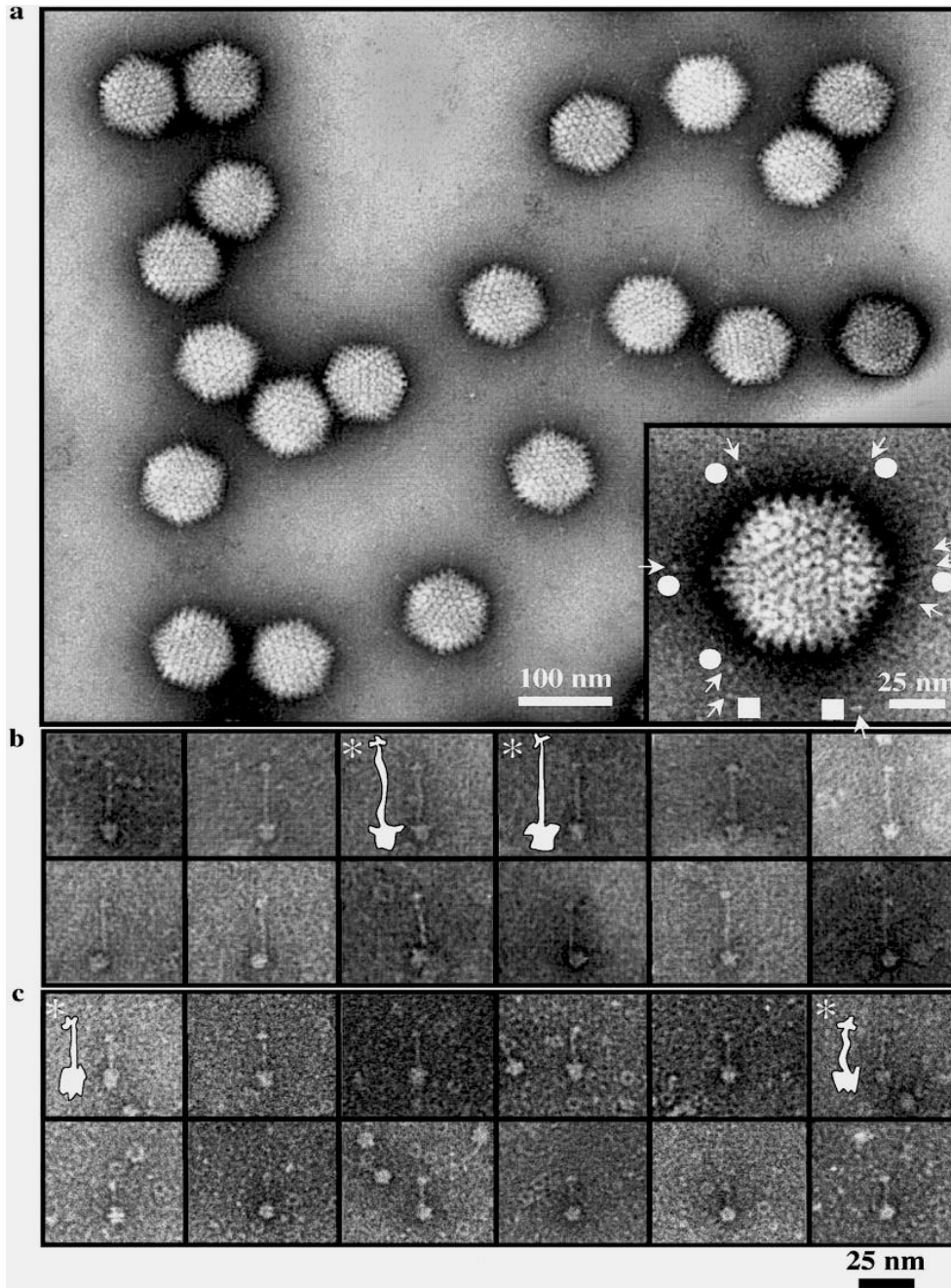
Viral kapsidde 7 polipeptit vardır, en çok hekzon proteini bulunur ve polipeptit VI, VIII, IX hekzon proteinini sağlamlaştırır. Polipeptit IIIa penton tabanında yer alır, hekzon ve polipeptit IV ile ilişkilidir. Polipeptit V ve VII diğer kor proteinleri ile ilişkilidir ve DNA bağlayan proteinlerdir. Terminal protein DNA'nın 5' ucunda yer alır. Kor proteinleri polipeptit VI ile birlikte kor ile kapsid arasında köprü görevi görür (Russell, 2009).



Kapsid proteinleri	Minor proteinler	Kor proteinler
 Hekzon	 IIIa	 V
 Penton baz	 VI	 VII
 Fiber	 VIII	 Mu
	 IX	 Terminal protein
		 IVa2
		 Proteaz

Şekil 2.3. Adenovirüsün yapısı ve proteinleri (Russell, 2009)

Enterik adenovirüsler (F grubu) diğer gruplardan farklı olarak iki farklı uzunlukta fiber taşımaktadır. Uzun fiberler akciğer, trakea, kornea, bağırsak, kalp ve karaciğer gibi hücrelerde bulunan CAR (coxackievirus-adenovirus receptor) ile hücreye bağlanırken; kısa fiberler; sialik asit, CD46, CD86, CD80, MHC-I ve heparin sulfat proteoglikan (HSPG) gibi reseptörlerle hücreye bağlanırlar. Ayrıca kısa fiberlerin uç kısımlarında pepsin hassasiyeti bulunmaktadır (Favier, Schoehn, Jaquinod, Harsi ve Chroboczek, 2002) (Resim 2.1).



Resim 2.1. a) AdV 41'e ait EM görüntüsü (b) Uzun fiberler (c) Kısa fiberler (Favier ve diğerleri, 2002)

2.4. Adenovirüsün Replikasyonu

Adenovirüsler, enfekte ettikleri hücrelerin nükleuslarında replike olurlar. Adenovirüslerin hücreye girişi fiber proteininin hücre yüzeyindeki reseptörlere tutunması ve reseptör aracılı endositoz ile hücre içine alınması ile başlamaktadır. (Murray ve diğerleri, 2013: 454, 460).

2.4.1. Adenovirüslerin hücre içine girişi

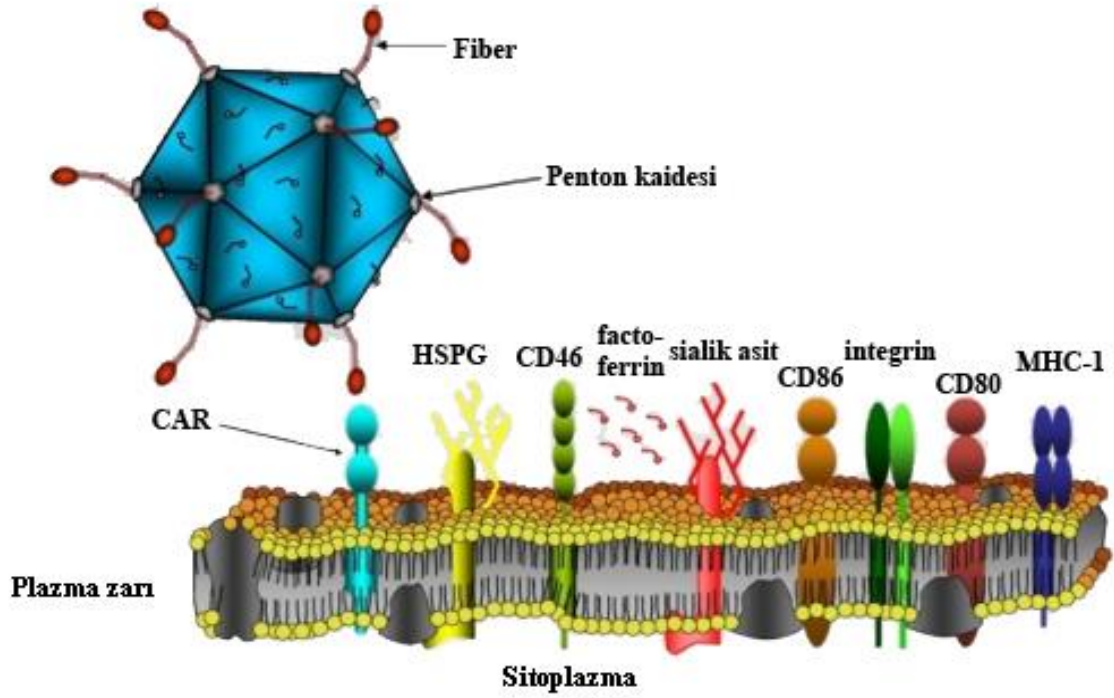
Adenovirüslerin konak hücre içine girmesi ve genomlarını çekirdeğe aktarma mekanizması, CAR reseptörünün 1997'de bulunmasıyla daha iyi anlaşılmıştır.

Adenovirüsler, fiber proteinleri aracılığıyla hücre yüzeyindeki CAR reseptörüne bağlanırlar. Ancak hücre içine alınması için ikinci bir bağlanma daha gerekli olmaktadır. Bu bağlanma, adenovirüsün penton bazı ile hücre yüzeyindeki $\alpha\beta$ integrinler arasında gerçekleşir (Bru, Salinas ve Kremer, 2010).

Fiber proteini; baz, şaft ve topuz olmak üzere üç birimden oluşur. Şaft, 15 amino asitlik diziler içerir. Bu diziler farklı sayılarda tekrar eder ve tekrar sayısına bağlı olarak şaftın uzunluğu değişir. Şaft uzunluğunun, adenovirüslerin hücre yüzeyine bağlanmasında etkili olduğu tespit edilmiştir (Bru ve diğerleri, 2010). Topuzun, konak hücre yüzeyindeki CAR reseptörlerine bağlanmada rol oynadığı saptanmıştır.

Akciğer, trakea, kornea, bağırsak, kalp ve karaciğer gibi hücrelerde A, C, E ve F grup adenovirüsler için major reseptör CAR reseptörü iken, D ve F grup adenovirüsler sialik asit, CD46, CD86, CD80, MHC-I ve heparin sulfat proteoglikan (HSPG) gibi reseptörlerle hücreye bağlanırlar (Bru ve diğerleri, 2010; Wolfrum ve Greber, 2013) (Şekil 2.4).

Adenovirüs partikülünün klatrin aracılı endositozu tetiklemesiyle adenovirüs endozom içine alınır. Virüsün hücreye girişi sonrasında viral proteinlerin toksik etkisi ve endozom içinde asidik ortam oluşması sonucunda endozom membranı tahrip olur ve virüs sitoplazmaya geçer.

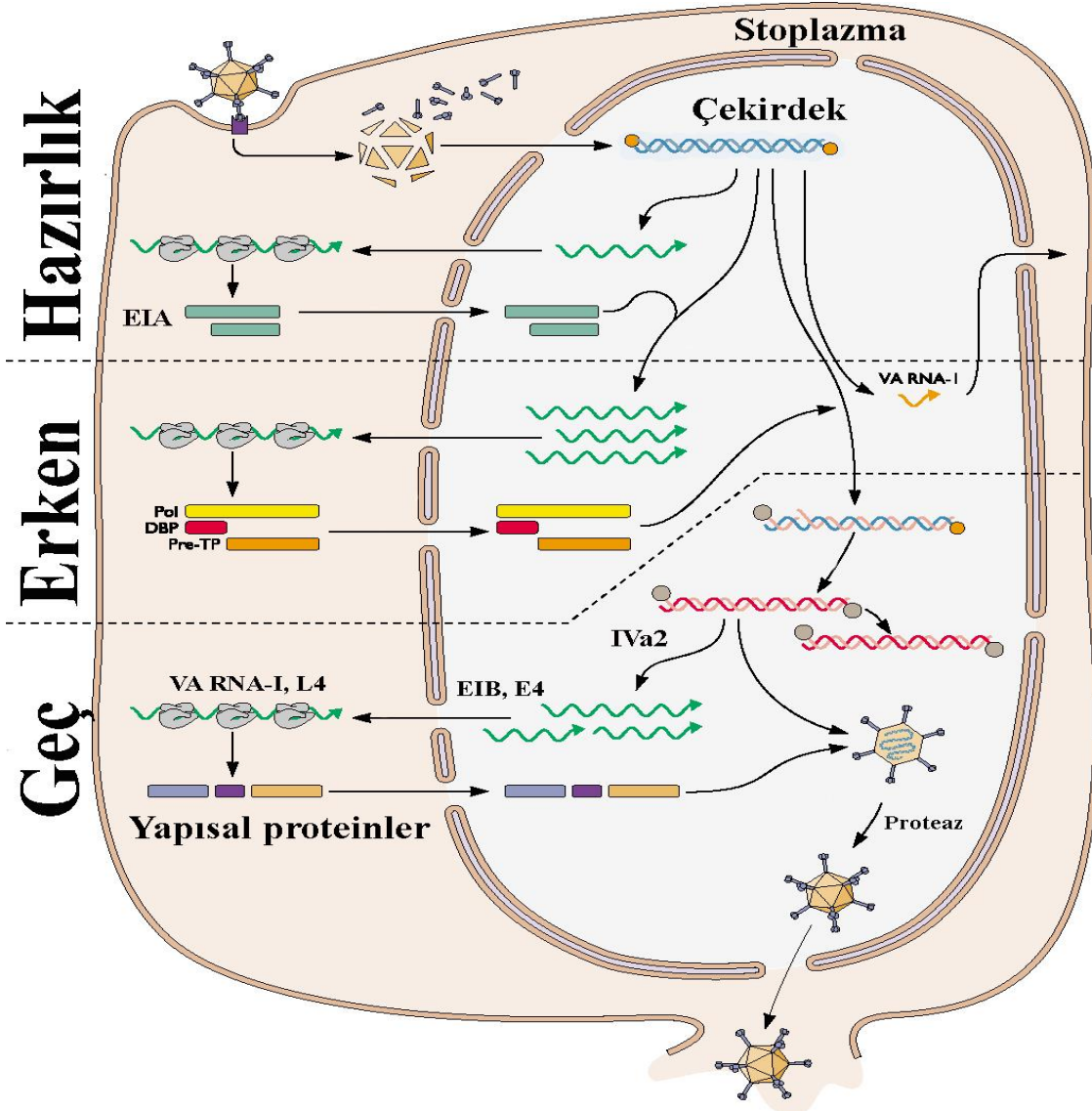


Şekil 2.4. Adenovirüsün CAR reseptörüne tutunması (Bru ve diğerleri, 2010)

Adenovirüslerin endozomdan kaçabilme mekanizmaları da bulunmaktadır. Örneğin, penton bazının α -integrin ile bağlanması sonrası endozom zarının geçirgenliği artar. Asidik ortamda aktive olan viral proteazlar kapsid proteinlerini değişime uğratırlar. Değişime uğrayan kapsid proteinlerinin yardımıyla adenovirüsler, endozomdan kaçarlar.

Adenovirüslerin yaklaşık %90'ı 5 dakika içerisinde sitozole geçebilmektedir. Sitoplazmadaki virüs partikülleri, çekirdeğe doğru ilerlerler ve yaklaşık 40 dakika sonra çekirdek-por kompleksine ulaşırlar. Çekirdek por kompleks reseptörüne (Nup214/CAN) tutunmasını takiben genom kapsidden ayrılır ve çekirdek içine girer (Lee, Matthews ve Blair, 2005; Wolfrum ve Greber, 2013).

Adenovirüslerin hücrede izlediği yolu ve mekanizmayı anlamak üzere adenoviral vektörler floresan madde ile işaretlenmiş ve %80'den fazlasının bir saat içerisinde çekirdeğe ulaştığı gösterilmiştir (Leopold ve diğerleri, 1998; Flint, Enquist, Krug, Racaniello ve Skalka, 2000: 595,598).



Şekil 2.5. Adenovirüsün replikasyonu (Flint ve diğerleri, 2000: 595, 598)

2.4.2. Adenoviral replikasyon

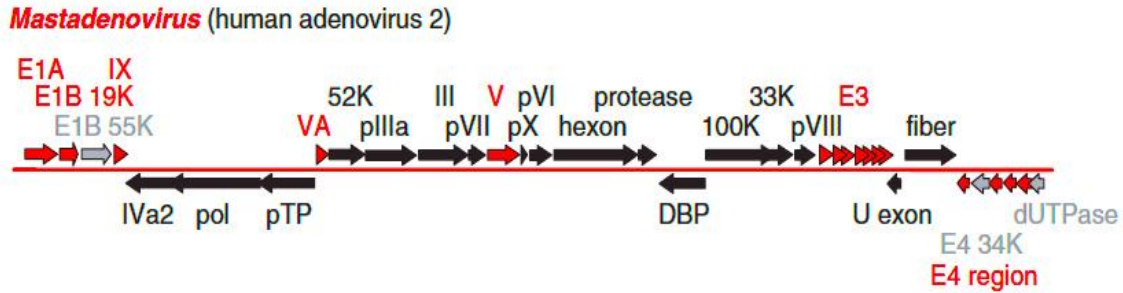
Adenovirüslerin enfeksiyon döngüsü erken dönem ve geç dönem olarak ikiye ayrılır. Erken dönem; virüsün konağa girmesi ve viral DNA sentezinin başlamasını kapsayan aşamalar ve erken genlerin oluşumudur. Geç dönem ise; geç genlerin meydana gelmesi ve adenovirüs partikülünün paketlenmesidir. Erken dönem 6-8 saat içinde, geç dönem 4-6 saat içinde sona ermektedir (Russell, 2009).

Erken genler, mRNA'lar ve erken protein kodlarlar. Erken proteinler; DNA bağlayan proteinler, virüsün immün yanıtı kaçırmayı sağlayan proteinler ve DNA polimerazdır. Erken mRNA'lar genom üzerinde 5 bölgeden (E1A, E1B, E2, E3, E4) sentezlenirler.

E1 bölgesi adenovirüs replikasyonunu başlatır, RNA sentezini aktive eder, hücre büyümesini bozar. E1B konak hücrenin apoptoza gitmesini engeller. Hücresel büyüme baskılayan protein 53'e bağlanır ve transformasyonu düzenler.

E2, DNA polimeraz enzimini kodlar, viral DNA polimeraz sentezi erken genlerin sentezinden geç genlerin sentezine geçişi aktive eder. E3 Tümör nekrozis faktör- α (TNF- α)'ya bağlı inflamasyonu engeller. E4 viral sitopatolojik etkiyi sınırlandırır (Russell, 2009; Wolfrum ve Greber, 2013).

E1A, E1B ile birlikte replikasyonu ve bölünmeyi tetikler. Bu durum permisif hücrelerde transkripsiyonu ve replikasyonu kolaylaştırır, virüs replikasyonu hücre ölümüyle sonuçlanır. Nonpermisif hücrelerde ise genom nükleusta kalır ve virüs latent hale geçer. Rodent hücrelerde E1A ve E1B proteinleri hücre ölümüne sebep olmaz ancak büyüme tetikler ve hücre onkojenik hale geçer (Russell, 2009).



Şekil 2.6. Mastadenovirüs genom organizasyonu (Benko ve diğerleri, 2005: 213)

Replikasyon DNA polimeraz ile gerçekleşir. Polimeraz, terminal proteini primer gibi kullanır. DNA replikasyonu sonrası geç genlerin transkripsiyonu başlar.

Kapsid proteinleri sitoplazmada üretilip nükleusa taşınır. Önce boş bir prokapsid oluşur, sonra DNA ve kor proteinleri kapside girer. Virüs hücre içersinde kalır ve hücrenin lizisi ile salınır. Replikasyon enfekte hücrenin ölümü ile sonuçlanır. Enfekte bir hücreden yaklaşık 10 000 virüs partikülü üretilmektedir (Jawetz ve diğerleri, 2010: 419, 426; Murray ve diğerleri, 2013: 454, 460). Adenovirüsler çekirdek içinde replike olurken bazofilik inklüzyon cisimcikleri oluştururlar. Oluşan inklüzyon cisimcikleri adenovirüslerin tanısında kullanılabilir.

2.5. Adenovirüsün Patogenezi

Adenovirüsler; solunum sistemi, gastrointestinal sistem, mesane, göz ve karaciğer epitel hücrelerini enfekte eder ve bu hücrelerde replike olurlar. Çoğunlukla bölgesel lenf düğümlerinden öteye yayılmazlar. Adenoidlerde, tonsillerde latent kalır; ilk enfeksiyonda aylarca dışkı ile atılırlar. Virüsün fiber proteinleri doku tropizminden sorumludur. Penton, hücrelere sitotoksik etki yapmaktadır. Sonuçta hücresel mRNA ve protein sentezi bozularak hücre yuvarlaklaşır ve doku hasarı görülür (Murray ve diğerleri, 2013: 454, 460).

Çoğu adenovirüs; ağız yoluyla alındıktan sonra barsak epitelinde replike olması ve dışkıda bulunmasına rağmen çoğu serotipin varlığı gastrointestinal hastalıkla ilişkili değildir. Ancak enterik adenovirüsler olarak adlandırılan serotip 40 ve 41 özellikle 0-5 yaş çocuklardaki gastroenteritten sorumlu tutulmaktadır (Jawetz ve diğerleri, 2010: 419, 426).

Diyare etkenleri; bakteriler, parazitler, çeşitli toksinler ve virüslerdir. Viral etkenler dünya genelindeki enfeksiyöz diyarelerin %50-75'inden sorumludur. Bu ajanlar kansız bol miktarda, inflamatuvar olmayan diyareye neden olmaktadır. İnce barsak epitelyum fonksiyonlarını bozarak suyun emilimini önlemekte ve su-iyon kaybına yol açarak sulu diyare oluşturmaktadır (Rota ve Fidan, 2007).

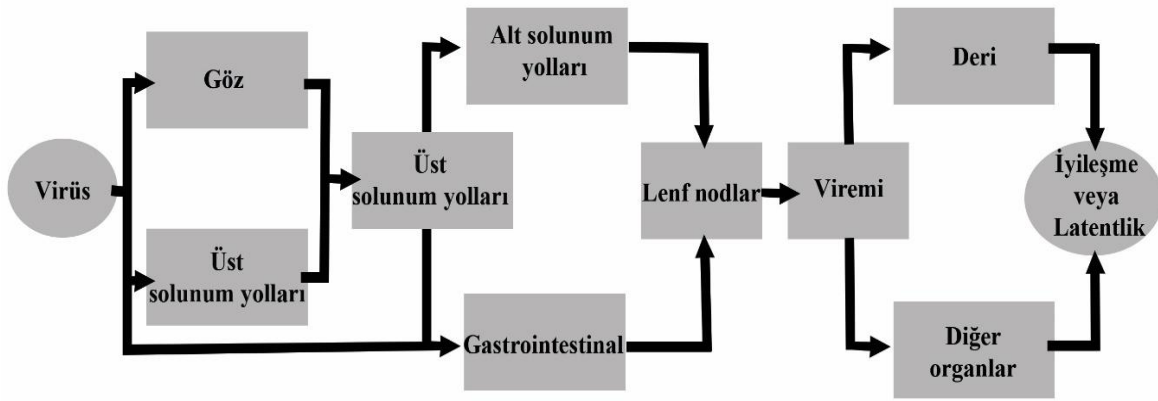
İnkübasyon periyodu 2-15 gün; ortalama 10 gündür. Adenovirüsler, mukoepitelyal hücrelerde; litik, lenfoid ve adenoid hücrelerde; latent ve farelerde; onkojenik transformasyona neden olan enfeksiyonlar yaparlar. İnsan hücrelerinde adenovirüse bağlı transformasyona rastlanılmamıştır (Us ve Ergünay, 2012: 177, 215).

Litik enfeksiyon hücre ölümü ile sonuçlanmakta ve bir replikasyon döngüsü sonucunda 10 000 – 1 000 000 enfeksiyöz partikül oluşmaktadır. Latent ve kronik enfeksiyonda ise virüs hücre ölümüne neden olmaksızın dokularda latent kalır, ancak immün yetmezlik gibi durumlarda reaktif olur.

Onkojenik transformasyonda viral DNA konak hücre DNA'sına entegre olur, replikasyon sonunda enfeksiyöz viryon oluşmaz. Ancak, hücrede adenovirüse ait proteinler sentezlendiği için adenovirüs varlığı kanıtlanabilmektedir (Nava, 2015).

İmmünyetmezliği olan hastalarda, virüsün reaktivasyonu ile sistemik enfeksiyonlar görülebilir. Mortalite oranı %50-70 olarak bildirilmektedir. Özellikle hüresel immün yanıtı düşük olan hastalarda sistemik enfeksiyon riski meydana gelir. Konak immün cevabı yokluğunda adenovirüsler, direk doku hasarına neden olurlar ve interferon, sitotoksik T lenfositler ve TNF üzerinde antagonistik etki yaparlar (Echavarria, 2008).

Adenovirüs enfeksiyonlarında; intranükleer inklüzyon cisimciklerinin varlığı en önemli histolojik bulgudur. Bu tip inklüzyon cisimcikleri içeren hürelere “smudge cell” denilmektedir. İnküzyon cisimcikleri, sitomegalovirüs inklüzyonlarına benzer ancak adenovirüs enfeksiyonlarında sitomegali gözlenmez (Murray ve diğerleri, 2013: 454, 460).



Şekil 2.7. Adenovirüsün yayılım mekanizması (Murray ve diğerleri, 2013: 457)

Adenovirüslerin patogenezi ile ilgili bilgiler insan adenovirüslerinin hayvan modellerinde üretimi ile ilgili zorluklar nedeniyle sınırlıdır. Örneğin, AdV5 tarafından oluşturulan akciğer enfeksiyonlarının patogenezinin anlaşılmasında pamuk faresi “*Sigmodon hispidus*” kullanılır. AdV5 pamuk faresinde benzer histopatolojiler oluşturmada ancak insan enfeksiyonlarında konağın immün cevabı ve klinik bulgular da önemli olduğundan farklılıklar görülmektedir.

Solid organ transplantlı olgularda adenovirüs enfeksiyonları yaygın enfeksiyonlar şeklinde seyretmekte ve ölümcül olabilmektedir. Etiyolojisinde endojen kaynaklı latent virüslerin immünsistemin baskılanmasını takiben reaktivasyonu üzerinde durulmaktadır. Yine immünyetmezlikli hastalarda birden fazla adenovirüs serotipi ile koinfeksiyon görülme oranı %30 iken normal konakta birden fazla adenovirüs serotipi ile koinfeksiyon görülme oranı %5 olarak belirtilmektedir (Gray ve diğerleri, 2007).

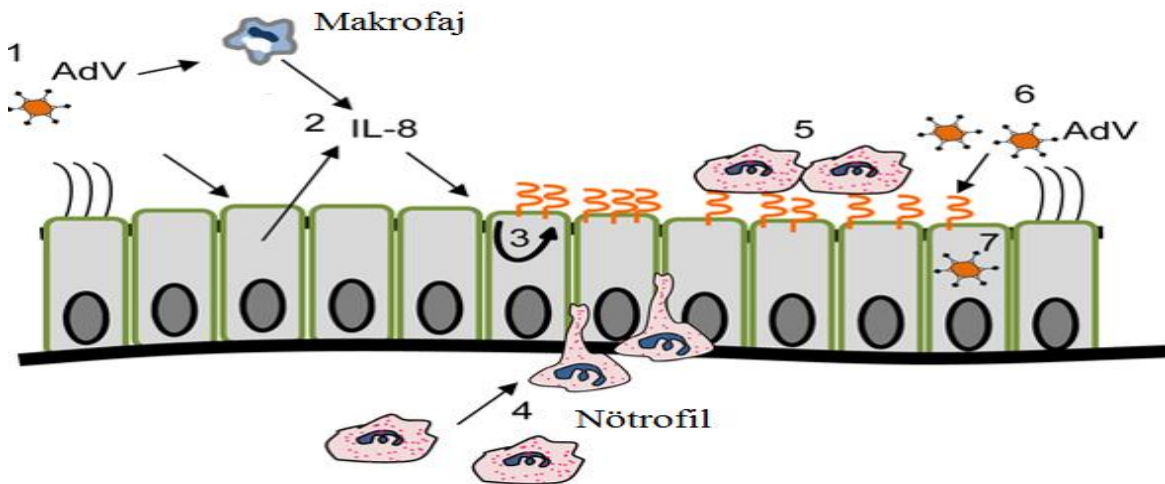
2.6. Adenovirüs Enfeksiyonlarında İmmün Yanıt

Tüm viral enfeksiyonlarda olduğu gibi adenovirüs enfeksiyonlarının iyileşmesinde antikor yanıt önemlidir. Oluşan antikorlar iyileşmenin göstergesi olduğu gibi aynı zamanda kişiyi aynı serotiple gelişen reenfeksiyonlardan da korurlar. Ancak antikorlar farklı serotiplerle enfeksiyonu engelleyememektedir.

Hüresel immün yanıt ise enfeksiyonun yayılımını sınırlandırmada ve iyileşmede etkilidir. Bu nedenle immün yetmezliği olan hastalarda özellikle azalan T hücreleri nedeniyle adenovirüs enfeksiyonu daha ciddi seyreder ve tekrarlar. Adenovirüsler immün yetmezliği olanlarda ölümcül sistemik hastalıklara da neden olmaktadır (Echavarría, 2008).

Adenovirüsün patojenez mekanizmasını açıklamak üzere yapılan çalışmalarda adenovirüs enfeksiyonlarında tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α), interokin 8 (IL-8) ve interlökin 6 (IL-6), interferon-gamma (IFN- γ) varlığı gösterilmiştir (Lütschg, Boucke, Hemmi ve Greber, 2011; Wolfrum ve Greber, 2013). Adenovirüsün hava yolu ile bulaşı sonrasında makrofaj ve epitel hüresine girişi ve bölgede IL-8 salınımı ve nötrofil göçü gösterilmiştir (Kotha ve diğerleri, 2015) (Şekil 2.8).

Adenovirüsler konak immün yanıtından kaçabilecek bazı mekanizmalara sahiplerdir. Viral protein E3 ve E1A; T lenfosit ve sitokin aracılı apoptozisi engeller, MHC-I ekspresyonunu bozar, antijen sunumunu ve CD8 (+) sitotoksik T lenfositlerin aktivasyonunu engeller (Mahr ve Gooding, 1999; Murray ve diğerleri, 2013: 454, 460).

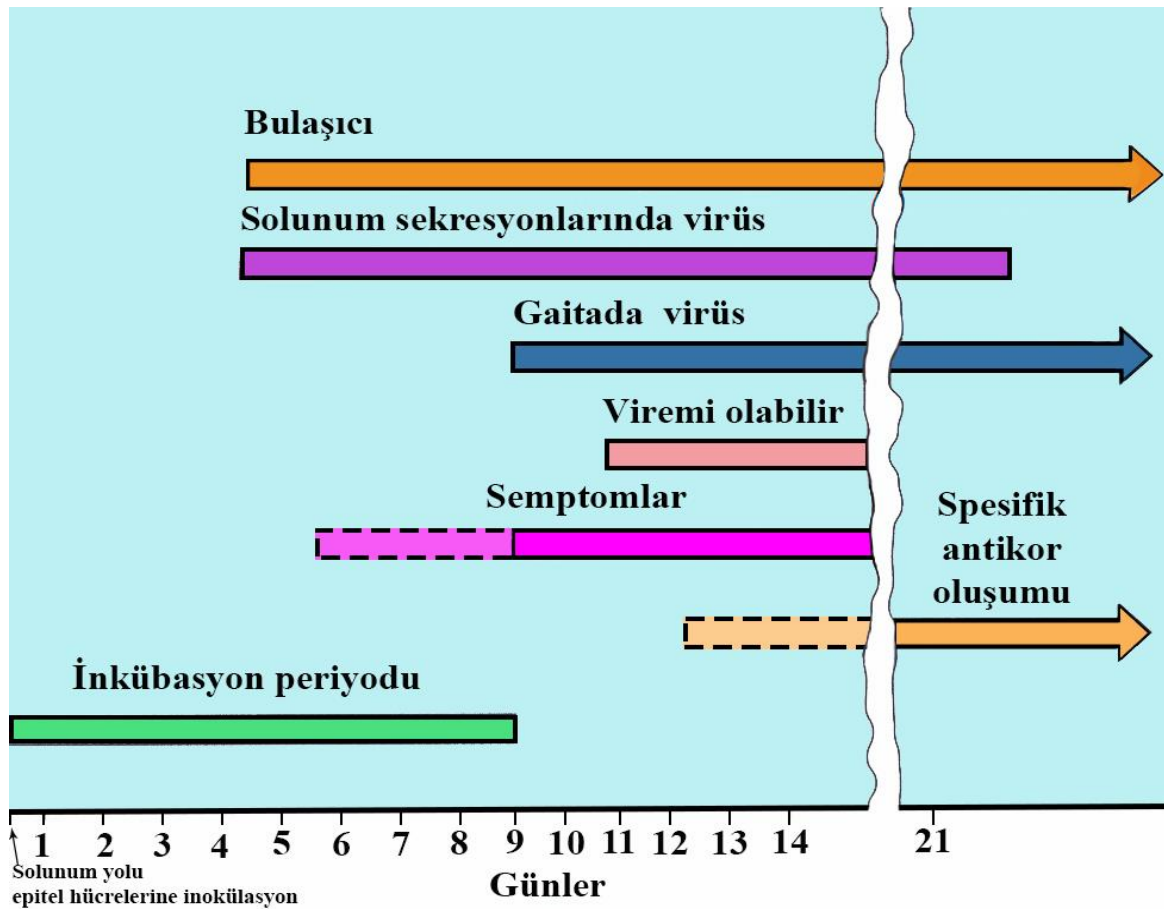


Şekil 2.8. Adenovirüs enfeksiyonunda sitokin salınımı (Kotha ve diğerleri, 2015)

2.7. Adenovirüs Enfeksiyonlarında Klinik Bulgular

Adenovirüslerle ilişkili hastalıklar farklı serotiplere ve farklı doku tropizmine göre değişmektedir. Tek bir serotip birden fazla kliniğe neden olurken, tek bir kliniğe de birden fazla serotip neden olabilmektedir. İnsanlarda solunum yolu enfeksiyonları, gastrointestinal sistem enfeksiyonu, göz enfeksiyonlarının yanı sıra idrar yolları, kalp, merkezi sinir sistemi, karaciğer ve genital sistem enfeksiyonu da yapabilirler. Ayrıca bazı adenovirüs serotiplerinin obeziteyle ilişkili olduğuna dair çalışmalar da son yıllarda önem kazanmıştır (Atkinson, 2007).

Virüsün solunum yolu epitel hücrelerine girişinden itibaren ortalama birinci haftanın sonuna doğru bulaşıcılık başlar. Virüs bu dönemde solunum sekresyonlarından izole edilebilir. Ortalama olarak ikinci haftanın sonuna doğru serotipe spesifik antikorlar oluşmaya başlar. Klinik semptomlar spesifik antikor oluşumu ile hafifler ve iyileşme süreci başlar (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. Adenovirüs enfeksiyonlarının klinik seyri (Murray ve diğerleri, 2013: 458)

2.7.1. Solunum hastalıkları

Akut febril farenjit: Farenjit ya da tonsillit şeklinde, özellikle bebek ve küçük çocuklarda görülür. Tipik belirtiler ateş, öksürük, burun akıntısı ve boğaz ağrısıdır. Klinik bulgular ortalama 3-5 gün sürer ve kendiliğinden iyileşir. Benzer belirtiler gösteren diğer solunum yolu enfeksiyonlarından ayırımı güçtür. Genellikle adenovirüs tip 1, 2, 3, 5, 6 ve 7 akut febril faranjit etkeni olarak izole edilirler. Adenovirüslerin bu tipleri en yaygın tiplerdir ve adenovirüsle ilişkili hastalıkların çoğundan sorumludur. Virüs adenoid dokuda ve/veya lenf nodlarında latent olarak kalır ve uzun süre dışkı ile atılır (Lee, Jung, Cheong ve Kim, 2015).

Akut solunum yolları hastalığı: Kreş, okul, gündüz bakım evleri gibi kalabalık yerlerde özellikle de askeri birliklerde görülür ve salgınlar şeklinde seyreder. Semptomlar tonsillit, farenjit, ateş, başağrısı, öksürük, bronşit ve halsizliktir. Çoğunlukla adenovirüs tip 4, 7 ve daha az olarak tip 3 tarafından oluşturulur (Cui ve diğerleri, 2015).

Pnömoni: Genellikle akut solunum yolları enfeksiyonunun bir komplikasyonu olarak ortaya çıkar. Çocukluk çağında görülen pnömonilerin %3-15'inden adenovirüsler sorumlu tutulmaktadır (Jain ve diğerleri, 2015).

Faringokonjunktival ateş: Akut febril farenjit tablosuna konjunktivit de dahil olmasıdır. Kaplıcalarda, tatil köylerinde özellikle yüzme havuzları kaynaklı salgınlar şeklinde görülür. Gözde ağrı, kaşıntı ve çapaklanma vardır, 1-2 hafta içerisinde kendiliğinden iyileşir. Adenovirüs tip 3, 4, 7 ve 14 faringokonjunktival ateş etkenidirler (Xie ve diğerleri, 2012).

2.7.2. Göz enfeksiyonları

Konjunktival enfeksiyonların en sık görülen sebebi adenovirüslerdir. Akut folliküler konjunktivit, faringokonjunktival ateş, epidemik keratokonjunktivit, ve respiratuvar hastalıklarla ilişkili konjunktivit tabloları görülmektedir (Erdin, Pas, Durak, Schutten ve Sayiner, 2014; Liddle, Samuel, Sudhanva, Ellis ve Taylor, 2014; Segal, Lai ve Starr 2014)

Akut folliküler konjunktivit: Gözde ağrı, kızarıklık, kaşınma, ve sulanma ile seyreder ortalama bir hafta içinde de kendiliğinden iyileşir (Segal, Lai ve Starr 2014).

Epidemik keratokonjunktivit: Akut folliküler konjunktivite göre daha hafif başlar, 1-2 hafta içinde keratit gelişir. Gözde şişme, kızarıklık sonrası enfeksiyon iyileşebilir yada keratit sonucu görme bozuklukları meydana gelebilir (Langley, 2005).

2.7.3. Gastrointestinal sistem hastalıkları

Çocuklardaki viral gastroenteritlerin rotavirüs ve norovirüsten sonraki üçüncü sıklıkla etkeni adenovirüslerdir. Adenovirüslere bağlı diyarelerin %30-80'inden AdV40 ve AdV41 sorumludur. Ancak feçeste AdV1, AdV2, AdV3, AdV5, AdV7, AdV12, AdV18 ve AdV31 de bulunabilmektedir. Küçük çocuklarda akut ishalin ortalama %2-5'i serotip 40 ve 41 ile ilişkilidir (Chhabra ve diğerleri, 2014; Dey ve diğerleri, 2011).

Adenovirüs gastroenteritlerinin diyare dışında; kusma, ateş, karın ağrısı gibi herhangi bir klinik semptom ile ilişkisi bulunmamıştır (Audu, Omilabu, Peenze ve Steele, 2002). Adenovirüse bağlı diyarelerin, diğer etkenlere bağlı diyarelerden ayrımını yapan farklı bir klinik bulunmamaktadır. Diyareli dışkı kansız, mukussuz, yumuşak ve sulu olabilmektedir. Enterik adenovirüsler, diğer viral gastroenterit etkeni virüsler gibi invazif patojenler değildirler ve kanlı veya mukoid diyare gibi dizanterik semptomlar yaygın değildir. Günlük dışkılama sıklığı 3-15 arasındadır.

Klinik olarak 5-6 gün süren 39.4 °C ateş ve 1-2 hafta süren sulu diyare sonrası hastaların çoğu sekelsiz bir şekilde kendiliğinden iyileşmektedir. Bazı diyare vakalarında ayrıca solunum sistemi bulguları da eşlik etmektedir.

Adenovirüs diyareleri çoğunlukla ılımlı seyretmesine karşın, hidrasyon sağlanamayan hastalar elektrolit bozukluğuna yol açan dehidrasyon riski taşımaktadırlar. Yeterli sıvı alamayan hastalarda, ölümcül elektrolit bozukluğu ortaya çıkabilmektedir. Dehidrasyon semptomları ise; deri turgor tonusunda bozulma, gözlerin çukuruna kaçması, idrar miktarında azalma, ağız ve boğaz kuruluğu ve ayağa kalkınca baş dönmesi şeklindedir (Willke Topçu, Söyletir ve Doğanay, 2008: 1717-1727).

2.7.4. Diğer hastalıklar

Hemorajik sistit: Özellikle erkek çocuklarda görülür. Belirgin bir hematüri, dizüri ve poliüri ile karakterizedir. Bu enfeksiyondan AdV7, AdV11, AdV21 sorumludur. Adenovirüsler bu hastaların idrar örneklerinden izole edilebilmektedir (Kloos, Boelens, Jong, Versluys ve Bierings, 2013).

Meningoensefalit: AdV3, AdV6, AdV7 ve AdV12 serotiplerinin BOS'a geçtiği ve meningoensefalite neden olduğu gösterilmiştir (Huang ve diğerleri, 2013).

Hepatit: Özellikle immünyetmezliği olan çocuk hastalarda ve karaciğer, kemik iliği transplantı olan hastalarda adenovirüs kaynaklı hepatitler görülmektedir (Cimşit, Tichy, Patel, Rosencrantz ve Emre, 2012; Ronan ve diğerleri, 2014).

2.8. Adenovirüs Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi

Adenovirüs enfeksiyonları, tüm yıl boyunca epidemik, endemik veya sporadik olarak ve her yaşta görülebilmektedir. Virüsle ilk karşılaşma yaşamın ilk iki yılındadır. Özellikle 6-12 ay arası çocukların %33'ü adenovirüs ile en az bir kez karşılaşmıştır. 6 ay-5 yaşındaki çocukların %75'inin de serolojik testlerle pozitif olduğu belirlenmiştir. Çocuklarda görülen ateşli hastalıkların %10'u solunum yolu enfeksiyonlarının da %2-5'i adenovirüsler tarafından meydana gelmektedir.

Adenovirüsler, 0-5 yaş arası çocuklardaki gastroenterit olgularının %5-15'inden sorumludur. Adenovirüs tip 40 ve 41 çoğunlukta olmak üzere tip 2 ve 31 akut gastroenterit sebebidir (Chhabra ve diğerleri, 2013; Wilhelmi, Roman ve Sánchez-Fauquier, 2003).

Adenovirüs serotiplerinden çoğunlukla solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan serotip 1-7 ve gastroenterite neden olan AdV40, AdV41 klinik örneklerden en çok izole edilen ve en sık rastlanan serotiplerdir.

Dünya Sağlık Örgütü'nün desteklediği bir çalışmanın sonuçlarına göre 24 000 olgunun %90'ı, serotip 1, 2, 3, 5 ve 7 ile oluşan enfeksiyonlardır (Schmitz, 1983).

Çocuklardaki adenoviral enfeksiyonların %40-60'ı AdV1, AdV2 ve AdV5 ve AdV6 tarafından oluşturulmaktadır. AdV1, AdV2 ve AdV5 ve AdV6 tarafından oluşan enfeksiyonların % 50'sinde adenoid ve tonsiller dokuda latent kaldığı, uzun süre dışkı ile atıldığı görülmüştür.

AdV3, AdV4, AdV7 ve AdV21 çoğunlukla genç erişkinlerde, özellikle de askeri birliklerde ortaya çıkarak pnömoniye kadar ilerleyen üst solunum yolu enfeksiyonlarından sorumludur. Özellikle toplu yaşam koşullarında (okul, yurt, askeri birlik, yenidoğan üniteleri gibi) salgınlara neden olduğu bilinmektedir (Langley, 2005).

Çizelge 2.3. Adenovirüs enfeksiyonları ve en sık görülen serotipler (Murray ve diğerleri, 2013: 454, 460)

Hastalık	Tipleri	Hasta Populasyonu
Solunum yolu enfeksiyonu	1, 3, 5, 7, 14, 21, vb.	Bebekler, Küçük çocuklar
Faringokonjunktival ateş	1, 2, 3, 4, 5, 7	Çocuklar, Yetişkinler
Akut solunum yolları hastalığı	4, 7, 14, 21	Bebekler, Küçük çocuklar, Askerler
Pertussis benzeri sendrom	5	Bebekler, Küçük çocuklar
Pnömoni	3, 4, 7, 21	Bebekler, Küçük çocuklar, Askerler, İmmüsupreseler
Hemorajik sistit	11, 21	Çocuklar, İmmüsupreseler
Epidemik keratokonjunktivit	8, 9, 11, 19, 35, 37	Her yaş grubu
Gastroenterit	40, 41	Bebekler, Küçük çocuklar, İmmüsupreseler
Hepatit	1-5, 7, 31	İmmüsupreseler
Meningoensefalit	2, 7	Çocuklar; İmmüsupreseler

Ciddi ve ölümcül adenovirüs enfeksiyonları bağışıklık sistemi normal insanlarda nadir görülmektedir. Fakat immünyetmezlikli hastalarda adenovirüs enfeksiyonları daha ciddi ve ölümcül yaygın enfeksiyonlar şeklinde seyreder. Hatta immünyetmezlikli hastalarda birden fazla adenovirüs serotipi ile koinfeksiyon görülmesi (%30) normal konakta birden fazla adenovirüs serotipi ile koinfeksiyon görülmesinden (%5) 6 kat daha fazladır (Gray ve diğerleri, 2007).

Adenovirüslerin bilinen bir hayvan rezervuarı yoktur. İnsandan-insana başlıca bulaş yolu solunum ve fekal-oral yoldur. Virüs deterjanlara, proteaz ve safra gibi gastrointestinal sıvılara dayanıklı olduğundan fekal-oral yolla, klorlanmamış yüzme havuzları ile kontamine ellerle ve kontamine aletlerle bulaşır. (Murray ve diğerleri, 2013: 454, 460).

Adenovirüsler oda ısısında 2 haftada; 56°C'de 30 dakikada, 0.5 µg/ml klorda 1 dakikada %70 etanol ile 1 dakikada inaktive olurlar. (Us ve Ergünay, 2012: 177, 215).

2.9. Adenovirüsün Bulaş Yolları

Adenovirüsler; solunum damlacıklarıyla, fekal-oral yolla, enfekte cisimlerle (havlular, tıbbi malzemeler) ya da yeterince klorlanmamış havuzlar aracılığıyla bulaşır. Göz enfeksiyonlarında kontamine eller ve parmaklar en önemli bulaş yoludur. Genellikle yaz aylarında yüzme havuzu kaynaklı konjunktivit salgınları görülmektedir.

Tersanelerde ve kaynak yapılan alanlarda çalışanlarda olduğu gibi durgun su, toz ve travmaya maruz kalanlarda, göz kliniklerinde kontamine göz solüsyonları ve tanısal aletlerle bulaş nedeniyle de sıklıkla adenovirüs konjunktivitine rastlanır.

1941 yılında Adenovirüs tip 8'in etken olduğu salgında virüs Avustralya'dan Hawaii adaları yoluyla Pasifik kıyılarına ulaşmış, tersaneler aracılığıyla da tüm ABD boyunca yayılmıştır. Bu nedenle adenovirüsün neden olduğu konjunktivite "tersane gözü" adı da verilmektedir (Jawetz ve diğerleri, 2010: 419, 426).

Adenovirüsler solunum yolu enfeksiyonu süresince 1-2 hafta nazofarengeal sekresyonlarda bulunur. Enterik enfeksiyonlarda ise ilk enfeksiyonu takiben birkaç hafta ile birkaç ay arasında virüs feçeste bulunmaktadır. Bu süreler içinde virüs bulaşmaya devam etmektedir (Willke Topçu ve diğerleri, 2008: 1717-1727).

Solunum damlacıklarıyla ve feçesle uzun süre atılmaya devam etmesi ve enfeksiyonlarının çoğunun asemptomatik olması nedeni ile virüsün toplumda yayılışı ve salgınlara neden olması kolaylaşır (Murray ve diğerleri, 2013: 454, 460).

Annenin doğum kanalından yada horizontal olarak bulaştığı düşünülen yeni doğanlarda adenovirüs enfeksiyonları bildirilmiştir (Montone, 1995; Sürmeli, Karhan, Güçer, Karagöz ve Yurdakök, 2012; Pinto, Beck ve Jadavji, 1992).

Adenovirüsler kontamine olmuş yüzeylerde uzun süre yaşayabildiği için de kolayca bulaşabilmektedir. Nozokomiyal enfeksiyonları nedeniyle hastanelerde keratokonjunktivit ve solunum yolu enfeksiyonu salgınları olduğu da gösterilmiştir (Jhanji, Chan, Li, Agarwal ve Vajpayee, 2015).

2.10. Adenovirüs Enfeksiyonlarında Tanı

Adenovirüs enfeksiyonlarının kliniği birçok enfeksiyon etkeni kliniği ile karıştığından tanı için laboratuvar testlerine ihtiyaç vardır. Adenovirüslerin hücre kültürlerinde üretilmesi teknik olarak elverişsiz ve çok zaman alıcı olduğundan tanısı güçtür.

Tanıda altın standart yöntem hücre kültürü olarak kabul edilmektedir. Ancak gastroenterit etkeni olan enterik adenovirüsler (AdV40 ve AdV41) hücre kültürlerinde üretilemezler.

Adenovirüslerin tanısı için kullanılacak klinik örnekler dışkı, boğaz sürüntüsü, konjunktiva sürüntü ve kazıntı örnekleri, idrar, BOS ve biyopsi örnekleri olabilir. Örnek, klinik bulguların başlangıcından itibaren bir hafta içinde alınmalıdır.

Farklı hastalık tablolarında adenovirüsün çıkartılma süreleri değişiktir. Soğuk algınlığı olan kişilerde boğazda 1-3 gün, faringokonjunktival ateşte boğaz, dışkı ve gözde 3-5 gün, keratokonjunktivitte gözde 2 hafta, solunum yolu hastalığı olan çocukların boğaz ve dışkılarında 3-6 hafta, immünyetmezliği olan hastaların idrar, boğaz ve dışkılarında 2-12 aydır (Jawetz ve diğerleri, 2010: 419, 426).

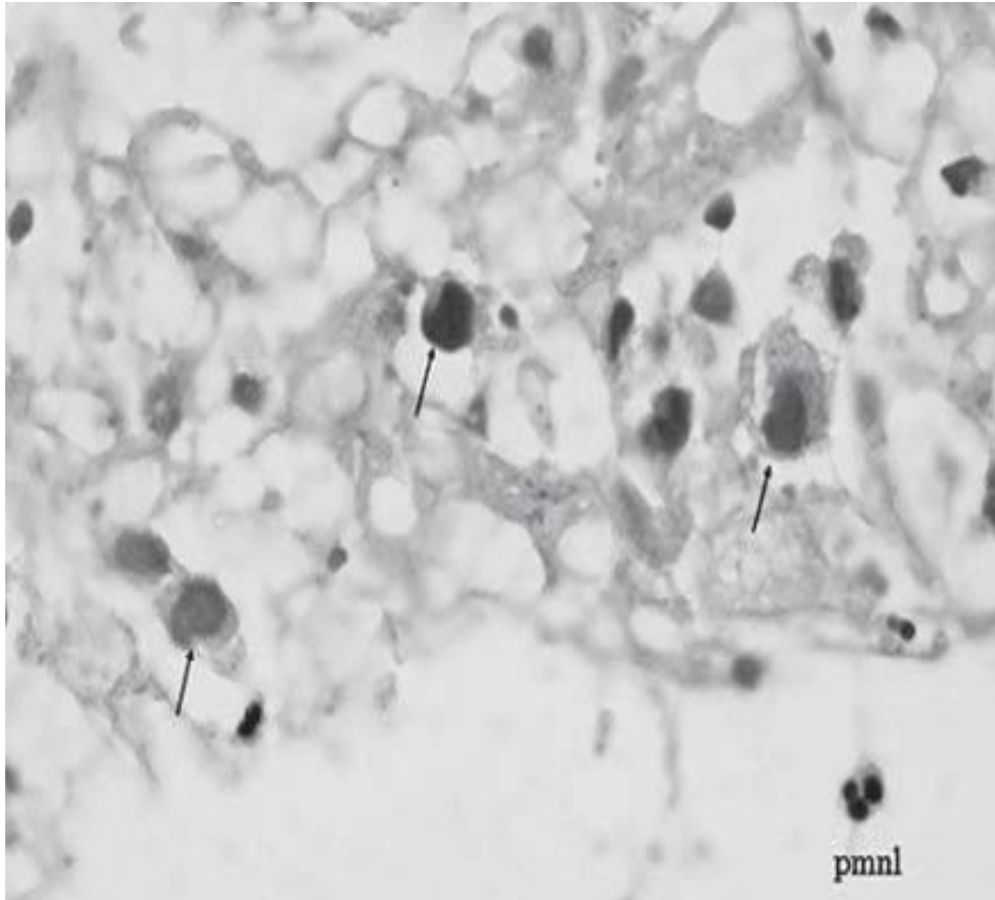
2.10.1. Adenovirüs Enfeksiyonlarının Tanısında Kullanılan Yöntemler

Adenovirüslerin tanısında histopatolojik inceleme, elektron mikroskopi (EM), immün EM immünokromatografik yöntem, lateks aglütinasyon (LA), EIA, ELISA, hücre kültürü, Shell-vial ve polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) kullanılmaktadır (Jawetz ve diğerleri, 2010: 419, 426; Mitchell ve diğerleri, 2000: 79, 92).

Histopatolojik İnceleme

Adenovirüs enfeksiyonlarında; histopatolojik inceleme için örnekler hematoksylen-eozin ile boyanarak inklüzyon cisimlerinin varlığı araştırılabilir. Enfekte hücrede inklüzyon cisimcikleri intranükleer yerleşimlidir.

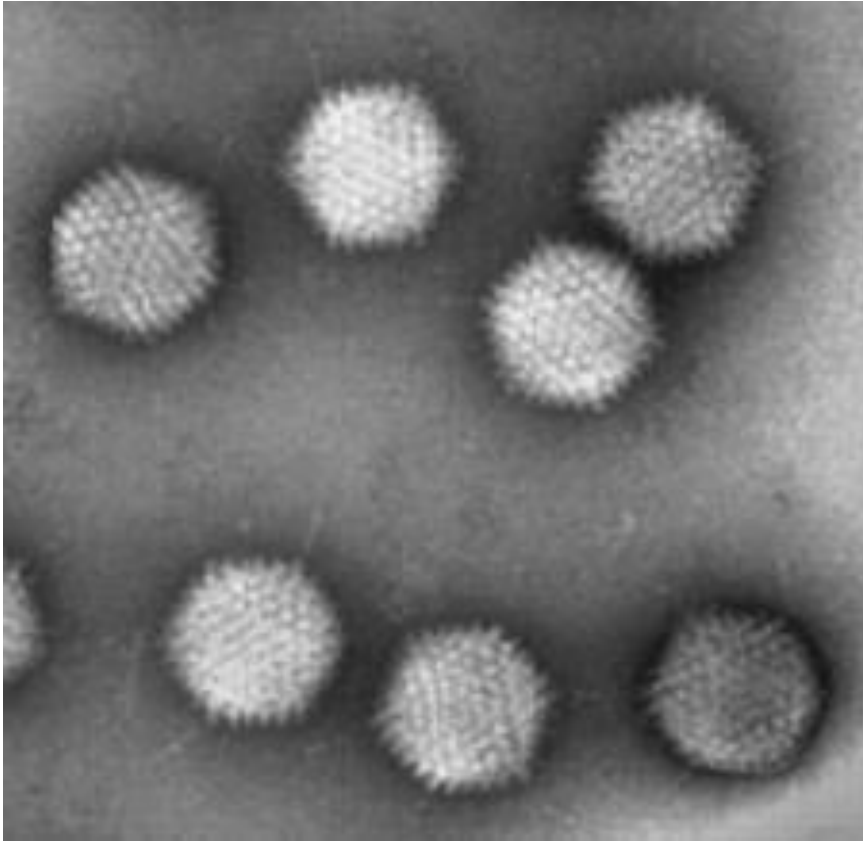
Adenovirüs inklüzyonlarının sitomegalovirüs inklüzyonlarından ayırımı yapılmalıdır. Çünkü adenovirüsler sitomegalovirüs gibi hücre büyümesine yol açmamaktadırlar.



Resim 2.2. Bronş epitelinde inklüzyon cisimciklerinin görünümü (smudge cell) (Sürmeli ve diğerleri, 2012)

Elektron Mikroskopisi

Adenovirüsler 12 köşeli yapısı ve her bir köşesinden uzanan kendisine özgü fiberleri ile elektron mikroskopunda kolayca teşhis edilmektedir. Adenovirüslerin bu karakterisitik yapısı diğer gastroenterit etkeni virüslerden ayırt edilmesinde önemlidir. Elektron mikroskopu, örnekte az sayıda virüsün bulunduğu örneklerde tanıda avantaj sağlayabilmektedir. Ancak elektron mikroskopu ile inceleme yoğun emek isteyen, teknik olarak zahmetli, diğer tanı yöntemlerine göre daha az duyarlı ve deneyimli personel gerektiren bir yöntem olduğundan klinik laboratuvarlarda rutin tanıda pek kullanılmaz.



Resim 2.3. Adenovirüsün EM'deki morfolojisi (Favier ve diğerleri, 2002).

İmmün Elektron Mikroskopisi (IEM)

İmmün elektron mikroskopisi tekniğinde virüs tespiti için önce spesifik antikorlar kullanılmakta daha sonra elektron mikroskopunda inceleme yapılmaktadır. Antikorlar, test edilen örnekte bulunan viral partikülleri bir araya toplamakta ve spesifik antikorların varlığında ortaya çıkan bu virüs kümesi, virüsün tespitini kolaylaştırmaktadır (Thornton, Jennings-Conklin ve McCormick, 2004).

Antijen Saptama

Antijen saptanmasına dayanan yöntemler, RIA (radyo immünoassay), EIA (enzim immünoassay), ELISA (Enzim-Linked Immunosorbent Assay), LA (Lateks aglütinasyon) ve immünokromatografik test yöntemleridir.

Adenovirüslerin neden olduğu solunum yolu enfeksiyonları ve gastrointestinal sistem enfeksiyonlarının tanısında direkt antijen saptanması oldukça yaygındır.

Gastrointestinal enfeksiyonlarda adenovirüslerin tanısı için genellikle, immünokromatografi yönteminden yararlanır. İmmünokromatografi yönteminde hasta örneği, örneğin koyulduğu alandan kaset boyunca yatay olarak ilerler, antijen virüse spesifik antikorlara bağlanır ve birkaç dakika içinde renkli çizgi oluşur.

Antikor Saptama

IgM yanıtının saptanması veya serum örnekleri arasında IgG'de en az dört kat titre artışının gösterilmesine dayanmaktadır. Ancak adenovirüs enfeksiyonlarında bebeklerdeki antikor cevabı oldukça düşüktür. Büyük çocuklar ve erişkinlerin de yalnızca %20-50'sinde IgM cevabı oluşur (Willke Topçu ve diğerleri, 2008: 1717-1727).

Kompleman fiksasyon, Enzim Immuno Assay (EIA), nötralizasyon ve hemaglütinasyon inhibisyon testleri antikorların ölçümünde sıklıkla kullanılır. Kompleman fiksasyon testinin duyarlılığı %50-70, EIA testinin duyarlılığı %70-80 arasında değişmektedir (Ruuskanen, 2002).

Nötralizasyon ve hemaglütinasyon testleri ise serotiplerin belirlenmesi, serotiple ilişkili hastalıkların tanısı ve immün yanıtla ilgili çalışmalarda kullanılmaktadır. İmmünyetmezliği olan hastalarda ise serolojik tanının yeri yoktur (Us ve Ergünay, 2012: 177, 215).

Hücre Kültürü

Hücre kültürü adenovirüs tanısında altın standart yöntemdir. Gastroenterit etkeni olan enterik adenovirüsler ise (AdV40 ve AdV41) hücre kültürlerinde üretilemezler, ancak Graham 293 hücrelerinde üretilbildiği bildirilmiştir (Takiff, Straus ve Garon, 1981).

Enterik adenovirüsler dışındaki serotipler için hücre kültürü olarak insan akciğer karsinom hücre (A549) dizisi, oral kavite karsinomundan elde edilen hücreler (KB), insan serviks karsinoma hücresi (HeLa) ve insan larinks epidermoid karsinoma hücresi (HEp-2) kullanılmaktadır.

Adenovirüsler için tipik sitopatik etki; ortalama olarak bir hafta içinde hücrelerin yuvarlaklaşması ve üzüm salkımı gibi bir araya toplanmasıdır (Ruuskanen, 2002).

Sitopatik etkinin ortaya çıkmasını takiben gruba veya tipe özgül antikorlar kullanılarak immunofloresan testi, ELISA testi, lateks aglütinasyon testi ile identifikasyon yapılır. Bazı adenovirüs serotiplerinin hücre kültüründe üretilebilmesi için 21. güne kadar beklenilebilmektedir. Hücre kültürü yönteminin zahmetli olması ve uzun süre beklenmesi gerekliliğinden dolayı günümüzde tanı amaçlı kullanımı kısıtlıdır (Us ve Ergünay, 2012: 177, 215).

Shell-vial

Shell-vial yönteminde içinde bir lamel içeren tüpler kullanılır ve hücre içinde oluşan erken viral proteinler saptanabilir. Sitopatik etki meydana gelişinin gözlenmesi beklenmez.

Virüs ihtiva ettiği düşünülen örnekler doğrudan doku kültürü hücreleri üzerine santrifüje edilip 1-2 gün inkübe edilirler. İnkübasyondan sonra monoklonal antikorlarla test edilirler, ancak bu yöntem artık kullanılmamaktadır (Jawetz ve diğerleri, 2010: 419, 426).

Moleküler Yöntemler

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) in vitro olarak nükleik asitlerin replikasyonunu sağlayan bir tekniktir. PZR, hedef DNA'nın amplifikasyonunu sağlarken daha az örnek veya daha az virüs içeren klinik materyal ile test yapılmasına olanak verir.

Viral genomun tespiti çok duyarlı bir yöntemdir, ayrıca klinik örnekte virüs miktarı az olduğunda kültüre göre avantaj sağlar. Moleküler yöntemler oldukça duyarlı ve özgül olmalarına karşın çok sayıda malzeme, ekipman ve tecrübeli personel gerektirmektedir.

Moleküler testler; yüksek duyarlılıkları, çok sayıda örneğin birlikte çalışılabilmesi, kısa sürede ve viral yük çok düşük olduğunda bile sonuç vermesi nedeniyle çoğu virüsün tanısında tercih edilmektedir.

Adenovirüs enfeksiyonlarında ise virüsün latentliği söz konusu olduğundan PZR testleri bazen enfeksiyöz olmayan virüsleri de saptamaktadır. Bu nedenle sonuçlar klinik ile beraber yorumlanmalıdır. (Echavarria, 2008) Moleküler çalışmalarda en sık kullanılan primerler bütün adenovirüs serotiplerini amplifiye edebilen hekson primerleridir.

Adenovirüsler tipe özgü primerler ile veya PZR sonrasında restriksiyon enzim analizi ya da DNA dizi analizi ile tiplendirilebilirler.

2.11. Adenovirüs Enfeksiyonlarında Tedavi

Adenovirüs enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan özgül bir antiviral ilaç mevcut değildir ve enfeksiyonlar genellikle kendiliğinden iyileşir. Adenovirüs enfeksiyonunun antiviral ilaçlarla tedavisi hakkındaki klinik çalışmalar az sayıdadır.

Cidofovir'in invitro çalışmalarda ve hayvan deneylerinde adenovirüs enfeksiyonunun gözdeki bulgularını geriletmediği gösterilmiştir. (Kinchington, Romanowski ve Jerold , 2005).

İmmünyetmezlikli hastalarda adenovirüs enfeksiyonları ölümcül seyrettiğinden adenovirüs enfeksiyonlarının tedavisi immünyetmezlikli olan hastalarda önem arz etmektedir. Tedavide gansiklovir, vidarabin, ribavirin ve cidofovir gibi antiviral ilaçlar tercih edilebilir. Antivirallerin yanı sıra iyi bir destek tedavi ile birlikte kök hücre ve solid organ transplantasyonu olan hastalarda adenovirüs enfeksiyonlarında immünoterapi ile bağışıklık sistemini güçlendirmek, lenfosit ve CD4 T hücre düzeyini arttırmak immünyetmezliği olanlarda son yıllarda üzerinde durulan bir diğer tedavi seçeneğidir (Feucht ve diğerleri, 2015).

Cidofovir'e tüm adenovirüs serotipleri invitro olarak duyarlıdır. Nefrotoksisite, üveit gibi ciddi yan etkileri olmasına rağmen transplant sonrası gelişen adenovirüs enfeksiyonlarında cidofovir yaygın şekilde kullanılmaktadır (Echavarria, 2008).

Kök hücre transplantasyonu olmuş 58 pediatrik hastada cidofovir ile tedavi sonrası çoğu vakada semptom ve vireminin kaybolduğu belirtilmiştir (Yusuf ve diğerleri, 2006).

Adenovirüs gastroenteritinin tedavisinde destek tedavinin üzerinde durulmaktadır. Özellikle dehidrasyon önlenmeli ve izotonik sıvılarla sıvı takviyesi yapılmalıdır. Anne sütü alan bebeklerin daha sık emzirilmesi, anne sütü almayan bebeklerin ise öğün sayısı artırılarak beslenmelerine devam edilmesi önemlidir. İki yaş altı çocuklarda dehidratasyonun önlenmesi için her dışkılamadan sonra 1/2-1 çay bardağı (50-100 mL), daha büyük çocuklarda 1/2-1 su bardağı (100-200 mL) sıvı verilmesi tavsiye edilmektedir (Kutlu, 2007).

2.11.1. Gen tedavisinde adenoviral vektörler

İlk klinik gen tedavisi 1990 yılında bildirilmiştir (Rosenberg ve diğerleri, 1990). İlerleyen yıllarda ise gen tedavi çalışmaları gittikçe artmıştır.

Dokulara gen transferi ancak rekombinant DNA teknolojisinin gelişmesiyle mümkün olmuştur. Gen tedavisi önce kistik fibroz, hemofili gibi genetik hastalıkların tedavisinde denenmiş, zamanla genetik hastalıkların dışında da kullanılmaya başlanmıştır (Cotrim ve Baum, 2008).

Gen tedavisine kullanılacak vektörün az maliyet ile fazla miktarda üretilebilmesinin yanı sıra saflaştırılmasının kolay olması ve uygulamalar için de elverişli olması gerekmektedir (Gardlik ve diğerleri, 2005). Klinik gen tedavi çalışmalarının yaklaşık %70'inde viral vektörler kullanılmaktadır (Edelstein ve diğerleri, 2007).

Gen tedavisinde kullanılan vektörlerde, virüslerin hastalığa neden olan genleri çıkarılıp yerine rekombinant genler yerleştirilmektedir. Adenoviral vektörler yüksek miktarda üretilebilmesi, saflaştırılmasının kolay olması, in vivo ve in vitro koşullarda birçok hücre tipini enfekte edebilmesi ve 2 kb büyüklüğünde yabancı DNA'yı alabilme kapasitesi nedeniyle gen tedavisinde sıklıkla tercih edilirler. Ayrıca adenovirüs genomun bir kısmının çıkarılması ile yabancı DNA alabilme kapasitesi 7,5 kb'ye kadar da çıkarılabilmektedir.

2.12. Adenovirüs Enfeksiyonlarından Korunma

Virüs deterjanlara, proteaz ve safra gibi gastrointestinal sıvılara dayanıklı olduğundan fekal-oral yolla, klorlanmamış yüzme havuzları ile kontamine ellerle ve kontamine aletlerle bulaşır, oda ısısında 2 haftada; 56°C'de 30 dakikada, 0.5 µg/ml klorda 1 dakikada %70 etanol ile 1 dakikada inaktive olurlar. Diğer enterik virüslere oranla çeşme suyunun kloruna, deniz suyuna ve ultraviyole ışınlarına daha dirençlidir. (Murray ve diğerleri, 2013: 454, 460; Thurston-Enriquez, Haas, Jacangelo, Riley ve Gerba, 2003; Us ve Ergünay, 2012: 177, 215). Adenovirüs enfeksiyonlarından ve salgınlarından korunmak için; el hijyenine dikkat edilmeli, kalabalık yaşam alanları, ortak kullanılan tıbbi aletlerin ve eşyaların hijyenik koşullara uygun olması sağlanmalıdır. Su kaynaklı konjunktivit salgınları yüzme havuzlarının ve atık suların klorlanmasıyla azaltılabilir.

Bağışıklama adenovirüs enfeksiyonlarından korunmada etkili bir yöntem olmakla birlikte sadece askeri personele solunum yolu enfeksiyonlarından korumak için uygulanmaktadır. Adenovirüs enfeksiyonlarından korunmada proflaktik olarak herhangi bir antiviral ilaç bulunmamaktadır.

2.13. Adenovirüs Aşısı

Adenovirüs enfeksiyonlarının önlenmesi amacıyla çeşitli aşılar üretilmiştir. Canlı atanue aşılarda üretiminde ilk olarak primer maymun böbrek hücreleri kullanılmış, fakat bu hücrelerde bulunabilen SV40 virüsü ile kontaminasyonlar görüldüğü için maymun hücreleri yerine insan diploid hücreleri kullanılmaya başlanmıştır.

Adenovirüs enfeksiyonlardan korunmak için oral yoldan kullanılan canlı aşılar bulunmaktadır. Özellikle askeri birliklerde kullanılmaktadır. Çünkü adenovirüsler, askeri birliklerde sıklıkla AdV4 ve AdV7 tarafından oluşturulan ve fatal pnömoniye kadar ilerleyen salgınlara neden olmaktadır. Oral kapsüllerdeki aşı içeriğindeki serotipler solunum epitelini geçerek barsakta açılır ve subklinik bir enfeksiyon meydana getirmektedirler. Aşılama ile bağışıklama oldukça başarılıdır. Adenovirüs aşısının çocukların aşılama için lisansı yoktur. Çocuklarda en sık enfeksiyona neden olan AdV1, AdV2, ve AdV5'e karşı aşı çalışmaları devam etmektedir (Langley, 2005).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Dışkı Örneklerinin Toplanması

Çalışmaya, Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne Temmuz 2007 ile Haziran 2011 tarihleri arasında akut gastroenterit şikayeti ile başvuran 0-5 yaş arasındaki 180 hasta dahil edilmiştir. Hastalar; yaş, cinsiyet, aylar, yıllar, mevsimler ve birbirleri ile ilişkileri bakımından değerlendirilmiştir. Toplanan dışkı örnekleri çalışılana kadar – 80°C derin dondurucuda (Sanyo, Japonya) saklanmıştır.

3.2. Laboratuvar Araç ve Gereçleri

Derin dondurucu, -80°C (Sanyo, Japonya)

Derin dondurucu, -20°C (Bosch, Almanya)

Buzdolabı (Uğur, Türkiye)

Otoklav (Hirayama, Japonya)

Laminar hava akımlı kabin (MetiSafe, Metis Biyoteknoloji, Türkiye)

Santrifüj (Heraeus Biofuge Pico, Almanya).

Thermal cycler cihazı (Applied Biosystem, ABD)

Jel elektroforez tankı (CSCleaver Scientific, İngiltere)

Jel görüntüleme cihazı (UVITEC Cambridge, İngiltere)

Sekans cihazı (ABI Prism 3130XL, Applied Biosystems, ABD)

Vorteks cihazı (VELP, Scientifica, Almanya)

Mikrosantrifüj (Heraeus, Almanya)

Hassas terazi (Shimadzu, Japonya)

10, 100, 1000 ml'lik mikropipetler (Discovery Comfort, HTL, Polonya)

Mikropipet uçları (Axygen, ABD)

0.2–0.5-1.5 µL'lik endorf tüpler (Greiner Bio-One, Almanya)

pH metre (Fisher Scientific, ABD)

3.3. Adenovirüs Antijeninin İmmünokromatografik Yöntem İle Saptanması

Çocuk hastaların dışkı örneklerinde adenovirüs antijenlerinin varlığı ilk olarak immünokromatografik yöntemle araştırılmıştır. Bu amaçla ticari olarak hazırlanan Vıkıa® Rota-Adeno kiti (bioMérieux, Fransa) kullanılmıştır. Vıkıa® Rota-Adeno kiti için üretici firma tarafından özgüllük %100, duyarlılık %97.6 olarak bildirilmektedir. İmmünokromatografik yöntemin uygulaması ve sonuçların değerlendirilmesi üretici firmaların önerileri doğrultusunda yapılmıştır.

Vıkıa® Rota-Adeno kiti (bioMérieux, Fransa) içindekiler (Resim 3.1):

- ❖ Kullanıma hazır 20 adet test kartı. (Kromatografik membranda yer alan “A” test bölgesinde, kırmızı renkte polistren mikrosfer ile bağlanmış anti-adenovirüs monoklonal antikorları; “C” kontrol bölgesinde, IgG poliklonal antikorları mevcuttur.)
- ❖ Dışkı sulandırma tamponu (pH 7.2 fosfat tamponu + 0.9 g/l sodyum azide)
- ❖ Tek kullanımlık dışkı damlalığı

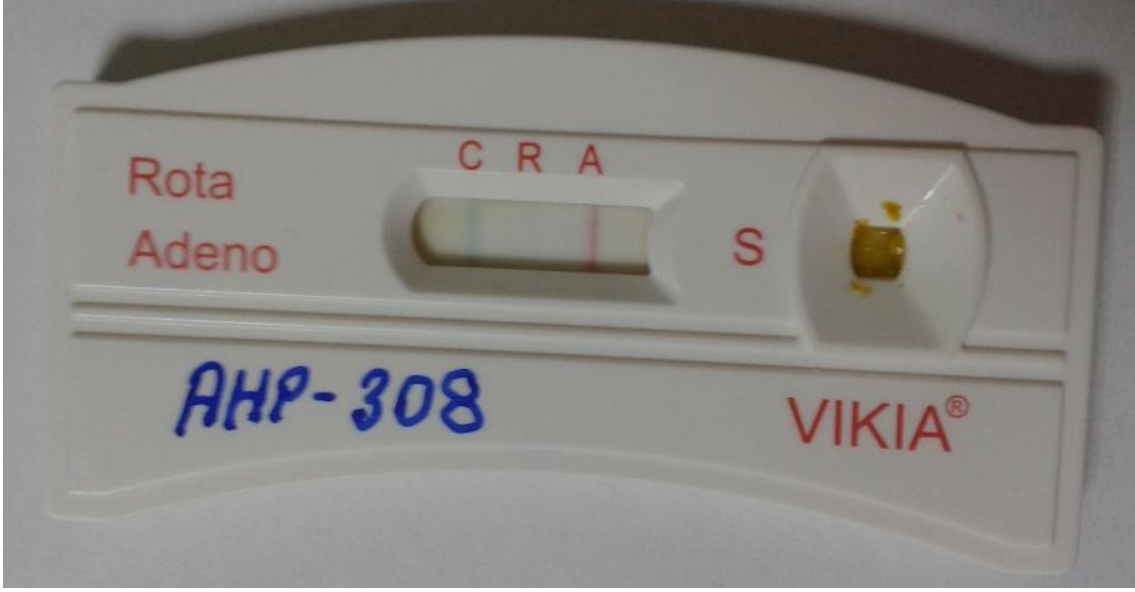


Resim 3.1. VIKIA® Rota-Adeno kiti (bioMérieux, Fransa) içindekiler

İmmünokromatografik testin uygulanışı:

1. 0-5 yaş arası gastroenteritli hastalardan alınan ve çalışma zamanına kadar -80°C dondurucuda (Sanyo, Japonya) saklanan dışkı örnekleri dondurucudan çıkartılarak oda sıcaklığına gelmesi için bekletilmiştir (VIKIA® Rota-Adeno kiti $4-30^{\circ}\text{C}$ 'de depolanabilmektedir).
2. Kutu içerisinden çıkan dışkı sulandırma tamponuna yaklaşık 50 mg dışkı örneği alınmış ve homojenize etmek için vortekslenmiştir.
3. Sıvı kısımdan damlalık yardımıyla bir miktar örnek alınarak test kartı üzerindeki örnek kuyusuna 5 damla damlatılmıştır.
4. 10 dk içerisinde test kartının kontrol bölümünde ("C") mutlaka çizgi oluşması gerekmektedir. Bu, test kartının çalıştığı anlamına gelmektedir. Analiz sonucunda sadece "C" kontrol bölümünde çizgi oluştuğunda örnek, adenovirüs negatif olarak değerlendirilmiştir.

5. Kontrol çizgisi ile beraber "A" bölümünde mavi renkli çizgi oluştuğunda örnek, adenovirüs pozitif olarak değerlendirilmiştir (Resim 3.2.).
6. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda, yanlış pozitiflikten kaçınmak için 15 dk'yı aşan sonuçlar değerlendirmeye alınmamıştır.



Resim 3.2. İmmüno-kromatografik test ile adenovirüs pozitif sonucun görünümü

3.4. Adenovirüs Antijeninin Enzim-Immunoassay Testi İle Saptanması

Çalışmaya alınan tüm örnekler Enzim-Immunoassay testi yapılmıştır. Test için Adenoscreen®EIA kiti (Microgen Bioproduct, Birleşik Krallık) kullanılmıştır. Üretici firma tarafından özgüllük ve duyarlılık %98 olarak bildirilmektedir.

Adenoscreen®EIA (M481) kiti (Microgen Bioproduct, Birleşik Krallık) içindekiler (Resim 3.3):

- ❖ 96 kuyucuklu mikropak: Adenovirüs antikoru ile kaplanmış mikropaklar
- ❖ Wash Buffer (Yıkama tamponu), 100 ml ve 20X konsantre: 0.05% Tween 20 içeren fosfat-tamponlu NaCl solüsyonu (pH:7.0-7.2)
- ❖ Pozitif kontrol, 1.0 ml: İçinde adenovirüs hekson proteini içeren örnek

- ❖ Konjugat, 5 ml: Horseradish peroksidazı ile konjuge edilmiş tavşan anti-adenovirüs hekzon antikoru
- ❖ Substrat, 2x5 ml: Hidrojen peroksit / TMB (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine)
- ❖ Stop solüsyonu (Reaksiyon durdurma solüsyonu), 2x5 ml: 0.5M sülfürik asit
- ❖ Sample Diluent, 100 ml



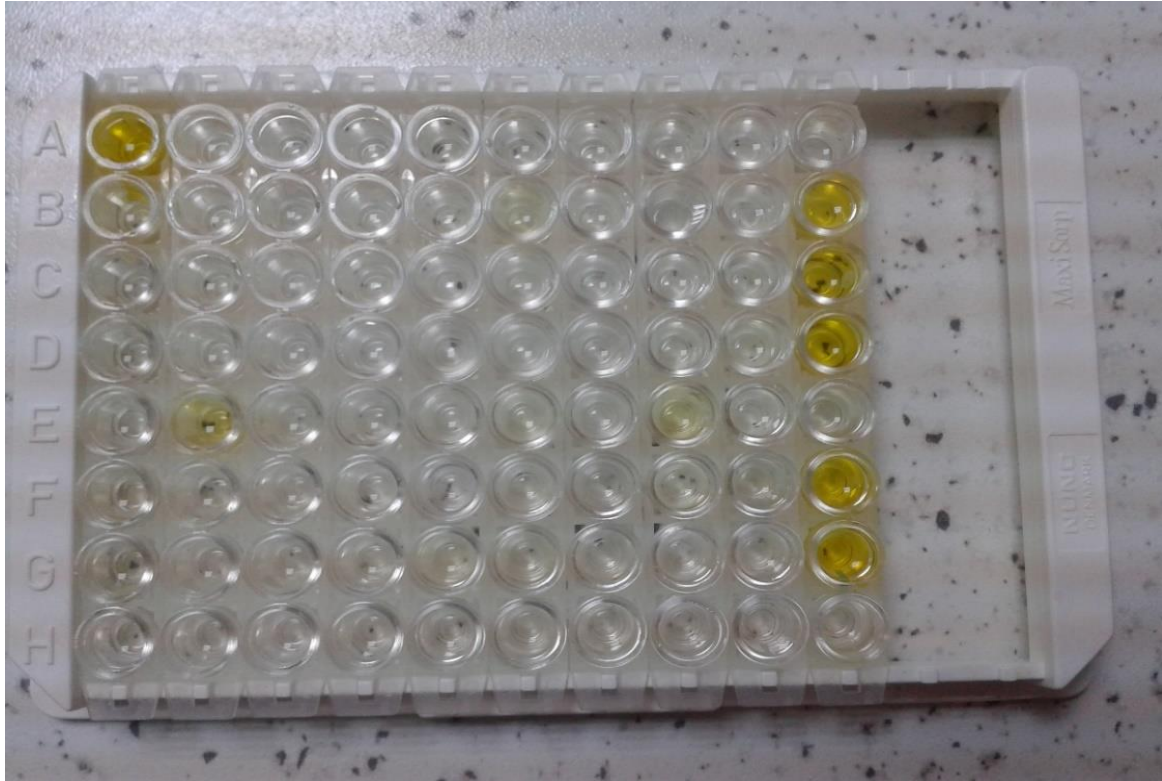
Resim 3.3. Adenoscreen®EIA kiti (Microgen Bioproduct, Birleşik Krallık) içindekiler

Adenovirüs Enzim-Immunoassay testinin uygulaması:

1. 0-5 yaş arası gastroenteritli hastalardan alınan ve çalışma zamanına kadar -80°C dondurucuda (Sanyo, Japonya) saklanan dışkı örnekleri dondurucudan çıkartılarak oda sıcaklığına gelmesi için bekletilmiştir.
2. Kit kullanılmadan önce $+4^{\circ}\text{C}$ 'den çıkartılarak oda sıcaklığına ($18-25^{\circ}\text{C}$) gelmesi için bekletilmiştir.

3. Her bir gaita örneğinden dilüsyon amacıyla 100 µl alınarak steril ependorflar içine konulmuştur.
4. Alınan gaitaların üzerine 900 µl Sample Diluent eklenerek örnekler dilüe edilmiştir.
5. Dilüe edilen örnekler 2-3 sn vortekslenmiş (Velp Scientifica, İtalya) ve 1 dk 1000 g'de santrifüj edilmiştir (Heraeus Biofuge Pico, Almanya).
6. Wash buffer, distile su ile 1:20 oranında sulandırılmıştır.
7. Mikroplağın A1 kuyucuğuna 50 µl (1 damla) pozitif kontrol, B1 kuyucuğuna negatif kontrol olarak 50 µl (1 damla) sample diluent konulmuştur.
8. Diğer tüm kuyucuklara 50 µl dilüe edilmiş hasta örnekleri konulmuştur.
9. Her kuyucuğa 50 µl (1 damla) konjugat eklenmiş ve iyice karıştırılmıştır.
10. Mikroplak oda sıcaklığında 30 dk inkübasyona bırakılmıştır.
11. İnkübasyondan sonra mikroplak 150 µl dilüe edilmiş wash buffer ile yıkanmıştır. Ortamda hiç sıvı kalmaması için gazlı bez üzerine ters çevrilerek tap yapılmıştır.
12. Her kuyucuğa 100 µl (2 damla) substrat solüsyonu eklenmiştir.
13. Mikroplak oda sıcaklığında 20 dakika inkübe edilmiştir.
14. İnkübasyonun ardından her kuyucuğa 100 µl (2 damla) stop solüsyonu eklenmiştir.
15. Pozitif örneklerde stop solüsyonunun eklenmesiyle maviden sarıya dönen renk değişimi gözlenmiştir (Resim 3.4).
16. Kuyucuklardaki renk değişimi, spektrofotometrede (das Plate Reader, İtalya) 450 nm dalga boyunda okutularak değerlendirilmiştir.

17. Enzim Immunoassay kitinin talimatları doğrultusunda validasyon için pozitif kontrolün 450 nm'deki absorbansı >0.6 ; negatif kontrolün 450 nm'deki absorbansı <0.15 olarak belirlenmiştir.
18. Analiz için "Cut-off" değeri; negatif kontrolün optik yoğunluğu $+0.1$ olarak hesaplanmıştır. Optik yoğunluğu hesaplanan cut-off değerinin % 10 üzerinde olan örnekler pozitif olarak, altında olan örnekler negatif olarak kabul edilmiştir.



Resim 3.4. Enzim-Immunoassay mikroplağındaki renk değişiminin görünümü

3.5. Adenovirüsün Moleküler Analiz İle Saptanması

Çalışmaya dahil edilen tüm örnekler adenovirüs tespit etmek üzere son olarak moleküler analize alınmıştır. Bu amaçla, gaita örneklerinden viral DNA ekstrakte edilmiş, PZR yapılarak jel elektroforezde görüntülenmiştir. PZR sonucu adenovirüs pozitif örneklerin sekans analizi yapılmış; DNA dizi analizi ile genotiplendirilmesi ve filogenetik analizleri yapılmıştır.

3.5.1. DNA ekstraksiyon yöntemi

Dışkı örneklerinden viral DNA izolasyonu için QIAamp® Viral RNA Kit (QIAGEN, Almanya) kullanılmıştır. Viral DNA örneği spin kolon yöntemi ile üretici firmanın protokolü doğrultusunda izole edilmiştir. Ekstraksiyon örnekleri çalışma yapılincaya kadar -80°C’de saklanmıştır.

QIAamp® Viral RNA Kit (QIAGEN, Almanya) içindekiler (Resim 3.5):

- ❖ QIAamp Mini Spin Kolonlar, 50 adet
- ❖ Tüpler (2 ml) 200 adet
- ❖ Buffer AVL, 31 ml
- ❖ Buffer AW1 (Konsantre), 19 ml
- ❖ Buffer AW2 (Konsantre), 13 ml
- ❖ Buffer AVE, 3x2 ml
- ❖ Carrier RNA (Poly A) 310 µg



Resim 3.5. QIAamp® Viral RNA Kiti (QIAGEN, Almanya) içindekiler

Adenovirüs DNA ekstraksiyonu için çalışma protokolü uygulanişı:

1. Buffer AW1 (konsantre, 19 ml), 25ml %96-100 etanol ile karıştırılmıştır.
2. Buffer AW2 (konsantre, 13 ml) 30ml %96-100 etanol ile karıştırılmıştır.
3. Dışkı örnekleri ve Buffer AVL oda sıcaklığına getirilmiştir.
4. 310 µl Carrier RNA ile 310 µl Buffer AVE karıştırılmıştır.
5. Hazırlanan Carrier RNA-Buffer AVE' den 61.6 µl alınmış, 6.16 µl Buffer AVL ile karıştırılmıştır.
6. Buffer AVL'den mikrosantrifüj tüplerine 560 µl alınıp, üzerine 140 µl gaita eklenmiştir.
7. Tüpler 15 sn vortekslenmiş oda sıcaklığında 10 dk inkübe edilmiştir.
8. İnkübasyon sonrasında tüplere 560 µl etanol eklenerek 15 sn vortekslenmiş ve spin santrifüj yapılmıştır.
9. Mini kolonlara santrifüj yapılan tüplerden 630 µl aktarılarak 8 000 rpm de 1 dk santrifüj yapılmıştır (2 defa).
10. Tüpler yenileri ile değiştirilmiş, üzerine 500 µl Buffer AW1 eklenmiş ve 8 000 rpm de 1 dk santrifüj yapılmıştır.
11. Tüpler yenileri ile değiştirilmiş, üzerine 500 µl Buffer AW2 eklenmiş ve 14 000 rpm de 3 dk santrifüj yapılmıştır.
12. Tüpler yenileri ile değiştirilmiş, üzerine 60 µl Buffer AWE eklenmiş ve 8 000 rpm de 1 dk santrifüj yapılmıştır.
13. Tüplerin kapakları kapatılarak PZR yapılına kadar -80°C'de saklanmıştır.

3.5.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

PZR’da adenovirüslerin hekson bölgesine yönelik primerler kullanılmıştır.

Forward Primer: 5'GCCACGGTGGGGTTTCTAAACTT3'

Reverse Primer: 5'GCCCCAGTGGTCTTACATGCACATC3'

1 örnek için PZR protokolü:

Distile su.....	8.5 µl
Master Mix (Taq Polimeraz, dNTP, MgCl ₂ ve reaksiyon buffer).....	12.5 µl
Primer (reverse).....	1.5 µl
Primer (forward).....	1.5 µl
DNA miktarı.....	1.0 µl

Amplifikasyon karışımı hazırlandıktan sonra, 15 sn vortekslenmiş ve spin santrifüj edilmiş, tüplere 24 µl dağıtılmıştır. Her PZR tüpünün üzerine ekstrakte edilmiş viral DNA örneğinden 1 µl eklenmiş ve Termal Cycler’a yerleştirilmiştir. Termal Cycler’dan çıkan amplifikasyon ürünleri çalışılana kadar +4°C’de saklanmıştır.

Çizelge 3.1. Termal cycler programı

Derece (°C)	Süre	Siklus
94°C	5 dk	1 siklus
94°C	30 sn	40 siklus
54°C	30 sn	
72°C	30 sn	
72°C	5 dk	1 siklus

3.5.3. Adenovirüs pozitif DNA örneklerinin agaroz jel elektroforezi

Polimeraz zincir reaksiyonu sonucunda, oluşan amplifikasyon ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülmüştür.

Agaroz jelinin hazırlanması

5X stok TBE (Tris Borat EDTA) solüsyonunun hazırlanması:

54 g Tris -Base (Ambresco, ABD)

27.5 g Borik Asit (Merck, Almanya)

20 ml 0.5 M EDTA (pH 8.0) (Sigma, Almanya)

Tris, Borik asit ve 0.5M EDTA 1000 ml distile suda eritilerek otoklavlanmıştır. Agaroz jelin hazırlanmasında ve yürütme tamponu olarak kullanılması sırasında 5X TBE stok solüsyonu, 1X'e çevrilerek kullanılmıştır.

1. Stok solüsyonu, 1X TBE'ye çevrilirken; 100 ml 5X TBE 400 ml distile su içinde dilüe edilmiştir.
2. 2 g agaroz (AppliChem, Almanya) tartılarak üzerine 100 ml 1X TBE ilave edilmiş, mikrodalga fırında agaroz çözülünceye kadar ısıtılmıştır.
3. Agaroz çözünürken kaynamamasına dikkat edilmiş, mikrodalga fırından çıktıktan sonra >50°C soğutulmuş ve üzerine 0.2 µl DNA boyası etidyum bromid (5µl/10ml AppliChem, Almanya) eklenmiştir.
4. Hazırlanan jel, elektroforez tankının içindeki kalıba dökülmüş ve oda sıcaklığında jelin donması için bekletilmiştir.
5. Jel donduktan sonra kalıp içindeki taraklar çıkartılmış ve elektroforez tankına (CSCleaver Scientific Inc. Warwickshire, İngiltere) yerleştirilerek tank jel yüzeyi kaplanana kadar 1X TBE tamponu ile doldurulmuştur.

6. Jeldeki kuyucuklara DNA yüklemesi için yükleme tamponu olarak Orange G (DNA loading dye, Promega, Medison, ABD) kullanılmıştır.

7. Örneklerden 9 µl alınarak 3 µl yükleme tamponu ile pipetaj yapılarak karıştırılmıştır. Agaroz jel kuyucuklarına, ilk kuyucuk boş bırakılarak 3 µl yükleme tamponu + 6 µl DNA karıştırılarak dağıtılmıştır.

8. İlk kuyucuğa DNA parçalarının moleküler yüklerini tanımlamada yol gösterici olan marker (HyperLadderIV 100 bp, BIOLINE, Birleşik Krallık) yüklenmiştir.

9. Güç kaynağı çalıştırılarak (LABNET International Power Station 300, Edison, İngiltere) 40 mA, 90 V'da 20 dakika yürütülmüştür.

Jel görüntüleme sisteminde (UVITEC Cambridge, İngiltere) UV ışık altında bantların değerlendirilmesi yapılmış, adenovirüs serotiplerinin 131 bp'daki görüntüsü incelenmiştir.

3.5.4. Adenovirüs pozitif DNA örneklerinin dizi analizi

PZR ile adenovirüs pozitif olarak tespit edilen 25 adet örneğin tamamına DNA dizi analizi yapılmıştır. Dizi analizi yapılmadan önce purifikasyon yapılmıştır.

1. İlk olarak örnekler, yüksek tuz konsantrasyonuna sahip silika içeren PZR temizleme solüsyonu ile yıkanmıştır. Örneklerin üzerine solüsyondan 50 µl eklenip, hafifçe karıştırıldıktan sonra 4500 rpm'de 30 sn santrifüj edilmiştir.

2. DNA ile bağlanan silika üstte kalmış ve uzaklaştırılmıştır.

3. 50 µl %70'lik etanol eklenerek iyice karıştırılmış ve 4500 rpm'de santrifüj edilmiştir.

4. Santrifüj sonunda yüksek tuz konsantrasyonuna sahip solüsyon üstte kalmış ve uzaklaştırılmıştır.

5. Tüplere 30 µl su eklenerek 65 °C etüvde bekletilmiş ve 4500 rpm'de 30 sn santrifüj edilmiştir.

Temizleme işlemi sonrasında Adenovirüs tiplerinin belirlenmesi için Big Dye Terminator Cycle Sequencing (Applied Biosystem, ABD) kiti ve PZR' da kullanılan hekzon primerleri ile Gene Amp PCR System 9700 (Applied Biosystems) cihazında sekans PZR'ı yapılmıştır.

Her reaksiyon 10 µl karışım ve 1 µl PZR ürünü ile gerçekleştirilmiştir.

Karışım İçeriği (Toplam Hacim 10 µl)

Big Dye Terminator v 3.1 reaksiyon karışımı (Applied Biosystems).....	1 µl
5X sekans tamponu (Applied Biosystem)	1.8 µl
Primer (5pmol)	1 µl
Distile su	7.8 µl

Sekans PZR'ı sonrasında tüplerde DNA ile birlikte bulunan maddelerin uzaklaştırılması için tekrar purifikasyon yapılmış; örnekler Performa Short Plate (Edge Bio) ile saflaştırılmış ve ABI Prism® 3130XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems, ABD) cihazına yerleştirilerek dizi analizi gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen diziler, NCBI GenBank (BLAST) veri tabanında yer alan diziler ile karşılaştırılarak adenovirüs tipleri belirlenmiştir.

3.5.5. Adenovirüs tiplerinin filogenetik analizi

Elde edilen diziler arasındaki genetik farklılık, Kimura'nın iki parametre yöntemi (K2P) ile hesaplanmıştır (Kimura, 1980). K2P yöntemi ile birbirine yakın olan diziler aynı grupta sınıflandırılmaktadır. Dizilerin birbiri ile yakınlıkları hesaplandıktan sonra diziler MEGA 6.0 programında Clustal W Multiple Alignment yöntemi ile hizalanmıştır.

Referans diziler ve GenBank'tan elde edilen diziler ile "neighbour-joining tree" metodu kullanılarak filogenetik ağaç çizilmiştir (Tamura, Dudley, Nei ve Kumar, 2007).

3.6. Klinik Veriler

Çalışmaya alınan hastaların tamamında (n=180) ishal görülmektedir. Tüm hastaların günlük ishal sayıları kayıt altına alınmıştır. Hastalarda kusma görülmesi ve kusma sayısı ile ilgili bilgileri de mevcuttur.

3.7. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS 20.0 (SPSS Inc., ABD) bilgisayar programı aracılığıyla yapılmıştır. Ki-Kare ve Mann Whitney U testi kullanılarak veriler değerlendirilmiş ve yapılan tüm analizlerde $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Bu çalışma; ülkemizdeki epidemiyolojik çalışmalara kaynak oluşturabilmek amacıyla, 0-5 yaş arası çocuklarda viral gastroenterit etkenlerinden adenovirüsün sıklığının belirlenmesi, yaş gruplarına, aylara ve mevsimlere göre dağılımının incelenmesi, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve DNA dizi analizi yapılarak adenovirüs 40/41 haricinde bulunan serotiplerin tanımlanması ve filogenetik analizinin yapılması şeklinde tasarlanmıştır.

Gaita örnekleri immünokromatografik hızlı tanı yöntemi, Enzim-Immunoassay (EIA) ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile çalışılarak adenovirüs tanısında kullanılan bu yöntemler birbirleri ile karşılaştırılmıştır.

Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne Temmuz 2007 ile Haziran 2011 tarihleri arasında akut gastroenterit şikayeti ile başvuran 0-5 yaş arasındaki 180 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmaya alınan 180 hastanın 90'ını (%50) kız, 90'ını (%50) da erkek hastalar oluşturmuştur.

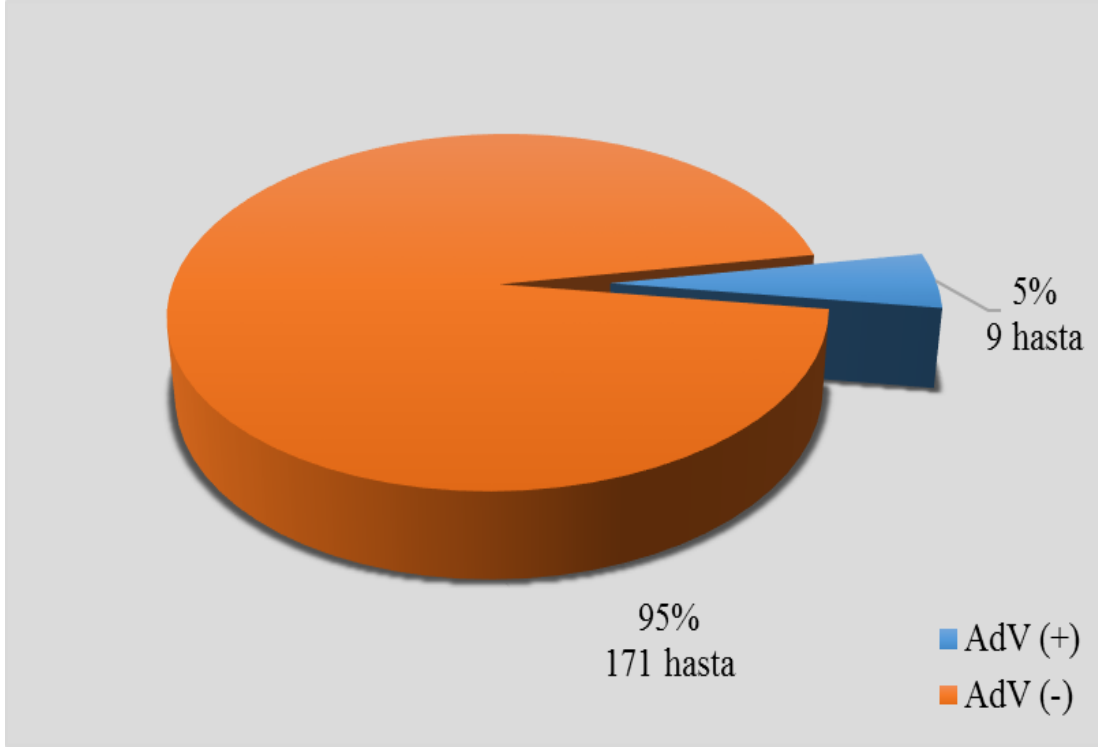
Rotavirüs, Norovirüs ve Bufavirüs pozitif örnekler ile parazit ve bakteri tespit edilen örnekler çalışmanın dışında bırakılmıştır.

Çizelge 4.1. Çalışmaya dahil edilen çocukların yaş gruplarına göre dağılımı (n=180)

Yaş Grupları (Ay)	Sayı	Kız (♀)	Erkek (♂)	Yüzde (%)
0-2	9	3	6	%5.0
3-5	15	6	9	%8.3
6-11	41	26	15	%22.8
12-23	41	20	21	%22.8
24-35	34	13	21	%18.9
36-47	16	7	9	%8.9
48-59	24	13	11	%13.3
Toplam	180	90	90	%100.0

4.1. İmmünokromatografik Yöntem Sonuçları

Çalışmaya katılan 180 hastadan 9'unda (%5.0) immünokromatografik yöntem sonucu adenovirüs pozitif bulunurken 171'inde (%95.0) adenovirüs antijeni tespit edilememiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Adenovirüs pozitif ve negatif örneklerin dağılımı (İmmünokromatografik yöntem sonucuna göre)

İmmünokromatografik yöntem ile adenovirüs antijeni saptanan 9 hastanın yaşları 3 ay ile 59 ay arasında değişmektedir.

İmmünokromatografik yöntem ile adenovirüs pozitifliği yaş gruplarına göre değerlendirildiğinde; 3-5 ay grubunda 3 (%1.7), 6-11 ay grubunda 1 (%0.5), 12-23 ay grubunda 1 (%0.5), 24-35 ay grubunda 2 (%1.1), 36-47 ay grubunda 1 (%0.5) ve son olarak 48-59 ay grubunda da 1 (%0.5) hasta olarak dağılım göstermiştir.

0-2 ay grubunda immünokromatografik yöntem ile adenovirüs tespit edilmemiştir. Yaş grubuna göre adenovirüs pozitifliği arasında anlamlı ilişki görülmemiştir ($p > 0.05$) (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Adenovirüs pozitif hastaların yaş gruplarına göre dağılımı (İmmünokromatografik yöntem sonucuna göre) (n=9)

Yaş Grupları (Ay)	Sayı	İmmünokromatografik Yöntem Sonucu Pozitif Hasta Sayısı	Yüzde (%)
0-2	9	0	%0.0
3-5	15	3	%1.7
6-11	41	1	%0.55
12-23	41	1	%0.55
24-35	34	2	%1.1
36-47	16	1	%0.55
48-59	24	1	%0.55
Toplam	180	9	%5.0

Mann-Whitney U testi sonucunda immünokromatografik yöntem ile pozitif ve negatif hastalar arasında yaş farkı gözlenmemiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Adenovirüs pozitif ve negatif hastalarda yaş verisi (İmmünokromatografik yöntem sonucuna göre)

Adenovirüs	Median (Min.-Max.)	Mean±SD
Pozitif	17.50 (3-36)	17.56± 13.37
Negatif	21.00 (0-59)	21.36± 16.18

Hastalar cinsiyet grupları içerisinde ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Kız hastaların immünokromatografik yöntem sonucunda 86'sı (%95.6) negatif, 4'ü (%4.4) ise pozitif bulunurken, erkek hastaların 85'i (%94.4) negatif, 5'i de (%5.6) pozitif bulunmuştur (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Cinsiyetlere göre hastaların dağılımı (İmmünokromatografik yöntem sonucuna göre) (n=180)

Cinsiyet	İmmünokromatografik	İmmünokromatografik	Toplam
	Yöntem Sonucu Negatif Hasta Sayısı	Yöntem Sonucu Pozitif Hasta Sayısı	
Kız	86 (%95.6)	4 (%4.4)	90 (%100)
Erkek	85 (%94.4)	5 (%5.6)	90 (%100)
Toplam	91 (%95.0)	9 (%5.0)	180 (%100)

İmmünokromatografik yöntem sonucu sonucu pozitif olan toplam 9 hastanın 4'ünü (%44.4) kız, 5'ini de (%55.6) erkek hastalar oluşturmaktadır. İmmünokromatografik test ile adenovirüs pozitifliği yönünden cinsiyete göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$) (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. İmmünokromatografik yöntemine göre adenovirüs pozitif hastaların cinsiyete göre dağılımı (n=9)

Cinsiyet	İmmünokromatografik Yönteme Göre Pozitif Hasta Sayısı	Yüzde (%)
Kız	4	%44.4
Erkek	5	%55.6
Toplam	9	%100

Çalışmada kullanılmak üzere örnekler, 2007 yılının temmuz ayında toplanmaya başlanmıştır. Örnekler 2008, 2009 ve 2010 yıllarında yıl boyunca alınmış, son olarak 2011 yılının haziran ayında örnekler toplanmış ve çalışma bitirilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen örnekler 2007 temmuz ayından başlayarak bir sonraki yılın temmuz ayına kadar bir yıl olarak alınmıştır.

İmmünokromatografik test sonucuna göre 2007-2008 yılında alınan 45 örneğin 3'ü (%6.7) pozitif, 42'si (%93.3) negatif; 2008-2009 yılında alınan 45 örneğin 1'i (%2.2) pozitif, 44'ü (%97.8) negatif; 2009-2010 yılında alınan 45 örneğin 4'ü (%8.9) pozitif, 41'i (%91.1) negatif; 2010-2011 yılında alınan 45 örneğin 1'i (%2.2) pozitif, 44'ü (%97.8) negatif olarak bulunmuştur. Çalışmamızda yıllara göre immünokromatografik yöntem pozitifliği yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Yıllara göre Adenovirüs immünokromatografik yöntem sonuçlarının dağılımı (n=180)

Adenovirüs İmmünokromatografik Test Sonucu					
Yıl	Negatif		Pozitif		Toplam
	Sayı	Yüzde (%)	Sayı	Yüzde (%)	Sayı
2007-2008	42	%93.3	3	%6.7	45
2008-2009	44	%97.8	1	%2.2	45
2009-2010	41	%91.1	4	%8.9	45
2010-2011	44	%97.8	1	%2.2	45
Toplam	171	%95.0	9	%5.0	100

Toplam 9 adenovirüse bağlı gastroenterit olgusunun 2'si Şubat (%22.2), 1'i Mart (%11.1), 1'i Nisan (%11.1), 1'i Mayıs (%11.1), 1'i Haziran (%11.1), 1'i Temmuz (%11.1), 1'i Eylül (%11.1) ve 1'i de Aralık (%11.1) ayına aittir.

Çalışmaya dahil edilen hastalardan Şubat ayında gelen hastaların %11.8'inde (2/17), Mart ayında gelen hastaların %5.0'inde (1/20), Nisan ayında gelen hastaların %5.2'sinde (1/19), Mayıs ayında gelen hastaların %14.37'sinde (1/7), Haziran ayında gelen hastaların %9.1'inde (1/11), Temmuz ayında gelen hastaların %5.9'unda (1/17), Eylül ayında gelen hastaların %3.8'inde (1/26), Aralık ayında gelen hastaların %9.1'inde (1/11) immünokromatografik yöntem ile adenovirüs saptanmıştır.

Ocak ayında gelen 13 hastada, Ağustos ayında gelen 15 hastada, Ekim ayında gelen 14 hastada ve Kasım ayında gelen 10 hastada immünokromatografik yöntem ile adenovirüs pozitifliği tespit edilmemiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Adenovirüs immünokromatografik yöntem sonuçlarının aylara göre dağılımı

Adenovirüs İmmünokromatografik Yöntem Sonucu					
Aylar	Negatif		Pozitif		Toplam
	Sayı	Yüzde (%)	Sayı	Yüzde (%)	
Ocak	13	(%)100	0	(%)0	13
Şubat	15	(%)88.2	2	(%)11.8	17
Mart	19	(%)95.0	1	(%)5.0	20
Nisan	18	(%)94.8	1	(%)5.2	19
Mayıs	6	(%)85.7	1	(%)14.3	7
Haziran	10	(%)90.9	1	(%)9.1	11
Temmuz	16	(%)94.1	1	(%)5.9	17
Ağustos	15	(%)0	0	(%)0	15
Eylül	25	(%)96.2	1	(%)3.8	26
Ekim	14	(%)0	0	(%)0	14
Kasım	10	(%)0	0	(%)0	10
Aralık	10	(%)90.9	1	(%)9.1	11

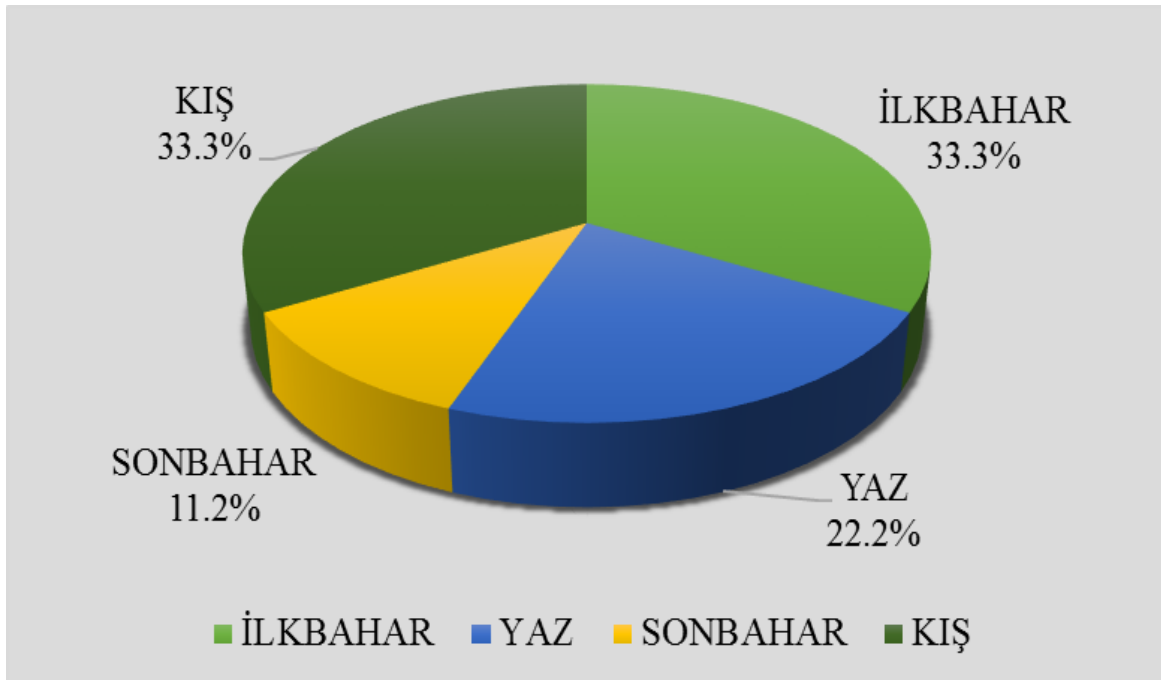
2007-2011 yılları arasında ilkbahar mevsiminde gelen 46 hastanın 3'ü (%6.5) pozitif, 43'ü (%93.5) negatif; yaz mevsiminde gelen 43 hastanın 2'si (%4.65) pozitif, 41'i (%95.35) negatif; sonbahar mevsiminde gelen 50 hastanın 1'i (%2.0) pozitif, 49'u (%98.0) negatif; kış mevsiminde gelen 41 hastanın 3'ü (%7.3) pozitif, 38'i (%92.7) negatif bulunmuştur (Çizelge 4.8). İmmünokromatografik yöntem ile adenovirüs pozitifliğinin mevsimlere göre dağılımında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Çizelge 4.8. Adenovirüs immünokromatografik yöntem sonuçlarının mevsimlere göre dağılımı

Adenovirüs İmmünokromatografik Test Sonucu					
Mevsim	Negatif		Pozitif		Toplam
	Sayı	Yüzde (%)	Sayı	Yüzde (%)	
İlkbahar	43	%93.5	3	%6.5	46
Yaz	41	%95.35	2	%4.65	43
Sonbahar	49	%98.0	1	%2.0	50
Kış	38	%92.7	3	%7.3	41
		X ² : 1.56	P:0.66		

X² Önemlilik Testi

Toplam 9 olgunun 3'ü (%33.3) kış, 3'ü (%33.3) ilkbahar, 2'si (%22.2) yaz ve 1'i (%11.2) sonbaharda gözlenmiştir (Şekil 4.2).

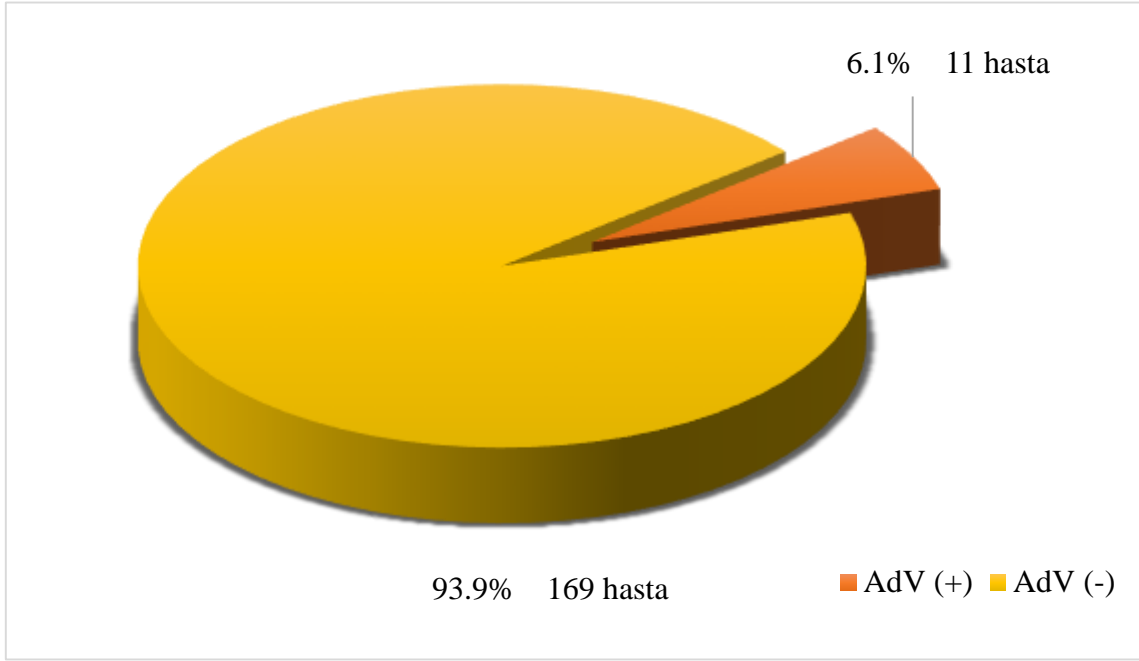


Şekil 4.2. Adenovirüs enfeksiyonlarının mevsimlere göre dağılımı (İmmünokromatografik yöntem sonuçlarına göre) (n=9)

4.2. Enzim-Immünoassay (EIA) Sonuçları

Çalışmamızda adenovirüs antijenini tespit etmek üzere ikinci yöntem olarak Enzim Immuno Assay (EIA) kullanılmıştır.

Çalışmaya katılan 180 hastanın 11'inde (%6.1) EIA testi sonucu adenovirüs pozitif bulunurken 169'unda (%93.9) adenovirüs antijeni tespit edilememiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Adenovirüs pozitif ve negatif örneklerin dağılımı (EIA sonucuna göre)

EIA testi ile adenovirüs antijeni saptanan 11 hastanın yaşları 3 ay ile 59 ay arasında değişmektedir.

Bu hastalar; 3-5 ay grubunda 3 (%1.7), 6-11 ay grubunda 3 (%1.7), 12-23 ay grubunda 1 (%0.5), 24-35 ay grubunda 2 (%1.1), 36-47 ay grubunda 1 (son olarak 48-59 ay grubunda da 1 (%0.5) hasta olarak dağılım göstermiştir.

0-2 ay grubunda EIA ile adenovirüs tespit edilememiştir. Yaş grubuna göre EIA pozitifliği arasında anlamlı ilişki görülmemiştir ($p>0.05$) (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. EIA pozitif hastaların yaş gruplarına göre dağılımı (n=11)

Yaş Grupları (Ay)	Sayı	EIA Pozitif Hasta Sayısı	Yüzde (%)
0-2	9	0	%0.0
3-5	15	3	%1.7
6-11	41	3	%1.7
12-23	41	1	%0.55
24-35	34	2	%1.1
36-47	16	1	%0.55
48-59	24	1	%0.55
Toplam	180	11	%6.1

Mann-Whitney U testi sonucunda EIA testi pozitif ve negatif hastalar arasında yaş farkı gözlenmemiştir.

Çizelge 4.10. Adenovirüs pozitif ve negatif hastalarda yaş verisi (EIA sonucuna göre)

Adenovirüs	Median (Min.-Max.)	Mean±SD
Pozitif	15.00 (3-36)	15.91± 12.52
Negatif	21.00 (0-59)	21.51± 16.21

Hastalar cinsiyet grupları içerisinde ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Kız hastaların EIA testi sonucu bakımından 86'sı (%95.6) negatif, 4'ü (%4.4) ise pozitif bulunurken, erkek hastaların 83'ü (%92.2) negatif, 7'si de (%7.8) pozitif bulunmuştur (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Cinsiyetlere göre hastaların dağılımı (EIA sonucuna göre) (n=180)

Cinsiyet	EIA Negatif Hasta Sayısı	EIA Pozitif Hasta Sayısı	Toplam
Kız	86 (%95.6)	4 (%4.4)	90 (%100)
Erkek	83 (%92.2)	7 (%7.8)	90 (%100)
Toplam	169 (%93.9)	11 (%6.1)	180 (%100)

EIA testi sonucu pozitif olan toplam 11 hastanın 4'ü (%36.3) kız, 7'sini de (%63.7) erkek hastalar oluşturmaktadır (Çizelge 4.12). Cinsiyete göre adenovirüs pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir ($p>0.05$).

Çizelge 4.12. EIA testi pozitif hastaların cinsiyete göre dağılımı (n=11)

Cinsiyet	EIA Testi Pozitif Hasta Sayısı	Yüzde (%)
Kız	4	%36.3
Erkek	7	%63.7
Toplam	11	%100

EIA test sonucuna göre 2007-2008 yılında alınan 45 örneğin 3'ü (%6.7) pozitif, 42'si (%93.3) negatif; 2008-2009 yılında alınan 45 örneğin 2'si (%4.4) pozitif, 43'ü (%95.6) negatif; 2009-2010 yılında alınan 45 örneğin 4'ü (%8.8) pozitif, 41'i (%92.2) negatif; 2010-2011 yılında alınan 45 örneğin 2'si (%4.4) pozitif, 43'ü (%95.6) negatif olarak bulunmuştur. Yıllara göre EIA testi pozitifliği yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. Yıllara göre Adenovirüs EIA testi sonuçlarının dağılımı (n=180).

Adenovirüs EIA Testi Sonucu					
Yıl	Negatif		Pozitif		Toplam
	Sayı	Yüzde (%)	Sayı	Yüzde (%)	Sayı
2007-2008	42	%93.3	3	%6.7	45
2008-2009	43	%95.6	2	%4.4	45
2009-2010	41	%92.2	4	%8.8	45
2010-2011	43	%95.6	2	%4.4	45
Toplam	169	%93.9	11	%6.1	100

Çalışmaya dahil edilen hastalardan; Şubat ayında gelen hastaların %11.8'inde (2/17), Mart ayında gelen hastaların %10.0'unda (2/20), Nisan ayında gelen hastaların %5.2'sinde (1/19), Mayıs ayında gelen hastaların %14.37'sinde (1/7), Haziran ayında gelen hastaların %9.1'inde (1/11), Temmuz ayında gelen hastaların %5.9'unda (1/17), Eylül ayında gelen hastaların %7.7'inde (2/26), Aralık ayında gelen hastaların %9.1'inde (1/11) EIA ile adenovirüs saptanmıştır.

Ocak ayında gelen 13 hastada, Ağustos ayında gelen 15 hastada, Ekim ayında gelen 14 hastada ve Kasım ayında gelen 10 hastada EIA ile adenovirüs pozitifliği tespit edilememiştir.

Toplam 11 adenovirüse bağlı gastroenterit olgusunun 2'si Şubat (%18.1), 2'si Mart (%18.1), 1'i Nisan (%9.1), 1'i Mayıs (%9.1), 1'i Haziran (%9.1), 1'i Temmuz (%9.1), 2'si Eylül (%18.1) ve 1'i de Aralık (%9.1) ayında gerçekleşmiştir. EIA ile adenovirüs pozitifliğinin aylara göre dağılımında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p>0.05$).

Çizelge 4.14. Adenovirüs EIA sonuçlarının aylara göre dağılımı

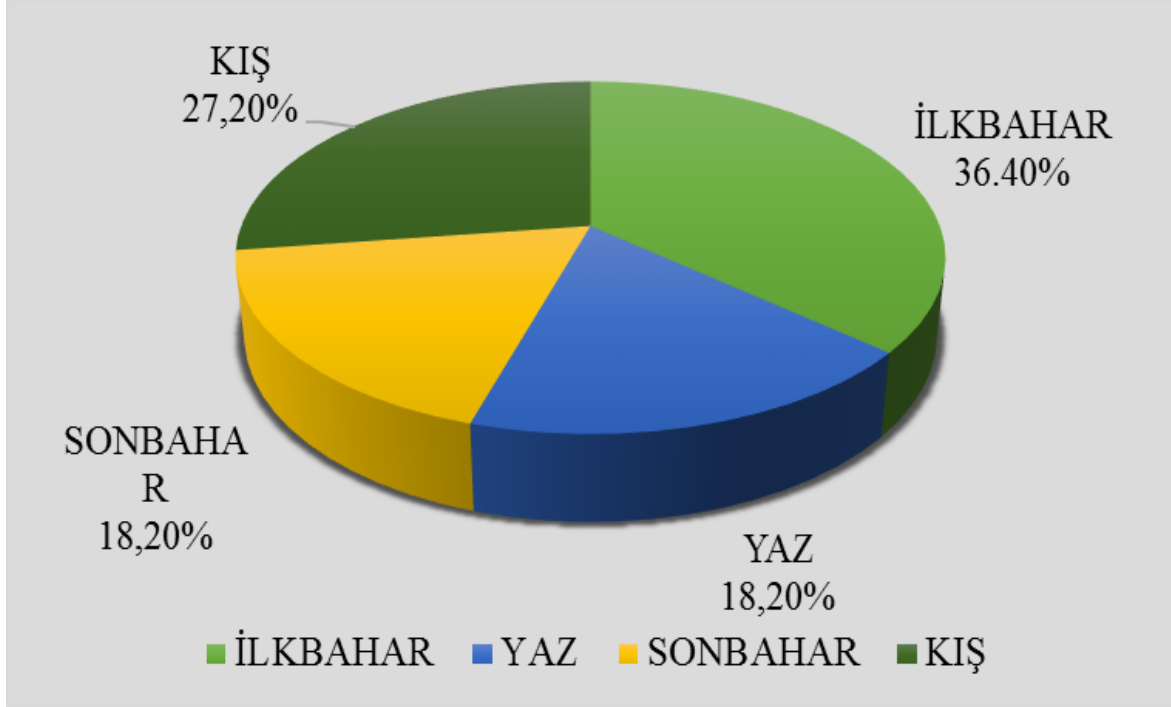
Adenovirüs EIA Sonucu					
Aylar	Negatif		Pozitif		Toplam
	Sayı	Yüzde (%)	Sayı	Yüzde (%)	
Ocak	13	(%)100	0	(%)0	13
Şubat	15	(%)88.2	2	(%)11.8	17
Mart	18	(%)90.0	2	(%)10.0	20
Nisan	18	(%)94.8	1	(%)5.2	19
Mayıs	6	(%)85.7	1	(%)14.3	7
Haziran	10	(%)90.9	1	(%)9.1	11
Temmuz	16	(%)94.1	1	(%)5.9	17
Ağustos	15	(%)0	0	(%)0	15
Eylül	24	(%)92.3	2	(%)7.7	26
Ekim	14	(%)0	0	(%)0	14
Kasım	10	(%)0	0	(%)0	10
Aralık	10	(%)90.9	1	(%)9.1	11

2007-2011 yılları arasında ilkbahar mevsiminde gelen 46 hastanın 4'ü (%8.7) pozitif, 42'si (%91.3) negatif; yaz mevsiminde gelen 43 hastanın 2'si (%4.65) pozitif, 41'i (%95.35) negatif; sonbahar mevsiminde gelen 50 hastanın 2'si (%4.0) pozitif, 48'i (%96.0) negatif; kış mevsiminde gelen 41 hastanın 3'ü (%7.3) pozitif, 42'si (%92.7) negatif bulunmuştur (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15. Adenovirüs EIA sonuçlarının mevsimlere göre dağılımı

Adenovirüs EIA Testi Sonucu					
Mevsim	Negatif		Pozitif		Toplam
	Sayı	Yüzde (%)	Sayı	Yüzde (%)	
İlkbahar	43	%91.3	4	%8.7	46
Yaz	41	%95.35	2	%4.65	43
Sonbahar	48	%96.0	2	%4.0	50
Kış	38	%92.7	3	%7.3	41
X ² : 1.47			P:0.6		

Toplam 11 olgunun 3'ü (%27.2) kış, 4'ü (%36.4) ilkbahar, 2'si (%18.2) yaz ve 2'si (%18.2) sonbaharda gözlenmiştir (Şekil 4.4).

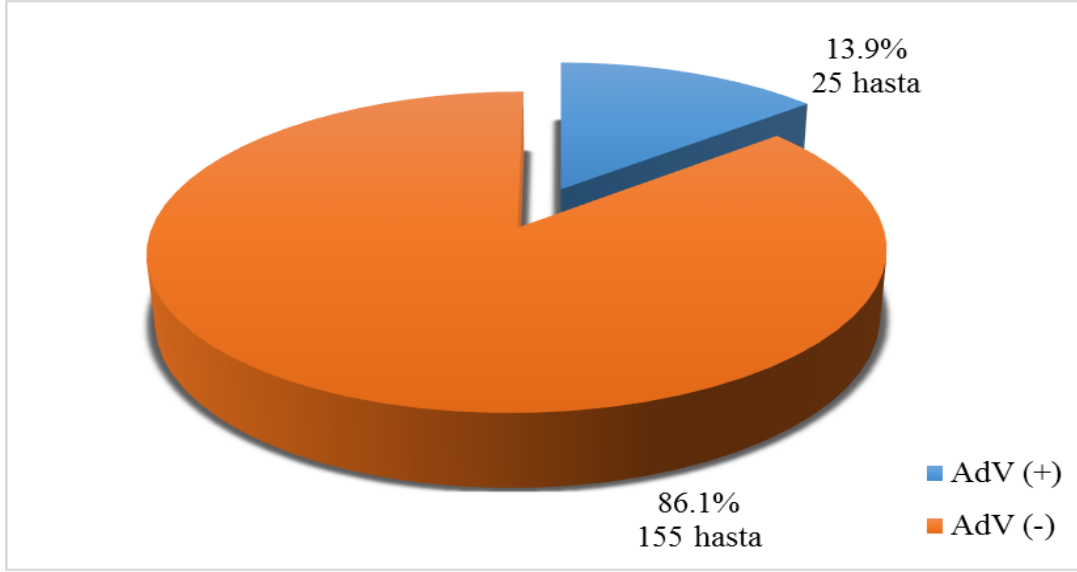


Şekil 4.4. Adenovirüs enfeksiyonlarının mevsimlere göre dağılımı (EIA sonuçlarına göre) (n=11)

4.3. Moleküler Analizler

Örneklerin tamamı PZR çalışılmış, PZR sonucunda adenovirüs pozitif örneklerin DNA dizi analizi ile genotiplendirilmesi yapılmış, DNA dizileri MEGA 6.0 programında Clustal W Multiple Alignment yöntemi ile hizalanmış ardından “neighbour-joining tree” metodu kullanılarak filogenetik analizleri yapılmıştır.

Çalışmaya katılan 180 hastanın 25'inde (%13.9) PZR testi pozitif bulunurken 155'inde (%86.1) negatif bulunmuştur (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Adenovirüs pozitif ve negatif örneklerin dağılımı (PZR sonucuna göre)

PZR ile adenovirüs tespit edilen 25 hastanın yaşları 2 ay ile 59 ay arasında değişmektedir. Bu hastalar; . 0-2 ay grubunda 2 (%1.1), 3-5 ay grubunda 3 (%1.7), 6-11 ay grubunda 5 (%2.8), 12-23 ay grubunda 4 (%2.2), 24-35 ay grubunda 5 (%2.8), 36-47 ay grubunda 3 (%1.7), 48-59 ay grubunda 3 (%1.7) hasta olarak dağılım göstermiştir. Yaş grubuna göre PZR pozitifliği arasında anlamlı ilişki görülmemiştir ($p>0.05$) (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16. PZR pozitif hastaların yaş gruplarına göre dağılımı (n=25)

Yaş Grupları (Ay)	Sayı	PZR Pozitif Hasta Sayısı	Yüzde (%)
0-2	9	2	% 1.1
3-5	15	3	% 1.7
6-11	41	5	% 2.8
12-23	41	4	% 2.1
24-35	34	5	% 2.8
36-47	16	3	% 1.7
48-59	24	3	% 1.7
Toplam	180	25	% 13.9

Mann-Whitney U testi sonucunda PZR testi pozitif ve negatif hastalar arasında yaş farkı gözlenmemiştir.

Çizelge 4.17. Adenovirüs pozitif ve negatif hastalarda yaş verisi (PZR sonucuna göre)

Adenovirüs	Median (Min.-Max.)	Mean±SD
Pozitif	21.00 (2-54)	21.24± 17.02
Negatif	21.16 (0-59)	21.16± 15.93

Hastalar cinsiyet grupları içerisinde ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Kız hastaların PZR testi sonucu bakımından 78'i (%86.7) negatif, 12'si (%13.3) ise pozitif bulunurken, erkek hastaların 77'si (%85.6) negatif, 13'ü de (%14.4) pozitif bulunmuştur (Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18. Cinsiyetlere göre hastaların dağılımı (PZR sonucuna göre) (n=180)

Cinsiyet	PZR Negatif Hasta Sayısı	PZR Pozitif Hasta Sayısı	Toplam
Kız	78 (%86.7)	12 (%13.3)	90 (%100)
Erkek	77 (%85.6)	13 (%14.4)	90 (%100)
Toplam	155 (%86.1)	25 (%13.9)	180 (%100)

PZR testi sonucu pozitif olan toplam 25 hastanın 12'sini (%48) kız, 13'ünü de (%52) erkek hastalar oluşturmaktadır (Çizelge 4.19). Cinsiyete göre adenovirüs pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir ($p>0.05$).

Çizelge 4.19. PZR testi pozitif hastaların cinsiyete göre dağılımı (n=25)

Cinsiyet	PZR Testi Pozitif Hasta Sayısı	Yüzde (%)
Kız	12	%48
Erkek	13	%52
Toplam	25	%100

PZR test sonucuna göre 2007-2008 yılında alınan 45 örneğin 6'sı (%13.3) pozitif, 39'u (%86.7) negatif; 2008-2009 yılında alınan 45 örneğin 6'sı (%13.3) pozitif, 39'u (%86.7) negatif; 2009-2010 yılında alınan 45 örneğin 8'i (%17.8) pozitif, 37'si (%82.2) negatif; 2010-2011 yılında alınan 45 örneğin 5'i (%11.1) pozitif, 40'ı (%88.9) negatif olarak bulunmuştur. Yıllara göre PZR testi pozitifliği yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Çizelge 4.20).

Çizelge 4.20. Yıllara göre Adenovirüs PZR testi sonuçlarının dağılımı (n=180)

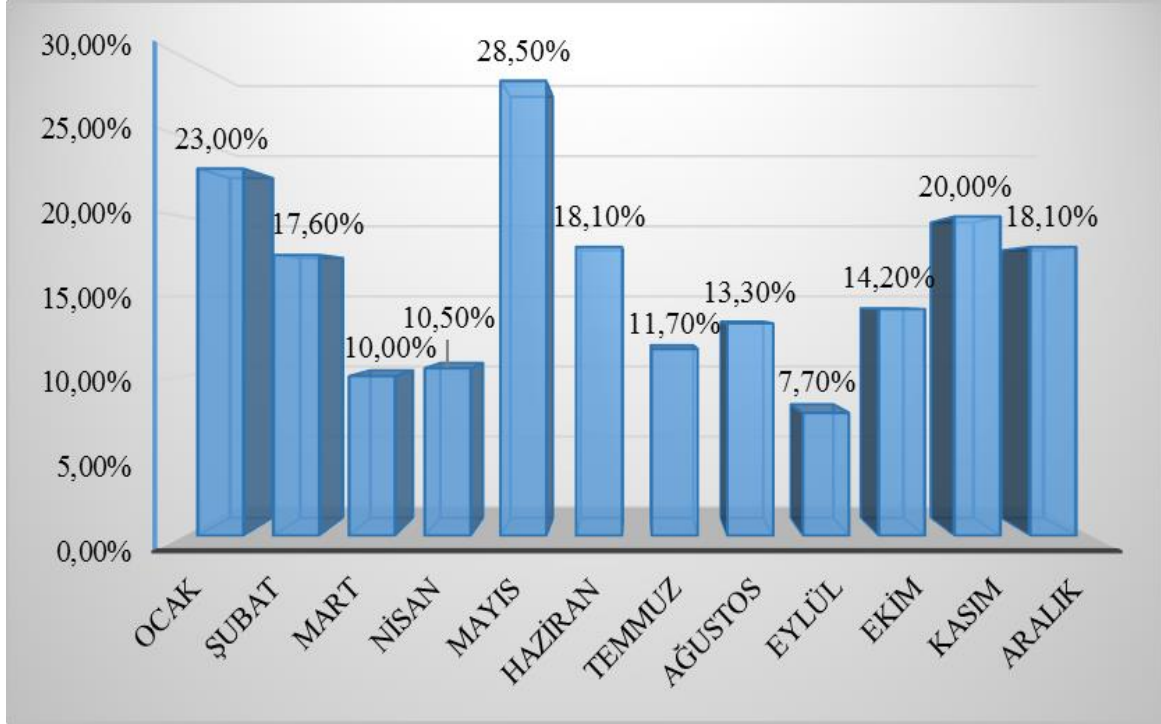
Adenovirüs PZR Testi Sonucu					
Yıl	Negatif		Pozitif		Toplam
	Sayı	Yüzde (%)	Sayı	Yüzde (%)	Sayı
2007-2008	39	%86.7	6	%13.3	45
2008-2009	39	%86.7	6	%13.3	45
2009-2010	37	%82.2	8	%17.8	45
2010-2011	40	%88.9	5	%11.1	45
Toplam	155	%86.1	25	%13.9	100

Çalışmaya dahil edilen hastalardan Ocak ayında gelen hastaların %23'ünde (3/13), Şubat ayında gelen hastaların %17.6'sında (3/17), Mart ayında gelen hastaların %10.0'unda (2/20), Nisan ayında gelen hastaların %10.5'inde (2/19), Mayıs ayında gelen hastaların %28.57'sinde (2/7), Haziran ayında gelen hastaların %18.1 (2/11), Temmuz ayında gelen hastaların %11.7'sinde (2/17), Ağustos ayında gelen hastaların %13.3'ünde (2/15), Eylül ayında gelen hastaların %7.7'sinde (2/26), Ekim ayında gelen hastaların %14.2'sinde (2/14), Kasım ayında gelen hastaların %20'sinde (2/10) ve Aralık ayında gelen hastaların %18.1'inde (2/11) PZR ile adenovirüs saptanmıştır (Şekil 4.6).

Toplam 25 adenovirüse bağlı gastroenterit olgusunun 3'ü Ocak (%12) 3'ü Şubat (12), 2'si Mart (%8), 2'si Nisan (%8), 2'si Mayıs (%8), 2'si Haziran (%8), 2'si Temmuz (%8), 2'si Ağustos (%8), 2'si Eylül (%8), 2'si Ekim (%8), 2'si Kasım (%8) ve 1'i de Aralık (%4) ayında gerçekleşmiştir. PZR ile adenovirüs pozitifliğinin aylara göre dağılımında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p>0.05$) (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.21. Adenovirüs PZR sonuçlarının aylara göre dağılımı

Adenovirüs PZR Sonucu					
Aylar	Negatif		Pozitif		Toplam
	Sayı	Yüzde (%)	Sayı	Yüzde (%)	
Ocak	10	(%)77	3	(%)23	13
Şubat	14	(%)82.4	3	(%)17.6	17
Mart	18	(%)90.0	2	(%)10.0	20
Nisan	17	(%)89.5	2	(%)10.5	19
Mayıs	5	(%)71.5	2	(%)28.5	7
Haziran	9	(%)81.9	2	(%)18.1	11
Temmuz	15	(%)88.3	2	(%)11.7	17
Ağustos	13	(%)86.7	2	(%)13.3	15
Eylül	24	(%)92.3	2	(%)7.7	26
Ekim	12	(%)85.8	2	(%)14.2	14
Kasım	8	(%)80	2	(%)20	10
Aralık	10	(%)81.9	1	(%)18.1	11
X ² : 4.38			P: 0.95		



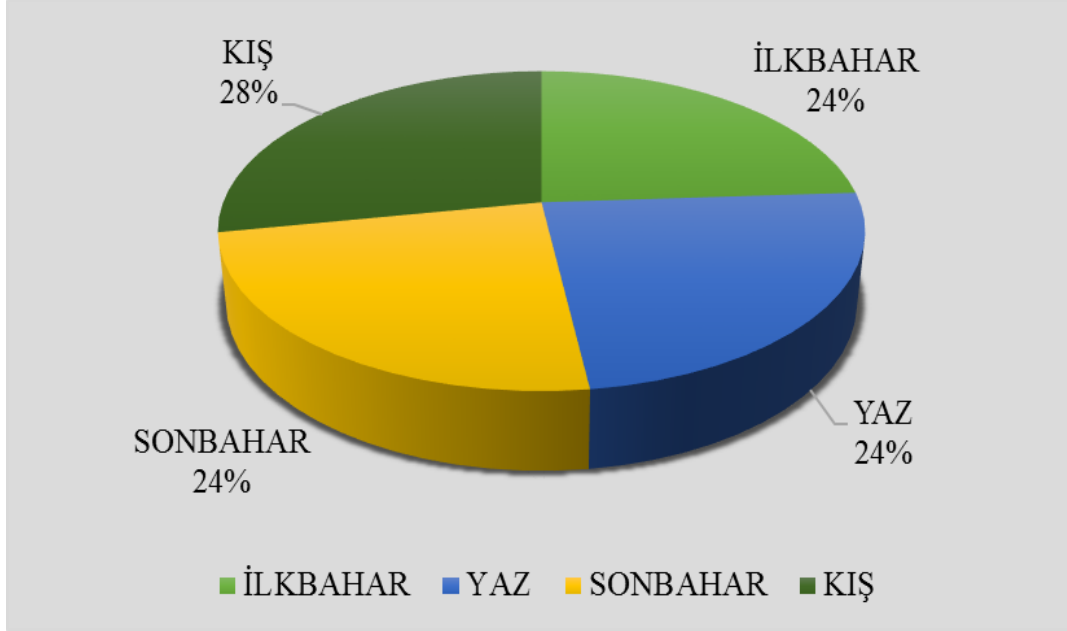
Şekil 4.6. Adenovirüs sonuçlarının aylara göre dağılımı (PZR sonucuna göre)

2007-2011 yılları arasında ilkbahar mevsiminde gelen 46 hastanın 6'sı (%13) pozitif, 40'ı (%87) negatif; yaz mevsiminde gelen 43 hastanın 6'sı (%14) pozitif, 37'si (%86) negatif; sonbahar mevsiminde gelen 50 hastanın 6'sı (%12) pozitif, 44'ü (%88.0) negatif; kış mevsiminde gelen 41 hastanın 7'si (%17) pozitif, 34'ü (%83) negatif bulunmuştur (Çizelge 4.22).

Çizelge 4.22. Adenovirüs PZR sonuçlarının mevsimlere göre dağılımı

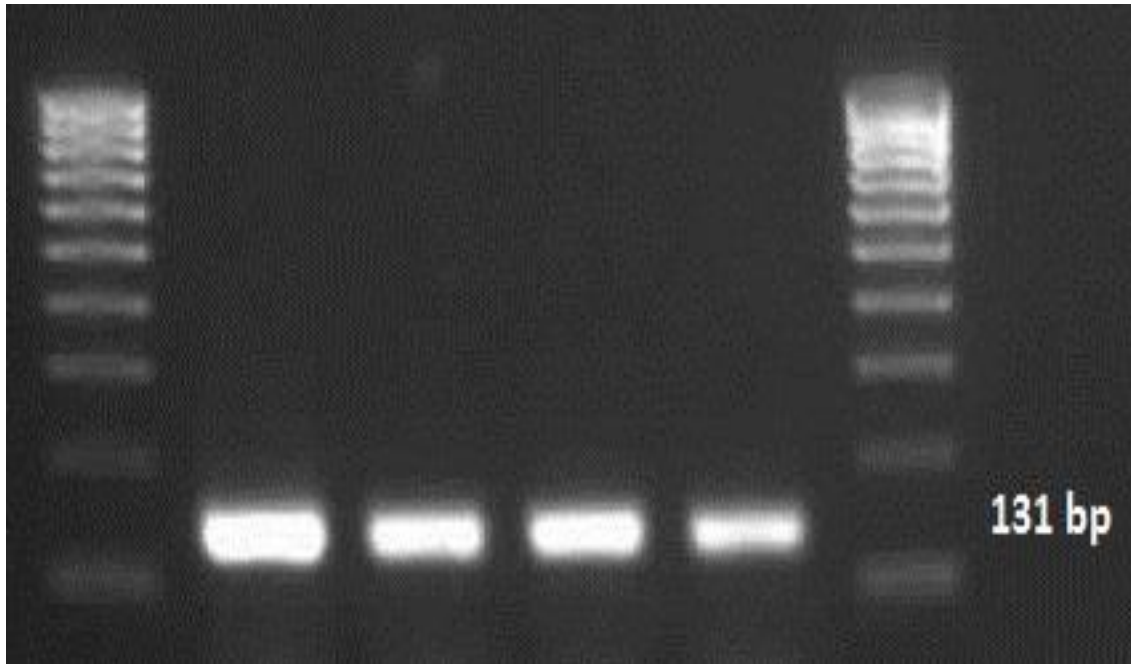
Adenovirüs PZR Testi Sonucu					
Mevsim	Negatif		Pozitif		Toplam
	Sayı	Yüzde (%)	Sayı	Yüzde (%)	
İlkbahar	40	%87	6	%13	46
Yaz	37	%86	6	%14	43
Sonbahar	44	%88	6	%12	50
Kış	34	%83	7	%17	41
		$X^2: 0.50$			$P: 0.91$

Toplam 25 olgunun 7'si (%28) kış, 6'sı (%24) ilkbahar, 6'sı (%24) yaz ve 6'sı (%24) sonbaharda gözlenmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Adenovirüs enfeksiyonlarının mevsimlere göre dağılımı (PZR sonuçlarına göre) (n=25)

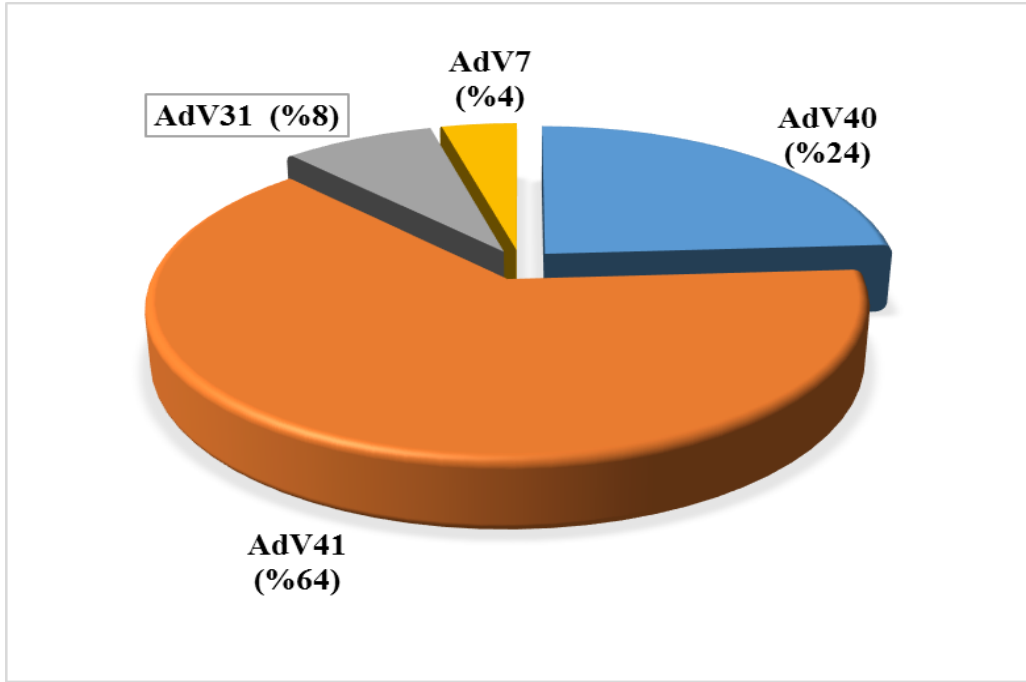
PZR ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezine yüklenerek 131 bp'da görüntülenmiştir (Resim 4.1).



Resim 4.1. Agaroz jel görüntüsü

PZR ile adenovirüs pozitif olarak belirlenen 25 adet örneğin tip tayini yapılmıştır. Elde ettiğimiz tüm DNA dizileri, NCBI GenBank (BLAST) veritabanında karşılaştırılarak adenovirüslerin tipleri belirlenmiştir (Çizelge 4.23). Çalışılan örneklerde DNA dizi analizine göre 7, 31, 40 ve 41 olmak üzere dört farklı adenovirüs genotipi saptanmıştır.

Adenovirüs pozitifliği bulunan örneklerin 6'sı (%24) AdV40 pozitif; 16'sı (%64) AdV41 pozitif, 2'si (%8) AdV31 pozitif, 1 tanesi (%4) AdV7 pozitif bulunmuştur (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Adenovirüs genotiplendirme sonuçları

Çizelge 4.23. Dizi analizi sonucunda elde edilen diziler

Örnek	Dizisi	Serotip
AHP179	AGCAAGTCAGCTGCATCGTATCGTGTGGCGCGGGCAACT GCACCAGGCCCGCGCACTCCCATCCTCCCGAGGCGTCCT GCCCGGCAATGTGCATGTAACACCACTGGGGCAG	AdV41
AHP166	GGTCCAAGCTGGAATAATAACATGTGGCGCGGGCAAAC TGCACCAGGTCCCGCGCACTCACATACTCCAGGCGTCC TGCCCGGCAAATGTGCATGTAACACCACTGGGGCAG	AdV41
AHP195	AGTCAGTGCATCGTATCGTGTGGCGCGGGCAACCCAGGC CCGCGCACTCCCATCCTCCCGAGGCGTCCTGCCCGGCAA TGTGCATGTAACACCACTGGGGC	AdV41

Çizelge 4.23. (devam) Dizi analizi sonucunda elde edilen diziler

AHP273	GATACTTCGTGGACGGGCGACGCACCAGGCCCGGGCTCA GGTACTCCGAGGCGTCCTGCCGCGATGTGCTGTAAGACC A	AdV40
AHP308	ATTCGTATCGTGTGGCGCGGGCAACCCAGCCCGCGCACT CCCATCCTCCCGAGCGTCCTCCGGCAATGTGCATGTAAC ACCACTG	AdV41
AHP331	CTGTTTGACGAGCGCAATATGATAATGAGTGAGGAGGG GCTAGGGGTGGTGCATTAAAGTGAAGTAGGTAGGCGGC CGGTGGGAAAGG	AdV41
AHH126	AGGATACTTCAGTGACGCAATCGCACAGGCACCGGCTCA GGTACTCCGAAGCGTCCTGCCCGGCGTGTAGCTGTAAGA CCACTGA	AdV40
AHP353	CATGTGATAATAGCGGTGGCGCGGGCAACTGCTCCAGGC CCGCGCACTCCCATTCTCCCGAGGCCTCCTCGCCCGGCG ATGTGTATGTAAGACAACCTGGGGCATGCACGAATGGGAT CGAG	AdV41
AHP381	TTGTGGAGTTACTAGACTAAAACTAAAGAAACCCCTC TATTGGGCGGGATTTGATCCATATTCATACTCTGGCCGTC CCATACTGATGGCACCTTT	AdV40
AHP424	AGGATGGTAGACACTACACACCTACACGGTATCAGAATG TACTCTCCCTTTCCAGCATAATATGGCTTTGTAGGATACA TGCAGGGAACAAGCTTACCCCGCCAACCTATCCACAG	AdV40
AHP433	CCATATCAGTCTTTCAACGACTACCTCTGCGCCGCAAAT CATGTACCCCATACCCGCCAACGTCTACTAGCGTGCCCT TTTCTTATTCCTTCGCGAAATTGGCTGCTT	AdV40
AHP469	AGACGAGCCAATATGATAATGAGTGAGGAGGAGGACTA GGGGTGGTGC GAAGTGAAGTAGGTAGGCGAGGGATGGGA AAGGGTGAGAGGTGAATAC	AdV41
AHP497	ACCAGTCTATGATAATGTCTGTTGCACGGGCGACTGCAC CAGACCCGGACTCAGGTACTCCGAAGCATCCTGTCCGGC GATGTGCATGTAAGACCACAGGGGCA	AdV7
AHP530	ATACAGTCAGCTGCATCGTTCGGTGGCGCGAGGCAACTG CTCCAGGTCCCGCGCACTCCCATCCTCCGGAGGCTGTCC TGCTGCGGCGATGTTTTGTAACACCACTGGGG	AdV41

Çizelge 4.23. (devam) Dizi analizi sonucunda elde edilen diziler

AHP535	CCCAGTCAGCTGATCGTTCGTGTGGCGCGGGCAACTGCT CCAGGTTTCGGCACTCCCATCCTCCCAGGCGTCCTGCCC GGCGATGTTTTGTAACACCACTGGGGCA	AdV41
AHP544	AATGTCAAGGCTGATCGTATGCGGTGGCACTGGGCAACT GCTACCAAGGACCCGGGCTCAGATAATCACGAAGCGTCC TGCCCCGAAATGTGCATGTAAGACCACTGGGGCAGGC	AdV41
AHP563	CCAGTCAGTGATACGTATCGGTGGCGCGGGCAACTGCAC CAGGTCCGGGGCTCAGAGTACTCCGAAGCGTCCTGCCCC CGCAGATGTGCATGTAAGACCACTGGGGC	AdV41
AHP582	GATCAGGTGATAATGTCCGTGGCGCGGGCGATTGCACCA GACCGGGACTCAGGTAATCCGAGGCATCCTGACCGGCGA TGTGCATGTAAGACCACTGGGGCAA	AdV31
AHP643	GCTATCGTTCGGTGGCGCGAGGCAACTGCTCCGGTCCCG CGCACTCATCCTCCGGAGGCTGTCCCTGCGGCGATGTTG TA	AdV41
AHP694	GTCAGGCTGAGACGTATCGGTGGCGCGGGCAACTGCACC AGGCCCGGACTCAGATACTCCGAGGCGTCCTGCCCGGCG ATGTGCATGTAAGACCACTGGGGCA	AdV41
AHH233	ACAGTCATGTGATCGTATCGCATGGCGCGGGCGACTGCA CCAGGCCCGGGACTCAAGTACTTCCCGAGGCGTCCTGCC CGGCGATGTGCATGTAAGACCACTGGGGCA	AdV41
AHH237	GTCATGCTGAGACGATCGATGGCGCGGGCAACTGCACCA GGCCCCGGACTCAGATACTCCGAGGCGTCCTGCCCGGCGA TGTGCATGTAAGACCACTGGGGGCCTCTACAGGCGCCTG GCACTCC	AdV41
AHH239	AATATACCTTAAAGACGAGCCAATATGATAATGAGTGAG GAGGGGCTAGGGGTGGTGCGAAGTGAAGTAGGTCGG GGTGGGAAAGGGTGGAGGTGAAACGTTGGGGT	AdV41
AHP734	ATCAGTGATACTTCGTGGACGGGCGAATCGCACCAAGGCC CGGGCTCAGGTAATCCGAGGCGTCCTGCCCGGCGATGTG CTGTAAGACCACTGGGGCA	AdV40
AHP753	CACTCATGCTGATAATCTCCGTGGCGCGGGCGATTGCAC CAGACCGGGGACTCAGAGTACTCCGAGGCGTCCTGACCG GCGATGTGCATGTAAGACCACTGGGGCC	AdV31

Elde ettiğimiz dizilerin bölgesel bulunuşluklarını inceleyebilmek için BLAST programında bu dizilerin hangi izolatlara yakın olduğu belirlenmiştir.

AdV41'e ait örnekler incelendiğinde AHP535, AHP239, AHP530, AHP195, AHP308, AHH233 numaralı örneklerin KC953653 (Çin), AHP179, AHP643, AHP563, AHP544, AHP353, AHP166, AHP694 numaralı örneklerin JX412892 (Çin); AHP331, AHP469 ve AHH237 numaralı örneklerin KF303071 (ABD) izolatına yüksek oranda benzerlik gösterdiği bulunmuştur. Asya kıtasına ait izolatlar ile Amerika kıtasına ait izolatların filogenetik ağaçta ayrı dallarda gruplar oluşturduğu görülmüştür.

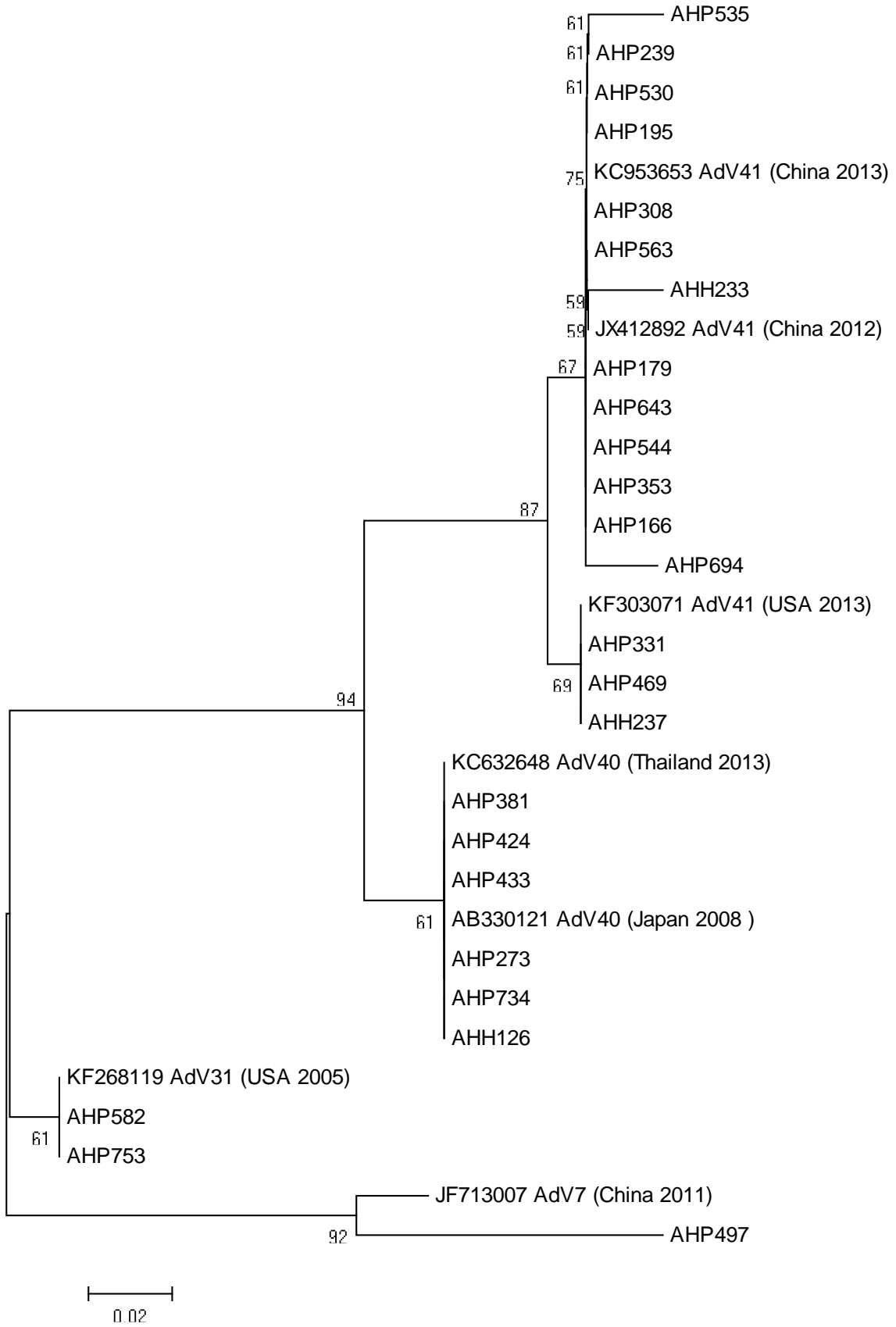
AdV40'a ait AHP424, AHP433, AHP381, AHP273, AHP734 ve AHH126 numaralı örneklerin KC632648 (Tayland) ve AB330121 (Japonya) izolatlarına yüksek oranda benzerlik göstermiştir.

AdV31'e ait AHP582 ve AHP753 numaralı örneklerin KF268119 (ABD) izolatına yüksek oranda benzerlik gösterdiği bulunmuştur.

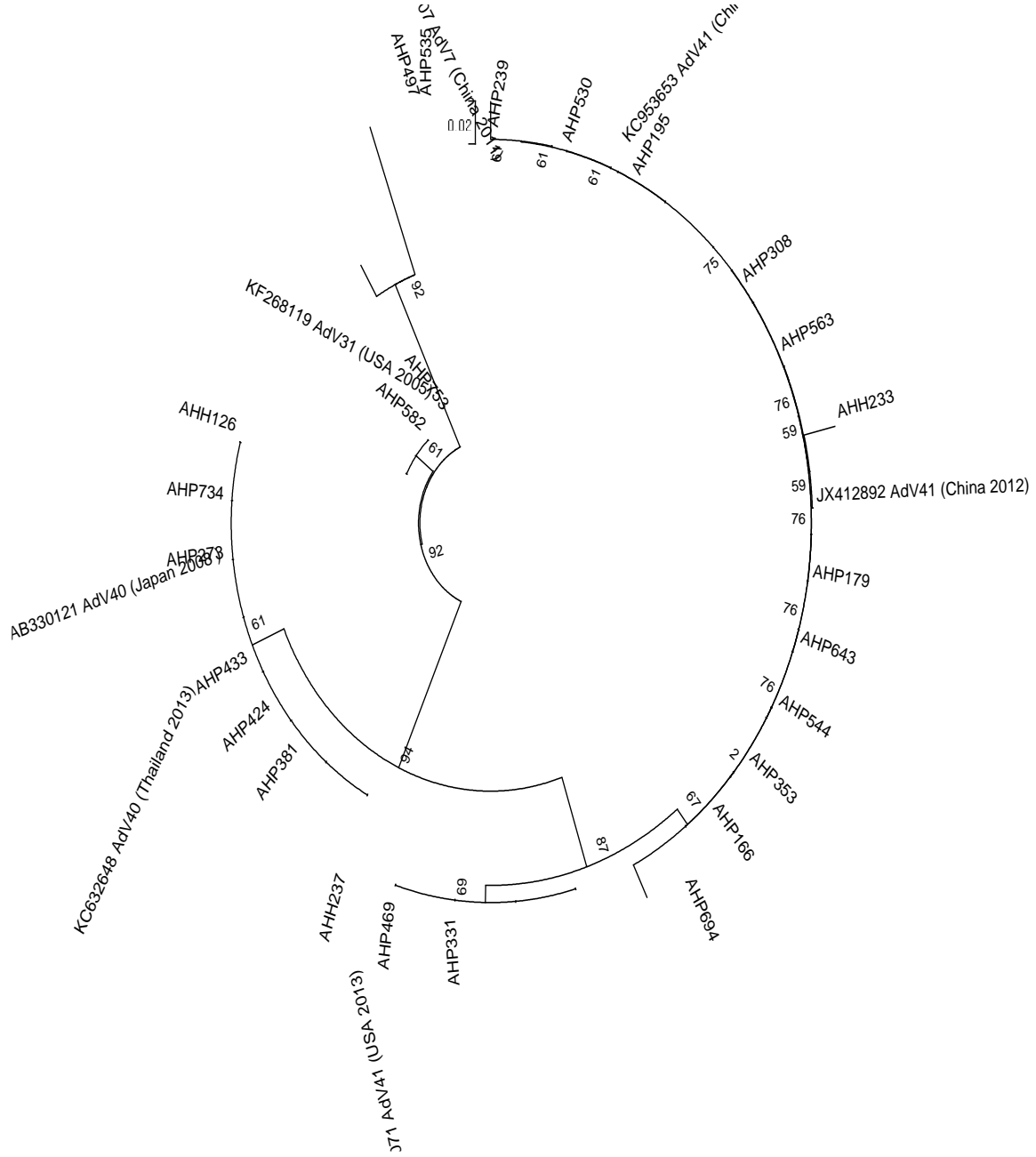
AdV7'ye ait AHP497 numaralı örneğin JF713007 (Çin) izolatına yüksek oranda benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Tespit edilen adenovirüs serotiplerinin %80 (20/25) oranında Asya, %20 (5/25) oranında Amerika ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. AdV41'e ait örnekler %81 (13/16) oranında Asya (Çin), %19 (3/16) oranında Amerika (ABD) ile benzerlik göstermiştir. AdV40'a ait altı örneğin tamamı Asya ile (Japonya, Tayland); AdV31'e ait 2 örneğin tamamı Amerika (ABD) ile AdV7'ye ait bir örnek Asya kıtası (Çin) ile yakın ilişkili olduğu görülmüştür.

Buna göre hekson bölgesi göz önüne alındığında elimizdeki örneklerle en yakın olanların Çin, Japonya, Tayland ve ABD izolatları olduğu görülmüştür. KC953653 (Çin), JX412892 (Çin), KF303071 (ABD), KC632648 (Tayland), AB330121 (Japonya), JF713007 (Çin), KF268119 (ABD) izolatlarına ait dizilerle, elde ettiğimiz diziler karşılaştırılarak MEGA 6.0 programında, "neighbour-joining tree" metodu ile Şekil 4.9'daki filogenetik ağaç elde edilmiştir.



Şekil 4.9. Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz adenovirüslerin filogenetik ağacı



Şekil 4.10. Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz adenovirüslerin filogenetik ağacı (dairesel görünüm)

4.4. Klinik Bulgular

Çalışmaya alınan hastaların tamamında (n=180) ishal görülmektedir. Tüm hastaların kusma ile ilgili bilgileri de mevcuttur; hastaların 77'sinde (%42.8) kusma görülürken, 103'ünde (%57.2) kusma görülmemiştir (Çizelge 4.24).

Çizelge 4.24. Çalışmaya dahil edilen çocuklarda ishal ve kusma görülme oranları

İshal	Sayı	%	Kusma	Sayı	%
Var	180	100	Var	77	42.8
Yok	0	0	Yok	103	57.2
Toplam	180	100	Toplam	180	100

Hastalarda kusma görülmesi ile günlük ishal sayıları arasında anlamlı bir ilişki görülmemiştir ($p>0.05$) (Çizelge 4.25).

Çizelge 4.25. Çalışmaya dahil edilen çocuklarda günlük ishal sayısı ve kusma görülme oranları (n=180).

Kusma	Günlük İshal Sayısı			Toplam	
	1-3 kez	4-5 kez	6 kez ve üzeri		
Var	Sayı	19	30	28	77
	%	%24.6	%39	%36.4	100%
Yok	Sayı	20	52	31	103
	%	%19.4	%50.5	%30.1	100%
Tüm Hastalar	Sayı	39	82	59	180
	%	%21.6	%45.6	%32.8	100%

P: 0.30

Hastaların adenovirüs sonuçları ile kusma görülme oranları arasındaki ilişki incelendiği zaman adenovirüs pozitif olan 25 hastanın 13'ünde (%52) kusma görülürken, 12'sinde (%48) görülmemiştir. Hastalarda kusma varlığına göre adenovirüs pozitifliği yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Çizelge 4.26).

Çizelge 4.26. Adenovirüs PZR sonucuna göre hastalarda kusma görülme oranları

Adenovirüs PZR Sonucu	Kusma Varlığı				Toplam
	Negatif		Pozitif		
	Sayı	Yüzde (%)	Sayı	Yüzde (%)	Sayı
Pozitif	12	48	13	52	25
Negatif	91	58.8	64	41.2	155
Toplam	103	57.2	77	42.8	180

P: 0.43

Gastroenterit tablosuna eşlik eden kusma sayısı incelendiğinde adenovirüs pozitifliği ile ilgili anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p>0.05$) (Çizelge 4.27).

Çizelge 4.27. Adenovirüs PZR sonucuna göre hastalarda kusma sayısı

Adenovirüs PZR Sonucu	Günlük Kusma Sayısı								Toplam
	Kusma yok		1-3 kez		4-5 kez		> 6 kez		
Pozitif	12	%48	10	%40	3	%12	0	%0	25
Negatif	91	%58.6	54	%35	5	%3.2	5	%3.2	155
Tüm Hastalar	103	%57.2	64	%35.4	8	%4.4	5	3	180

P: 0.24

Adenovirüs görülmesi ile günlük ishal sayısı arasında anlamlı ilişki saptanmıştır ($p<0.05$). Adenovirüs pozitif hastalarda %48 oranında (12/25) 6 kez ve daha üzeri sayıda ishal tablosu görülmüştür (Çizelge 4.28).

Çizelge 4.28. Adenovirüs PZR sonucuna göre hastalarda ishal sayısı

Adenovirüs PZR Sonucu		Günlük İshal Sayısı			Toplam
		1-3 kez	4-5 kez	6 kez ve üzeri	
Pozitif	Sayı	4	9	12	25
	%	%16	%36	%48	100%
Negatif	Sayı	35	73	47	155
	%	%22.6	%47.1	%30.3	100%
Tüm Hastalar	Sayı	39	82	59	180
	%	%21.6	%45.6	%32.8	100%

4.5. Adenovirüs Tanısında Kullanılan Yöntemlerin Karşılaştırılması

Çalışmaya alınan 180 örneğin 9'u (%5.0) immünokromatografik hızlı tanı yöntemi, 11'i (%6.1) EIA ve 25'i (%13.9) PZR ile adenovirüs pozitif bulunmuştur.

İmmünokromatografik test ile pozitif bulunan tüm örnekler EIA ve PZR tarafından da pozitif olarak saptanırken EIA ile immünokromatografik yöntem ile tespit edilemeyen iki pozitif örnek daha belirlenmiştir. EIA ile pozitif bulunan tüm örnekler PZR tarafından da pozitif olarak saptanırken PZR sonucunda EIA ile tespit edilemeyen 14 pozitif örnek, immünokromatografik test ile tespit edilemeyen 16 pozitif örnek daha belirlenmiştir (Çizelge4.29).

Çizelge 4.29. İmmünokromatografik yöntem, EIA ve PZR sonuçları (n:180)

	PZR			
	Negatif		Pozitif	
	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif
EIA	155	0	14	11*
İmmünokromatografik Yöntem	155	0	16	9

* İmmünokromatografik yöntem ile tespit edilemeyen iki örnek EIA ile belirlenmiştir.

PZR ile kıyaslandığında immünokromatografik yöntemin duyarlılık, özgüllük, PPD ve NPD'leri sırasıyla %36, %100, %100, %90.6 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.30).

Çizelge 4.30. İmmünokromatografik yöntem ile PZR karşılaştırılması

		PZR		
		Pozitif	Negatif	Toplam
İmmünokromatografik Yöntem	Pozitif	9	0	9
	Negatif	16	155	171
	Toplam	25	155	180

EIA ile kıyaslandığında immünokromatografik yöntemin duyarlılık, özgüllük, PPD ve NPD'leri sırasıyla %81.8, %100, %100, %98.8; olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.31).

Çizelge 4.31. İmmünokromatografik yöntem ile EIA karşılaştırılması

		EIA		
		Pozitif	Negatif	Toplam
İmmünokromatografik Yöntem	Pozitif	9	0	9
	Negatif	2	169	171
	Toplam	11	169	180

PZR ile kıyaslandığında EIA testinin duyarlılık, özgüllük, PPD ve NPD'leri sırasıyla %44, %100, %100, %91.7 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.32).

Çizelge 4.32. EIA testinin PZR ile karşılaştırılması

		PZR		
		Pozitif	Negatif	Toplam
EIA	Pozitif	11	0	11
	Negatif	14	155	169
	Toplam	25	155	180

5. TARTIŞMA

Akut gastroenteritler tüm dünyada beş yaş altı çocuklarda her yıl yaklaşık 1 milyar diyare olgusu meydana getirmekte ve 700 000'in üzerinde ölüme yol açmaktadır (Dünya Sağlık Örgütü, 2015). Viral gastroenteritler ise çocuklarda solunum yolu enfeksiyonlarından sonra en sık görülen halk sağlığı problemidir.

Yenidoğanlarda ve küçük çocuklarda viral gastroenteritlerin en sık nedeni rotavirüsler olup, diğer gastroenterit etkeni virüsler; calicivirüsler (norovirüsler), enterik adenovirüsler, astrovirüsler, pikornavirüsler, togavirüsler, aichivirüsler ve bufavirüslerdir. Ülkemizde viral gastroenterit etkenlerinin belirlenmesi ile ilgili yapılan çalışmalarda rotavirüsten ve norovirüsten sonra en sık adenovirüs gastroenteriti saptanmıştır. Çocukluk çağı gastroenteritlerinde adenovirüslerin sıklığı ile ilgili son yıllarda ülkemizde yapılan çalışmalarda, %1 ila %17 oranlarında adenovirüs pozitifliği tespit edilmiştir (Dağı ve Fındık, 2014; Gültepe ve diğerleri, 2012).

Çalışmamıza adenovirüs pozitifliği; immünokromatografik yöntem ile %5, EIA ile %6.1 ve PZR ile %13.9 olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda immünokromatografik yöntem kullanılarak 180 örneğin 9'unda adenovirüs pozitif bulunmuştur. İmmünokromatografik yöntem ile yapılan çalışmalarda yurt dışında tespit edilen adenovirüsün pozitifliği; Banyai ve diğerleri'nin (2009) Macaristan'da 2258 örnekle gerçekleştirdiği çalışmada %8.1; Van Maarseveen, Wessels, Brouwer, Vossen ve Claas'ın (2010) Hollanda'da 239 örnekle yaptığı çalışmada %3.7 olarak tespit edilmiştir.

Ülkemizde immünokromatografik yöntem kullanılarak yapılan çalışmalarda; Borsa, Tokman, ve Çağatay'ın (2013) Mardin'de 0-5 yaş arası 944 çocukta yaptığı çalışmada adenovirüs pozitifliği %1.16, Balkan, Çelebi, ve Altoparlak'ın (2012) Erzurum'da 0-5 yaş arası 340 çocukla yaptıkları çalışmada %8.2, Özdemir, Demircili, Feyzioğlu, Yavru ve Baysal'ın (2013) 300 hasta ile Konya'da yaptığı çalışmada %11.7, Gürbüz, Tezer ve Şaylı'nın (2010) 509 hasta ile Ankara'da yaptığı çalışmada %4.1, Gülen, Aydın, Uzun ve Kaya'nın (2013) Tekirdağ'da 2117 hastayla yaptığı çalışmada %3.6 oranında adenovirüs pozitifliği tespit edilmiştir.

Ülkemizde immünokromatografik yöntem kullanılarak yapılan çalışmalarda adenovirüs pozitifliğinin %1.16 ile %11.7 arasında değiştiği ve bizim bölgemizde bulduğumuz oranlara benzer şekilde sonuçlar olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda ikinci yöntem olarak EIA kullanılmıştır. Bu yöntem ile adenovirüs pozitiflik oranı %6.1 şeklinde olup EIA testi immünokromatografik yöntemle göre daha duyarlı bulunmuştur. İmmünokromatografik test ile pozitif bulunan tüm örnekler EIA tarafından da pozitif olarak saptanırken EIA testi ile immünokromatografik yöntem ile tespit edilemeyen iki pozitif örnek daha saptamıştır.

EIA ile yapılan çalışmalarda yurt dışında tespit edilen adenovirüsün pozitifliği; González, Liprandi ve Ludert'in (2011) Venezuela'da 480 örnekle yaptığı çalışmada EIA ile %5, Dey ve diğerlerinin (2011) Hindistan'da 1053 gastroenteritli çocukla yaptıkları çalışmada ELISA ile %4, Audu ve diğerleri (2002) Nijerya'da 138 gastroenteritli çocukta EIA ile gerçekleştirdiği çalışmada %16.7 olarak tespit edilmiştir. Karsten ve diğerleri (2009) Almanya'da akut gastroenteritli 875 hastayla yaptıkları çalışmada EIA ile %2.9, Colomba ve diğerleri (2006) İtalya'da 215 gastroenteritli çocukta EIA ile yaptığı çalışmada %6, Tran ve diğerlerinin (2010) Fransa'da EIA ile 973 gastroenteritli çocukla yaptığı çalışmada %5, Motamedifar, Amini ve Shirazi (2013) İran'da 827 gastroenteritli çocukta EIA ile %9 adenovirüs pozitifliği bildirmişlerdir.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda ise Özdemir, Delialioğlu ve Emekdaş (2010) Mersin'de 0-6 yaş arası 363 çocukla yaptıkları çalışmada ELISA testi ile %10.5; İstanbul üniversitesinde 126 çocukta adenovirüs sıklığının araştırıldığı uzmanlık tezinde Yılmaz (2013) ELISA testi ile %10.3 oranında adenovirüs pozitifliği bildirmiştir. Çalışmamızda Ankara'da EIA ile tespit ettiğimiz %6.1 (11/180) oranındaki adenovirüs pozitifliği dünya ortalamasını yakalamakta olup İstanbul ve Mersin'e göre biraz daha düşük bulunmuştur.

Üçüncü yöntem olarak çalışmamızda PZR kullanılmıştır. PZR ile 25 örnekte %13.9 (25/180) adenovirüs pozitifliği tespit edilmiştir. PZR kullanılarak yurt dışında yapılan çalışmalarda tespit edilen adenovirüs pozitifliğine baktığımızda; Chhabra ve diğerlerinin (2014) eski Sovyet Birliği ülkelerindeki 0-5 yaş arası çocuklardan alınman ve rotavirüsü negatif olan 495 örnek ile gerçekleştirdiği çalışmasında; adenovirüs pozitifliği, Ukrayna'da %5.9, Moldova'da %5.8, Azerbaycan'da %3, Ermenistan'da %12.5, Belarus'da %1.5 ve

Gürcistan'da %10.8 olarak tespit edilmiştir. Dey, Hoq ve Okitsu'un (2013) Japonya'da 7185 örnekle yaptığı çalışmada PZR ile %7.9, Dey ve diğerlerinin (2011) Hindistan'da 1053 gastroenteritli çocukla yaptıkları çalışmada PZR ile %5.3 olarak saptanmıştır.

Ülkemizde ise PZR ile adenovirüs tespitine yönelik sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu (Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi) Viroloji Referans ve Araştırma Laboratuvarı'nın akut viral gastroenteritlerin değerlendirilmesi amacıyla 2009 yılında ülkemizin farklı bölgelerinden gönderilen örneklerden gerçekleştirdiği çalışmada toplam 11 ilden 147 dışkı örneği toplanmıştır. Multipleks real time PCR ile örnekler; norovirüs, rotavirüs, adenovirüs ve astrovirüs açısından değerlendirilmiş, adenovirüsün sıklığı %4 olarak tespit edilmiştir.

Çalışmamızda bulduğumuz sonuç Dünya genelinde Ermenistan ve Gürcistan ile benzerlik göstermektedir. Bu sonuca bölgesel yakınlığın etki edebileceğini düşünmekteyiz. Bizim PZR ile saptadığımız %13.9 oranındaki adenovirüs pozitifliğinin ülkemizde yapılan çalışma ile kıyaslandığında oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Bunun nedeninin Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Viroloji Referans ve Araştırma Laboratuvarında kullanılan yöntemin, duyarlılık ve özgüllük oranları daha düşük olan Multipleks real time PZR yöntemi olmasına bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca çalışma örneklerinin bakteri, parazit, rotavirüs, norovirüs ve bufavirüs açısından negatif olan, ishalleri hasta örneklerinden seçilmiş olmasının adenovirüs pozitiflik oranını etkilemiş olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda hastalar yaş grupları bakımından sınıflandırıldığında 0-5 yaş arasında adenovirüs pozitifliği bakımından istatistiksel anlam taşıyan bir fark görülmemiş olmakla birlikte adenovirüs pozitif olguların %55.3'ünün (14/25) 0-24 aylık olduğu görülmüştür. Gürbüz ve diğerleri (2010) 0-18 yaş arası hastalarla çalışmış ve adenovirüs pozitifliği ile yaş arasında ilişki bulunmadığını bildirmişlerdir. Kandemir ve diğerleri (2014) 0-16 yaş arası hastalarla yaptıkları çalışmada hastaların %62'sinin 0-2 yaş arasında olduğunu ancak adenovirüs pozitif hastalarda istatistiksel anlam taşıyan bir yaş farkı görülmediğini tespit etmişlerdir.

Adenovirüslerin her yaş grubunda hastalık etkeni olabildiği, ancak 0-2 yaş civarında biraz daha yüksek görüldüğü bilinmektedir. (Akıncı ve diğerleri, 2007; Cruz ve diğerleri, 1990; Tuncer, Ceyhan ve Yurdakök, 1995).

Ancak bazı çalışmalarda adenovirüs enfeksiyonlarının 0-2 yaş grubunda daha fazla görüldüğü bildirilmektedir. Dağı ve Fındık (2014) 2795 hasta ile yaptığı çalışmada 0-2 yaş arasında adenovirüs pozitifliğini %66.7 olarak tespit etmişlerdir. Gültepe ve diğerlerinin (2012) çalışmasında adenovirüs pozitif olguların %70'inin 0-2 yaş arasında olduğu tespit edilmiştir. Akıncı ve diğerleri (2007) gastroenteritli 113 hastanın %79,5'inin 5 yaş altında ve 5 yaş altındaki hastaların da %68,8'inin 2 yaş altında olduğunu saptamışlardır. Bates, Bailey, Wood, Morris ve Couriel (1993) adenovirüs saptanan gastroenteritli çocukların %50'sinin 1 yaş altında olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda da adenovirüs pozitif olgular değerlendirildiğinde, 0-2 yaş arasında adenovirüs pozitifliği biraz yüksek bulunmuştur, ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Çalışmamızdaki kız ve erkek hastalar adenovirüs PZR sonuçları açısından değerlendirildiğinde; kız hastaların %13.3'ünde (12/90), erkek hastaların ise %14.4'ünde (13/90) adenovirüs saptanmıştır. Cinsiyet grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiş, adenovirüs pozitif hastaların dağılımının cinsiyete göre farklılık göstermediği belirlenmiştir ($p>0.05$). Bu durum adenovirüsün cinsiyete bağlı olmayan bir enfeksiyon etkeni olduğunu doğrulamaktadır. Adenovirüs pozitifliğinde cinsiyet farkı olmadığını gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Balkan ve diğerleri, 2012; Gülen ve diğerleri, 2013; Özdemir ve diğerleri, 2010; Kandemir, Atalay, Delice, Taş ve Gökahmetoğlu, 2014; Tekin, 2010; Yousefi ve Gözalan, 2010). Bununla birlikte adenovirüs gastroenteritlerinde cinsiyet ayrımı tespit edilen çalışmalar da bulunmaktadır. Cruz ve diğerleri (1990) ve Akıncı ve diğerleri (2007) enterik adenovirüslerin erkeklerde daha sık görüldüğünü bildirmişlerdir.

Viral gastroenteritler yılın her ayında görülebilmesine rağmen, bizim ülkemiz gibi ılıman iklimlerde özellikle kış aylarında pik yapmaktadır. Çalışmamızda aylara göre adenovirüs sonuçları değerlendirildiğinde, Mayıs ayındaki adenovirüs pozitifliği (%28.5) diğer aylara göre daha yüksek bulunmuş ancak istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

O'Neill, McCaughey, Coyle, Wyatt ve Mitchell (2002) yaptıkları çalışmalarında adenovirüs sıklığının en yüksek mayıs ayında görüldüğünü bildirmişlerdir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda; Gül ve diğerleri (2005) adenovirüs sıklığını Ocak-Şubat aylarında %75 oranında görürken, Altındış, Beştepe, Çeri, Yavru ve Kalaycı (2008) en yüksek adenovirüs pozitifliğini %40 ile Aralık ayında tespit etmişlerdir.

Yazıcı ve diğerleri (2013) Ekim, Kasım ve Aralık aylarında; Gülen ve diğerleri (2013) %27.3 ile Temmuz ayında, Kandemir ve diğerleri (2014) %11.2 ile Ağustos ayında; Gültepe ve diğerleri (2012) %41 ile Haziran ayında en yüksek adenovirüs pozitifliği görüldüğünü saptamışlardır.

Adenovirüs sonuçları mevsimlere göre incelendiğinde, çalışmamızda en yüksek adenovirüs pozitifliği %17 ile kış mevsiminde görülmüştür ancak istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). Biçer ve diğerlerinin (2009) çalışmasında en yüksek adenovirüs pozitiflik oranı %22 ile, Gültepe ve diğerlerinin (2012) çalışmalarında %21 ile yaz mevsiminde görülmüştür. Yazıcı ve diğerlerinin (2013) Van'da yaptıkları çalışmalarında en yüksek pozitiflik %52 ile kış mevsiminde olmuştur. Dey ve diğerlerinin (2013) Japonya'da 15 yıllık veriler ile yaptıkları çalışmada adenovirüs gastroenteritlerinin kış aylarında daha sık görüldüğü tespit edilmiştir. Pang, Preiksaitis ve Lee (2014) ise Kanada'da gerçekleştirdikleri çalışmada adenovirüs enfeksiyonlarının mevsimsel farklılık göstermediğini bildirmişlerdir. Ülkemizde ve yurt dışında enterik adenovirüslerin önemli mevsimsel değişiklikleri olmadığı ve tüm yıl boyunca görülebildiklerine dair çok sayıda çalışma mevcuttur (Audu ve diğerleri, 2002; Balkan ve diğerleri, 2012; Dey ve diğerleri, 2013; Gül ve diğerleri, 2005; Kandemir ve diğerleri, 2014; Otağ ve diğerleri, 2012).

Adenovirüse bağlı gastroenteritler hafif klinik bulgulardan ağır dehidratasyona kadar farklı klinik tablolara yol açmaktadır. Özellikle de gelişmekte olan ülkelere 5 yaş altı çocuklarda görülen viral gastroenteritlerin önemli nedenleri arasında olan adenovirüsler, konağın direncine göre farklı klinik tablolarla ortaya çıkmaktadır. Akut gastroenterite sebep olan adenovirüs enfeksiyonunda en yaygın klinik; kusma ve ishaldir. Çalışmamıza alınan hastaların adenovirüs sonuçları ile kusma görülme oranları arasındaki ilişki incelendiği zaman istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Adenovirüs pozitif olan 25 hastanın 13'ünde (%52) kusma görülürken, 12'sinde (%48) görülmemiştir. Bu sonuçlar adenovirüs enfeksiyonunda kusmanın önemli olduğu; fakat mutlaka görülen bir klinik tablo olmadığını göstermektedir. González ve diğerlerinin (2011) Venezuela'da yaptığı çalışmada adenovirüs pozitif çocuklarda %78 oranında kusma görüldüğü, %22 'sinde kusma olmadığı belirtilmiştir. Gürbüz ve diğerleri (2010) adenovirüs pozitif olgularda kusma görüldüğünü ve günlük kusma sayısının ortalama 5 kez olduğunu tespit etmişlerdir.

Audu ve diğeri (2002) adenovirüs pozitif hastaların %63'ünde kusma görüldüğünü tespit etmiş; ancak yaptıkları çalışmada adenovirüs enfeksiyonlarının kusma, ateş, karın ağrısı gibi herhangi bir klinik semptom ile istatistiksel anlam taşıyan bir ilişkili olmadığını saptamışlardır.

Bizim çalışmamıza dahil edilen tüm hastalarda ishal vardır. Dolayısıyla hastaların tümünde ishal görüldüğü için, ishal varlığına göre adenovirüs pozitifliği yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ancak adenovirüs görülmesi ile günlük ishal sayısı arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Adenovirüs pozitif hastaların %48'inde (12/25) 6 kez ve daha üzeri sayıda ishal tablosu görülmüştür ($p<0.05$). Tüm pozitif olgularda %16 oranında 1-3 kez; %36 oranında 4-5 kez ishal saptanmıştır. González ve diğeri (2011) adenovirüs pozitif çocukların tamamında ishal görüldüğünü; %78'inde günlük ishal sayısının 1-9 arasında %22'sinde 10'dan fazla sayıda olduğu bildirilmiştir. Gürbüz ve diğeri (2010) adenovirüs pozitif olgularda günlük ishal sayısını ortalama 6 kez ve üzeri olarak tespit etmişlerdir. Adenovirüs gastroenteritinde ishal sayısı/gün ayırıcı tanıda önem taşımaktadır. Bizim çalışmamızda da istatistiki fark oluşturacak oranda adenovirüs pozitifliği ile ishal sayısı arasında ilişki bulunmuştur.

Çalışmamızda kullandığımız yöntemler karşılaştırıldığında İmmünokromatografik test ve Enzim-Immunoassay testlerinin duyarlılığının ve NPD'inin moleküler yöntemlere göre düşük olduğu görülmüştür. PZR ile kıyaslandığında immünokromatografik yöntemin duyarlılığı %36, özgüllüğü %100, PPD %100 ve NPD %90.6 olarak tespit edilmiştir. EIA ile kıyaslandığında immünokromatografik yöntemin duyarlılık, özgüllük, PPD ve NPD'leri sırasıyla %81.8, %100, %100, %98.8; olarak belirlenmiştir. PZR ile kıyaslandığında EIA testinin duyarlılık, özgüllük, PPD ve NPD'leri sırasıyla %44, %100, %100, %91.7 olarak tespit edilmiştir.

Rovida, Campanini, Sarasini, Adzasehoun, Piralla ve Baldanti'nin (2013) viral gastroenteritlerin tanısında kullanılan immünolojik yöntemler ile moleküler yöntemleri karşılaştırdığı çalışmalarında immünokromatografik yöntemle %1,6 (4/253) oranında adenovirüs pozitifliği tespit ederken, RT-PZR ile %5.5 (14/253) oranında adenovirüs pozitifliği tespit etmişlerdir. İmmünokromatografik yöntemi, moleküler yöntemle kıyasladığında ise immünokromatografik yöntemin duyarlılığı %28.6, özgüllüğü %100, PPD %100, NPD %95.9 olarak saptanmıştır.

Adenovirüslerin tespitinde sıklıkla kullanılan yöntemlerin duyarlılık ve özgüllüklerinin araştırıldığı çalışmalarda; Simpson, Aliyu, Iturriza-Gomara, Desselberger, ve Gray (2003) elektron mikroskobu ile kıyasladığında adenovirüs sonuçlarının PZR kullanımıyla %200 arttığını bildirmiştir. Viral gastroenterit ajanlarının tespitinde PZR kullanımının, EIA, ELISA ve elektron mikroskobuna göre pozitiflik oranlarını %50 ye varan oranlarda arttırdığının bildirildiği çok sayıda çalışma bulunmaktadır. (González ve diğerleri, 2011; Gunson, Miller, Leonard ve Carman, 2003; Pang, Joensuu, Hoshino, Kapikian ve Vesikari, 1999).

Logan, O'Leary ve O'Sullivan'ın (2006) 220 örnekle yaptığı çalışmada; örneklerde elektron mikroskobu, lateks aglütinasyon yöntemi ve PZR ile adenovirüs aranmış ve elektron mikroskobu ile 1 örnekte pozitiflik bulunurken, lateks aglütinasyon yöntemi ile pozitif örnek sayısı 4 olarak tespit edilmiştir. Aynı örnekler PZR ile test edildiğinde ise adenovirüs pozitif örnek sayısı 11'e yükselmiştir.

Dey ve diğerlerinin (2011) 0-5 yaş arasındaki 1053 çacukla yaptığı çalışmada ELISA ile adenovirüs pozitifliği %4 (42/1053) olarak tespit edilirken PZR ile adenovirüs pozitifliği %5.3 (56/1053) olarak tespit edilmiştir.

Samarbaf-Zadeh, Pirmoradi, Shamsizadeh ve Makvandi (2010) İran'da 0-5 yaş arasındaki akut gastroenteritli 280 çacukla yaptığı çalışmada EIA ile adenovirüs pozitifliği %2.5 (7/280) olarak tespit edilirken, PZR ile adenovirüs pozitifliği %4.3 (12/280) olarak saptanmıştır.

Çalışmamızda adenovirüs pozitif bulunan örneklerin tamamı (25/25) sekans analizi ile genotiplendirilmiş, adenovirüs serotiplerinin tespiti yapılmıştır. Adenovirüs pozitifliği bulunan 25 örneğin 22'si (%88) enterik adenovirüsler olarak adlandırılan F grubuna (AdV40, AdV41) aittir. Yirmibeş örneğin 16'sı (%64) AdV41 pozitif; 6'sı (%24) AdV40 pozitif, 2'si (%8) AdV31 pozitif, 1 tanesi (%4) AdV7 pozitif bulunmuştur.

Adenovirüs gastroenteritlerine; F grubunda bulunan AdV40, AdV41 serotiplerinin yanısıra, A grubunda bulunan AdV31, AdV12 ve AdV18'in de neden olduğu bildirilmiştir.

Ayrıca F ve A grubu dışında da gastroenterite neden olan serotiplerin tespit edildiğine yönelik çalışmalar mevcuttur. (Audu ve diğerleri, 2002; Dey ve diğerleri, 2011; González ve diğerleri, 2011; Pring-Åkerblom John Trijssenaar, Adrian ve Hoyer, 1999).

González ve diğerlerinin (2011) Venezuela'da 0-5 yaş arasındaki 480 gastroenteritli çocuğa ait dışkı örnekleriyle yaptığı çalışmada genusa spesifik ELISA testi ile %5 (23/480) adenovirüs pozitifliği tespit etmiş, adenovirüs pozitif örnekler tekrar serotipe spesifik (AdV40, AdV41) ELISA testine alındığında %2.1 (10/480) oranında adenovirüs bulmuştur. Fodha ve diğerleri (2007) Tunus'da akut gastroenteritli 638 çocukla gerçekleştirdiği çalışmada genusa spesifik ELISA testi ile %6 (35/638) adenovirüs pozitifliği tespit etmiş, adenovirüs pozitif örnekler tekrar serotipe spesifik (AdV40, AdV41) ELISA testine alındığında %3.1 (20/638) oranında adenovirüs bulmuştur. Kalan adenovirüs pozitif örneklerde tiplendirme yapılmayan bu çalışmalar olan AdV40, AdV41 dışında da gastroenterite neden adenovirüs tiplerinin varlığını işaret ettiğini düşünmekteyiz.

Chabbra ve diğerleri (2014) akut gastroenteritli çocuklarda PZR ile tespit ettikleri 20 adenovirüs pozitif örneğin 16 tanesini (%80) AdV41, 1 tanesini (%5) AdV40 olarak genotiplendirilmişlerdir. Adenovirüs pozitif üç örnekte ise (%15) tiplendirme yapılmadığını belirtmişlerdir. Gastroenteritli, 0-5 yaş arası ve adenovirüs pozitif çocuklara ait örneklerde genotiplendirme yapılan bu çalışma, tiplendirilemeyen örneklerde AdV40/41 dışında gastroenterit etkeni olan serotiplerin bulunabileceğini düşündürmektedir.

Dey ve diğerlerinin (2011) 0-5 yaş arasındaki 1053 çocukla yaptığı çalışmada ELISA ile adenovirüs pozitif tespit edilen 101 örnekte PZR ve dizi analizi ile genotiplendirme yapılmıştır. Genotiplendirme sonucunda adenovirüs pozitif örneklerde AdV41 (%52.5), AdV40 (%24.7), AdV15 (%7), AdV5 (%3) ve AdV12 (%2) tipleri tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar AdV15 ve AdV5'in ishali çocuklarda tespitine yönelik ilk çalışma olmuştur.

Pring-Åkerblom ve diğerlerinin (1999) toplam 100 dışkı, konjunktiva ve boğaz sürüntüsü örneklerinde multiplex PZR ile subgenus düzeyinde (A-F) adenovirüs tespitine yönelik çalışmasında 41 adet adenovirüs pozitif örnek bulmuşlardır. Adenovirüs pozitif dışkı

örneklerinde (26/41) F grubunun (AdV40, AdV41) yanı sıra, A grubu (AdV12, 18, 31) ve B grubuna (AdV3, 7, 16, 21, 50, 55) ait adenovirüs serotipleri tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda adenovirüs pozitifliği bulunan 25 örneğin 16'sı (%64) AdV41 pozitif; 6'sı (%24) AdV40 pozitif, 2'si (%8) AdV31 pozitif, 1 tanesi (%4) AdV7 pozitif bulunmuştur. Çalışmamız sonucunda en yüksek bulunan adenovirüs serotipi %64 ile AdV41 olmuştur.

Türkiye'de gastroenterite neden olan adenovirüs genotipleri ile ilgili çalışma sayısı çok azdır. Bu nedenle yurt dışında yapılan çalışmalara bakıldığında; Dey ve diğerlerinin (2011) adenovirüs pozitif örneklerde yaptığı genotiplendirme sonucunda %52.5 oranında AdV41, %24.7 oranında AdV40, %7 oranında AdV15, %3 oranında AdV5 ve %2 oranında AdV12 tipleri tespit edilmiştir. En yüksek oranda tespit edilen serotip, adenovirüs serotip 41 olmuştur. Chhabra ve diğerlerinin (2014) 495 örnek ile gerçekleştirdiği çalışmada toplamda tespit edilen 20 adenovirüs pozitif örneğin 16 tanesi (%80) AdV41, 1 tanesi (%5) AdV40 olarak genotiplendirilmiştir. Adenovirüs pozitif üç örnekte ise (%15) tiplendirme yapılamayan bu çalışmada da en sık tespit edilen serotip %80 ile AdV41 olmuştur

Çalışmamız sonucunda da en yüksek oranda bulunan adenovirüs serotipi %64 ile AdV41, ikinci olarak en yüksek oranda bulunan ise %24 ile AdV40 olmuştur. Bu sonuçlarımızın dünya literatüründe bulunan pozitiflikler ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda iki örnekte (%8) AdV31 tespit edilmiştir. AdV31'in adenovirüs gastroenteriti ile ilişkili olduğunu gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Audu ve diğerleri, 2002; Chhabra ve diğerleri, 2013; Dey ve diğerleri, 2011; González ve diğerleri, 2011; Pring-Åkerblom John Trijssenaar, Adrian ve Hoyer, 1999; Wilhelmi, Roman ve Sánchez-Fauquier, 2003).

Çalışmamızda sekans analizi sonrası 1 örnek (%4) AdV7 bulunmuştur. Yaptığımız literatür taramasında adenovirüs serotip 7 ile gastroenterit arasında ilişki olduğu ilk kez Gardner, McGregor ve Dick (1960) tarafından yapılan çalışmada tespit edilmiştir. Ayrıca AdV7 serotipinin hemorjik sistit, solunum yolu enfeksiyonları, hepatit, meningoensefalit ve miyokardit ile ilişkili olduğu çeşitli çalışmalar ile bildirilmiştir (Echavarría, 2008; Florescu ve Hoffman, 2013; Sandkovsky, Vargas ve Florescu, 2014).

Elde ettiğimiz dizilerin dünyadaki yerini daha kapsamlı bir şekilde inceleyebilmek için filogenetik analiz yapılmıştır. Analiz için BLAST programı kullanılmış ve bu dizilerin hangi izolatlara yakın olduğu belirlenmiştir. Buna göre hekson bölgesi göz önüne alındığında elimizdeki örneklere en yakın olanların Çin, Japonya, Tayland ve ABD izolatları olduğu görülmüştür. KC953653 (Çin), JX412892 (Çin), KF303071 (ABD), KC632648 (Tayland), AB330121 (Japonya), JF713007 (Çin), KF268119 (ABD) izolatlarına ait diziler ile elde ettiğimiz diziler karşılaştırılarak filogenetik ağaç elde edilmiştir.

Tespit edilen adenovirüs serotiplerinin bölgesel bulunuşları incelendiğinde %80 (20/25) oranında Asya, %20 (5/25) oranında Amerika ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. AdV41'e ait örnekler %81 (13/16) oranında Asya (Çin), %19 (3/16) oranında Amerika (ABD) ile benzerlik göstermiştir. AdV40'a ait altı örneğin tamamı Asya ile (Japonya, Tayland); AdV31'e ait 2 örneğin tamamı Amerika (ABD) ile AdV7'ye ait bir örnek Asya kıtası (Çin) ile benzerlik göstermiştir.

Gastroenterit etkeni adenovirüslerin genotiplendirilmesi ve filogenetik analizi ülkemizde ilk kez yapılmış olup bizim adenovirüs tiplerimizin %80'inin Asya kıtası ile yakınlık gösterdiği tespit edilmiştir. Bu durum bize üzerinde yaşadığımız kıtadaki adenovirüs tiplerinin aynı kökenden gelmiş olabileceğini düşündürmektedir.

Dünyada teknolojik ilerlemeler neticesinde turizmin gelişmesi, ülkeler arası seyahatlerin artması ve benzeri nedenlerle farklı serotipler taşınmakta ve yaygınlaşmaktadır. Türkiye bu anlamda kıtalararası bir geçiş bölgesidir. Çalışmamızda bölgemizdeki serotiplerin ilişkili olduğu genotipler gösterilmiş, filogenetik analizleri yapılmış ve adenovirüs epidemiyolojisinde önemli rol oynayacak veriler elde edilmiştir. Epidemiyolojik olarak bu çalışmaların tüm bölgeleri kapsayacak şekilde yapılması gerekmektedir.

6. SONUÇ

Sonuç olarak, 0-5 yaş arası çocuklarda %13.9 oranında saptadığımız adenovirüs gastroenteritinin bakteriyel olmayan gastroenterite yol açan önemli bir etken olduğu gösterilmiştir.

Ülkemizdeki çalışmalarda tespit edilen adenovirüs prevalansı ile çalışmamızda bulduğumuz sonuçlar karşılaştırıldığında, çalışmamızda elde edilen adenovirüs prevalansının yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum çalışmaya dahil ettiğimiz hasta örneklerinde bakteriyel ve paraziter ajanların yanısıra rotavirüs, norovirüs ve bufavirüs çalışılması ve gastroenterite neden olan bu etmenleri negatif olan hasta örneklerinin çalışmamız için seçilmiş olmasından kaynaklanmaktadır.

Çalışmamızda 0-5 yaş arası çocuklarda adenovirüs pozitifliği yaş gruplarına göre değerlendirildiğinde birbirine yakın olmakla birlikte 0-24 aylık çocuklarda daha yüksek oranda gözlenmiştir. Akut gastroenterit tablolarında, özellikle yaşamın ilk 2 yılında viral etkenler mutlaka araştırılmalı ve adenovirüs gastroenteriti olma ihtimali düşünülmelidir. Adenovirüs gastroenteritinin tedavisi dehidratasyonu önlemeye yönelik olacağından çocuklarda gereksiz antibiyotik kullanımı önlenecek ve uygun destek tedavileri ile daha etkin sonuçlar alınacaktır.

Adenovirüs enfeksiyonunda kusmanın önemli bir bulgu olduğu fakat mutlaka görülen bir klinik olmadığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte adenovirüs gastroenteriti yaşayan çocukların büyük çoğunluğunda ishal görüldüğü ve günlük ishal sayısının 6 ve üzeri olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda adenovirüs varlığının gösterilmesi için kullanılan yöntemlerin duyarlılık, özgüllük, PPD ve NPD'leri karşılaştırıldığında; PZR ile kıyaslandığında immünokromatografik yöntemin duyarlılığı %36, özgüllüğü %100, PPD %100 ve NPD %90.6 olarak tespit edilmiştir. EIA ile kıyaslandığında immünokromatografik yöntemin duyarlılık, özgüllük, PPD ve NPD'leri sırasıyla %81.8, %100, %100, %98.8; olarak belirlenmiştir. PZR ile kıyaslandığında EIA testinin duyarlılık, özgüllük, PPD ve NPD'leri sırasıyla %44, %100, %100, %91.7 olarak tespit edilmiştir.

Türkiye’de gastroenterite neden olan adenovirüs genotipleri ile ilgili kapsamlı bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak yurt dışında yapılan çalışmaları doğrular nitelikte çalışmamızda da adenovirüs gastroenteritine neden olabilen AdV40/41 dışında da serotiplerin (AdV31 ve AdV7) bulunduğu gösterilmiştir.

Çalışmamız sonucunda dünya literatürü ile uyumlu olarak akut gastroenterit etkeni adenovirüs serotipleri arasında prevalansı en yüksek adenovirüs serotipi AdV41 olmuştur.

Tespit edilen adenovirüs serotiplerinin bölgesel bulunuşları incelendiğinde %80 (20/25) oranında Asya kıtası, %20 (5/25) oranında Amerika kıtası ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Bu çalışma ile enterik adenovirüslerin filogenetik ağacı çizilmiş ve genotip analizleri ile filogenetik analizleri ülkemizde ilk kez yapılmıştır.

KAYNAKLAR

- Adrian, T., Wigand, R., & Richter, J. (1987). Gastroenteritis in infants, associated with a genome type of adenovirus 31 and with combined rotavirus and adenovirus 31 infection. *European Journal of Pediatrics*, 146(1), 38-40.
- Akıncı, N., Ercan, T. E., Yalman, N., Eren, A., Severge, B., & Ercan, G. (2007). Akut gastroenteritli çocuklarda Adenovirüs ve Rotavirüs. *Journal Pediatric Infection*, 1(3), 98-101.
- Van Maarseveen, N. M., Wessels, E., de Brouwer, C. S., Vossen, A. C., & Claas, E. C. (2010). Diagnosis of viral gastroenteritis by simultaneous detection of Adenovirus group F, Astrovirus, Rotavirus group A, Norovirus genogroups I and II, and Sapovirus in two internally controlled multiplex real-time PCR assays. *Journal of Clinical Virology*, 49(3), 205-210.
- Al Laham, N., Elyazji, M., Al-Haddad, R., & Ridwan, F. (2015). Prevalence of enteric pathogen-associated community gastroenteritis among kindergarten children in Gaza. *Journal of Biomedical Research*, 29(1), 61.
- Altındış, M., Beştepe, G., Çeri, A., Yavru, S., Kalaycı, R. (2008). Akut ishal yakınmalı çocuklarda rotavirus ve enterik adenovirus sıklığı. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 15:17-20.
- Atkinson, R. L. (2007). Viruses as an etiology of obesity. *Mayo Clinic Proceedings*, 82(10): 1192-8.
- Audu, R., Omilabu, A. S., Peenze, I., & Steele, D. A. (2002). Isolation and identification of adenovirus recovered from the stool of children with diarrhoea in Lagos, Nigeria. *African Journal of Health Sciences*, 9(1), 105-111.
- Azar, M. J., Dhaliwal, D. K., Bower, K. S., Kowalski, R. P., & Gordon, Y. J. (1996). Possible consequences of shaking hands with your patients with epidemic keratoconjunctivitis. *American Journal of Ophthalmology*, 121(6), 711-712.
- Balkan, Ç. E., Çelebi, D., Çelebi, Ö., Altoparlak, Ü. (2012). Erzurum'da 0-5 yaş arası çocuklarda rotavirus ve adenovirus sıklığının araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cemiyeti Dergisi*, 42:51-4.
- Bates, P. R., Bailey, A. S., Wood, D. J., Morris, D. J., Couriel, J. M. (1993). Comparative epidemiology of rotavirus, subgenus F (types 40 and 41) adenovirus and astrovirus gastroenteritis in children. *Journal Medical Virology* 39, 224-8.
- Benko, M., Harrach, B., Both, G. W., Russell, W. C., Adair, B. M., Adam, E., de Jong, J. C., Hess, M., Johnson, M., Kajon, A., Kidd, A. H., Lehmkuhl, H. D., Li, Q. G., Mautner, V., Pring-Akerblom, P., and Wadell, G. (2005). Family Adenoviridae. In:

- Fauquet, C. M., Mayo, M. A., Maniloff, J., Desselberger, U., and Ball, L. A., Eds., Virus taxonomy. Eighth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Elsevier*, New York, 213-228.
- Biçer, S., Tunca Şahin, G., Koncay, B., Gemici, H., & Engerek, N. (2009). Çocuklarda Adenovirüs gastroenteriti olgularının sıklığı. *Bakırköy Tıp Dergisi*, 5, 6-10.
- Birenbaum, E., Linder, N., Varsano, N., Azar, R., Kuint, J., Spierer, A., & Reichman, B. (1993). Adenovirus type 8 conjunctivitis outbreak in a neonatal intensive care unit. *Archives of Disease in Childhood*, 68 (5 Spec No), 610-611.
- Borsa, B. A., Tokman, H. B., Çağatay, P. (2013). Mardin Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi'nde 0-5 Yaş Arası Akut Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirüs ve adenovirüs Sıklığının Belirlenmesi. *ANKEM Dergisi*, 27(2), 75-79.
- Bru, T., Salinas, S., & Kremer, E. J. (2010). An update on canine adenovirus type 2 and its vectors. *Viruses*, 2(9), 2134-2153.
- Chhabra, P., Payne, D. C., Szilagyi, P. G., Edwards, K. M., Staat, M. A., Shirley, S. H., & Vinjé, J. (2013). Etiology of viral gastroenteritis in children < 5 years of age in the United States, 2008–2009. *Journal of Infectious Diseases*, 254.
- Chhabra, P., Samoilovich, E., Yermalovich, M., Chernyshova, L., Gheorghita, S., Cojocar, R., & Vinjé, J. (2014). Viral gastroenteritis in rotavirus negative hospitalized children < 5 years of age from the independent states of the former Soviet Union. *Infection, Genetics and Evolution*, 28, 283-288.
- Cimsit, B., Tichy, E. M., Patel, S. B., Rosencrantz, R., & Emre, S. (2012). Treatment of adenovirus hepatitis with cidofovir in a pediatric liver transplant recipient. *Pediatric Transplantation*, 16(3), E90-E93.
- Colomba, C., De Grazia, S., Giammanco, G. M., Saporito, L., Scarlata, F., Titone, L., & Arista, S. (2006). Viral gastroenteritis in children hospitalised in Sicily, Italy. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 25(9), 570-575.
- Cotrim, A.P. and B.J. Baum, (2008). Gene therapy: some history, applications, problems, and prospects. *Toxicol Pathology*, 36(1): p. 97-103.
- Cruz, J. R., Caceres, P., Cano, F., Flores, J., Bartlett, A., & Torun, B. (1990). Adenovirus types 40 and 41 and rotaviruses associated with diarrhea in children from Guatemala. *Journal of Clinical Microbiology*, 28(8), 1780-1784.
- Cui, X., Wen, L., Wu, Z., Liu, N., Yang, C., Liu, W., ... & Song, H. (2015). Human adenovirus type 7 infection associated with severe and fatal acute lower respiratory illness and nosocomial transmission. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(2), 746-749.

- Dağı, H. T., & Fındık, D. (2014). Akut gastroenteritli hastalarda rotavirüs ve adenovirüs antijenlerinin araştırılması. *Journal of Clinical & Experimental Investigations/Klinik ve Deneysel Araştırmalar Dergisi*, 5(2).
- Dey, R. S., Ghosh, S., Chawla-Sarkar, M., Panchalingam, S., Nataro, J. P., Sur, D., & Ramamurthy, T. (2011). Circulation of a novel pattern of infections by enteric adenovirus serotype 41 among children below 5 years of age in Kolkata, India. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(2), 500-505.
- Dey, S. K., Hoq, I., Okitsu, S. (2013). Prevalence, seasonality, and peak age of infection of enteric adenoviruses in Japan, 1995-2009. *Epidemiology Infection* 141:958-60.
- Echavarria, M. (2008). Adenoviruses in immunocompromised hosts. *Clinic Microbiology Review*, 21(4): 704.
- Edelstein, M.L., Abedi, M.R. and Wixon, J. (2007). Gene therapy clinical trials worldwide to 2007 an update. *Journal Gene Medical*, 9(10): p. 833-42.
- Enriquez, C. E., Hurst, C. J. & Gerba, C. P. (1995). Survival of the enteric adenoviruses 40 and 41 in tap, sea, and waste water. *Water Reseach* 29, 2548–2553.
- Erdin, B. N., Pas, S. D., Durak, İ., Schutten, M., & Sayiner, A. A. (2014). A 5-year study of adenoviruses causing conjunctivitis in Izmir, Turkey. *Journal of Medical Virology*, 87(3), 472-477.
- Evelyn, M., Sharon. L., Ludwig, J. (1999). Reemergence of adenovirus type 4 acute respiratory disease in military trainees: Report of an outbreak during a lapse in vaccination. *Journal Infectious Diseases* 179: 1531–3.
- Favier, A. L., Schoehn, G., Jaquinod, M., Harsi, C., & Chroboczek, J. (2002). Structural studies of human enteric adenovirus type 41. *Virology*, 293(1), 75-85.
- Feucht, J., Opherk, K., Lang, P., Kayser, S., Hartl, L., Bethge, W., Feuchtinger, T. (2015). Adoptive T-cell therapy with hexon-specific THELPER-1 cells as a treatment for refractory adenovirus infection after HSCT.
- Flint, S. J., Enquist, L. W., Krug, R. M., Racaniello, V. R., Skalka, A. M. (2000). Principles of virology: molecular biology, pathogenesis and control. *Washington ASM Press*, 595, 598.
- Florescu, D. F., Hoffman, J. A. (2013). Adenovirus in solid organ transplantation. *Journal Transplant*. 13 Suppl 4: 206–11.
- Fodha, I., Chouikha, A., Dewar, J., Trabelsi, A., Boujaafar, N., & Steele, A. D. (2007). [Prevalence of adenovirus antigens in children presenting with acute diarrhoea]. *Medecine Tropicale: Revue du Corps de Sante Colonial*, 67(3), 256-258.

- Gardlík, R., Pálffy, R., Hodosy, J., Lukács, J., Turna, J., & Celec, P. (2005). Vectors and delivery systems in gene therapy. *Medical Science Monitor Basic Research*, 11(4), RA110-RA121.
- Gardner, P. S., McGregor, C. B., & Dick, K., (1960). Association between diarrhoea and adenovirus type 7. *British Medical Journal*, 1(5166), 91.
- Ginsberg, H. S., and Prince, G. A. (1994). The molecular basis of adenovirus pathogenesis. *Infection Agents Dis.* 3:1–8.
- González, G. G., Liprandi, F., & Ludert, J. E. (2011). Molecular epidemiology of enteric viruses in children with sporadic gastroenteritis in Valencia, Venezuela. *Journal of Medical Virology*, 83(11), 1972-1982.
- Gray, G. C., McCarthy, T., Lebeck, M. G., Schnurr, D. P., Russell, K. L., Kajon, A. E., Landry, M. L., Leland, D. S., Storch, G. A., Ginocchio, C. C., Robinson, C. C., Demmler, G. J., Saubolle, M. A., Kehl, S. C., Selvarangan, R., Miller, M. B., Chappell, J. D., Zerr, D. M., Kiska, D. L., Halstead, D. C., Capuano, A. W., Setterquist, S. F., Chorazy, M. L., Dawson, J. D., and Erdman, D. D. (2007). Genotype prevalence and risk factors for severe clinical adenovirus infection, United States 2004–2006. *Clinic Infection Disease*, 45:1120– 1131.
- Gunson, R. N., Miller, J., Leonard, A., and Carman, W. F. (2003). Importance of PCR in the diagnosis and understanding of rotavirus illness in the community. *Commun. Disease Public Health*, 6:63–65.
- Gül, M., Garipardıç, M., Çıragıl, P., Aral, M., Karabiber, H., Güler, İ. (2005). 0-5 yaş arası gastroenteritli çocuklarda rotavirüs ve adenovirüs tip 40/41 araştırılması, *ANKEM Dergisi*, 19 (2): 64-7.
- Gülen, D., Aydın, M., Uzun, A., Kaya, A. D. (2013). Tekirdağ Devlet Hastanesi'ne Başvuran Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirus ve Adenovirus Antijen Varlığının Araştırılması. *Journal Pediatr Infection*, 7: 131-5.
- Gültepe, B., Yaman, G., Çıkman, A., & Güdücüoğlu, H. (2012). Çocukluk yaş grubu gastroenteritlerde rotavirus ve adenovirus sıklığı. *Türk Mikrobiyol Cemiyeti Dergisi*, 42(1), 16-20.
- Gürbüz, F., Tezer, H., Şaylı, T. R. (2010). Akut gastroenterit nedeniyle hastaneye yatan hastalarda etkenler ve klinik bulgular: Epidemiyolojik çalışma. *Türkiye Çocuk Hastalıkları Dergisi*, 4:211-218.
- Heemskerk, B., Veltrop-Duits, L. A., van Vreeswijk, T., Monique, M., Heidt, S., Toes, R. E., & Schilham, M. W. (2003). Extensive cross-reactivity of CD4+ adenovirus-specific T cells: implications for immunotherapy and gene therapy. *Journal of Virology*, 77(11), 6562-6566.

- Huang, Y. C., Huang, S. L., Chen, S. P., Huang, Y. L., Huang, C. G., Tsao, K. C., & Lin, T. Y. (2013). Adenovirus infection associated with central nervous system dysfunction in children. *Journal of Clinical Virology*, 57(4), 300-304.
- İnternet: Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization). Global Health Observatory Data Repository. URL: <http://apps.who.int/gho/data/view.main.CM100WORLD-CH3?lang=en>, Son Erişim Tarihi: 17.03.2015.
- Jain, S., Williams, D. J., Arnold, S. R., Ampofo, K., Bramley, A. M., Reed, C., ... & Finelli, L. (2015). Community-acquired pneumonia requiring hospitalization among US children. *New England Journal of Medicine*, 372(9), 835-845.
- Jawetz, Melnick, Adelberg. (2010). *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*, 25th Edition by Vishal. USA: Mx Graw Hill, 419-425.
- Kandemir, İ., Atalay, M. A., Delice, S., Taş, S. K., & Gökahmetoğlu, S. (2014). Gastroenteritli Çocuklarda Enterik Adenovirüs Antijenleri. *Türk İmmünoloji Dergisi*, 67-69.
- Karsten, C., Baumgarte, S., Friedrich, A. W., von Eiff, C., Becker, K., Wosniok, W., & Huppertz, H. I. (2009). Incidence and risk factors for community-acquired acute gastroenteritis in north-west Germany in 2004. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 28(8), 935-943.
- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal Molecular Evolution*, 16: 111-120.
- Kinchington, P. R., Romanowski, E. G., Jerold Gordon, Y. (2005). Prospects for adenovirus antivirals. *Journal Antimicrobial Chemother*, 55:424-429.
- Kitabayashi, A., Hirokawa, M., Kuroki, J., Nishinari, T., Niitsu, H., & Miura, A. B. (1994). Successful vidarabine therapy for adenovirus type 11-associated acute hemorrhagic cystitis after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 14(5), 853-854.
- Kloos, R. Q., Boelens, J. J., de Jong, T. P., Versluys, B., & Bierings, M. (2013). Hemorrhagic cystitis in a cohort of pediatric transplantations: incidence, treatment, outcome, and risk factors. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 19 (8), 1263-1266.
- Kotha, P. L., Sharma, P., Kolawole, A. O., Yan, R., Alghamri, M. S., Brockman, T. L., & Excoffon, K. J. (2015). Adenovirus Entry From the Apical Surface of Polarized Epithelia Is Facilitated by the Host Innate Immune Response. *PLoS Pathogens*, 11(3).

- Kutlu, T. (2007). *İshalli çocuğun beslenmesi*. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum dizisi, 57: 87-94.
- Langley, J. M. (2005). Adenoviruses. *Pediatr Review*, 26: 244-9.
- Lee, T. W., Matthews, D. A. and Blair, G. E. (2005). Novel molecular approaches to cystic fibrosis gene therapy. *Biochemical Journal*, 387 (Pt 1): p. 1-15.
- Lee, W. J., Jung, H. D., Cheong, H. M., & Kim, K. (2015). Molecular epidemiology of a post-influenza pandemic outbreak of acute respiratory infections in Korea caused by human adenovirus type 3. *Journal of Medical Virology*, 87(1), 10-17.
- Leopold, P. L., Ferris, B., Grinberg, I., Worgall, S., Hackett, N. R., & Crystal, R. G. (1998). Fluorescent virions: dynamic tracking of the pathway of adenoviral gene transfer vectors in living cells. *Human Gene Therapy*, 9(3), 367-378.
- Liddle, O. L., Samuel, M. I., Sudhanva, M., Ellis, J., & Taylor, C. (2014). Adenovirus urethritis and concurrent conjunctivitis: a case series and review of the literature. *Sexually Transmitted Infections*, 91(2), 87-90.
- Logan, C., O'Leary, J. J., & O'Sullivan, N. (2006). Real-time reverse transcription-PCR for detection of rotavirus and adenovirus as causative agents of acute viral gastroenteritis in children. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(9), 3189-3195.
- Lütschg, V., Boucke, K., Hemmi, S., & Greber, U. F. (2011). Chemotactic antiviral cytokines promote infectious apical entry of human adenovirus into polarized epithelial cells. *Nature Communications*, 2, 391.
- Mahr, J. A., and Gooding. L. R. (1999). Immune evasion by adenoviruses. *Immunology Review*, 168:121–130.
- Mitchell, D. K., Jiang, X., Matson, D. O. (2000). *Gastrointestinal infections*, pp: 79-92. In: Storch GA (ed), *Essentials of Diagnostic Virology*. 1st ed. Churchill Livingstone, New York.
- Montone, K. T., Furth, E. E., Pietra, G. G., & Gupta, P. K. (1995). Neonatal adenovirus infection: a case report with in situ hybridization confirmation of ascending intrauterine infection. *Diagnostic Cytopathology*, 12(4), 341-344.
- Motamedifar, M., Amini, E., & Shirazi, P. T. (2013). Frequency of rotavirus and adenovirus gastroenteritis among children in Shiraz, Iran. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 15 (8), 729.
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2013). *Medical Microbiology, with student consult Online Access, 7: Medical Microbiology*. Elsevier Health Sciences. 454-460.

- Nava, M. (2015). *Adenovirus small e1a regulates host cell transcription* (Doctoral dissertation, University of California, Los Angeles).
- O'Neill, H. J., McCaughey, C., Coyle, P. V., Wyatt, D. E., & Mitchell, F. (2002). Clinical utility of nested multiplex RT-PCR for group F adenovirus, rotavirus and norwalk-like viruses in acute viral gastroenteritis in children and adults. *Journal of Clinical Virology*, 25(3), 335-343.
- Otağ, F., Direkel, Ş., Özgür, D., Delialioğlu, N., Aslan, G., & Emekdaş, G. (2012). Akut Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirüs ve Enterik Adenovirüs Antijenlerinin Hızlı İmmunokromatografik Yöntemle Araştırılması. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5 (3).
- Özdemir, M., Demircili, M. E., Feyzioğlu, B., Yavru, S., & Baysal, B. (2013). İshalli Hastalarda Akut Viral Gastroenterit Etkenlerinin Araştırılması. *Selçuk Tıp Dergisi*, 29 (3), 127-130.
- Özdemir, S., Delialioğlu, N., Emekdaş, G. (2010). Investigation of rotavirus, adenovirus and astrovirus frequencies in children with acute gastroenteritis and evaluation of epidemiological features. *Mikrobiyoloji Bülteni* 44, 571-578.
- Pang, X. L., Joensuu, J., Hoshino, Y., Kapikian, A. Z., and Vesikari, T. (1999). Rotaviruses detected by reverse transcription polymerase chain reaction in acute gastroenteritis during a trial of rhesus-human reassortant rotavirus tetravalent vaccine: implications for vaccine efficacy analysis. *Journal of Clinical Virology*, 13: 9-16.
- Pang, X. L., Preiksaitis, J. K., & Lee, B. E. (2014). Enhanced enteric virus detection in sporadic gastroenteritis using a multi-target real-time PCR panel: A one-year study. *Journal of Medical Virology*, 86(9), 1594-1601.
- Pinto, A., Beck, R., Jadavji, T., (1992). Fatal neonatal pneumonia caused by adenovirus type 35: report of one case and review of the literature. *Pathology Laboratory Medical*, 116: 95-99.
- Pring-Åkerblom, P., John Trijssenaar, F. E., Adrian, T., & Hoyer, H. (1999). Multiplex polymerase chain reaction for subgenus-specific detection of human adenoviruses in clinical samples. *Journal of Medical Virology*, 58(1), 87-92.
- Rein, D. T., Breidenbach, M., Curiel, D. T. (2006). Current developments in adenovirus-based cancer gene therapy. *Future Oncology*, 2: 137-143.
- Rocholl, C., Gerber, K., Daly, J., Pavia, A. T., Byington, C. L. (2004). Adenoviral infections in children: the impact of rapid diagnosis. *Pediatrics*, 113 (1 Pt 1): e51-6.

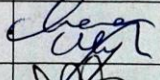
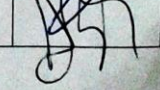
- Ronan, B. A., Agrwal, N., Carey, E. J., De Petris, G., Kusne, S., Seville, M. T., & Vikram, H. R. (2014). Fulminant hepatitis due to human adenovirus. *Infection*, 42(1), 105-111.
- Rosenberg, S. A., Aebersold, P., Cornetta, K., Kasid, A., Morgan, R. A., Moen, R., & Anderson, W. F. (1990). Gene transfer into humans immunotherapy of patients with advanced melanoma, using tumor-infiltrating lymphocytes modified by retroviral gene transduction. *New England Journal of Medicine*, 323(9), 570-578.
- Rota, S., Fidan, I. (2007). Noninflamatuvar diyarelerin patogenezi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 37(4): 234-41.
- Rovida, F., Campanini, G., Sarasini, A., Adzasehoun, K. M. G., Piralla, A., & Baldanti, F. (2013). Comparison of immunologic and molecular assays for the diagnosis of gastrointestinal viral infections. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 75(1), 110-111.
- Rowe, W. P., Huebner, R. J., Gillmore, L. K., Parrott, R. H. & Ward, T. G. (1953). Isolation of a cytopathic agent from human adenoids undergoing spontaneous degeneration in tissue culture. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 84, 570-573.
- Russell, W. C. (2000). Update on adenovirus and its vectors. *Journal Gene Virology*, 81(Pt 11): 2573-604.
- Russell, W. C. (2009). Adenoviruses: update on structure and function, *Journal Gene Virology*, 90 (Pt 1): 1-20.
- Ruuskanen, O., Meurman, O., Akusjärvi, G. (2002). *Adenoviruses*. In: Richman, D. D., Whitley, R.J., Hayden, F.G., editors. *Clinical Virology*, 2th ed. Washington: ASM Press; 515–35.
- Samarbaf-Zadeh, A., Pirmoradi, R., Shamsizadeh, A., & Makvandi, M. (2010). Prevalence of adenoviruses 40 and 41 in children less than five years suffering from acute gastroenteritis hospitalized in Ahvaz Abuzar Hospital. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 3(2), 48-52.
- Sandkovsky, U., Vargas, L., & Florescu, D. F. (2014). Adenovirus: current epidemiology and emerging approaches to prevention and treatment. *Current infectious disease reports*, 16(8), 1-8.
- Schmitz, H., Wigand, R., Heinrich, W. (1983). Worldwide epidemiology of human adenovirus infections *Am. Journal Epidemiology*, 117: 455.
- Segal, K. L., Lai, E. C., & Starr, C. E. (2014). Management of Acute Conjunctivitis. *Current Ophthalmology Reports*, 2(3), 116-123.

- Segerman, A., Arnberg, N., Erikson, A., Lindman, K., & Wadell, G. (2003). There are two different species B adenovirus receptors: sBAR, common to species B1 and B2 adenoviruses, and sB2AR, exclusively used by species B2 adenoviruses. *Journal of Virology*, 77(2), 1157-1162.
- Serter, D. (1997). *Virüs, Riketsiya ve Klamidya Hastalıkları*. Nobel Tıp Kitabevleri, İzmir: 120.
- Shenk, T. (1996). *Adenoviridae: The viruses and their replication*. In: fields Virology, 3rd. Edition. Fields BN, Knipe DM, Howley PM, et al, eds. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 2111-2159.
- Simpson, R., Aliyu, S., Iturriza-Gomara, M., Desselberger, U., and Gray. J. (2003). Infantile viral gastroenteritis: on the way to closing the diagnostic gap. *Journal Medical Virology.*, 70:258–262.
- Soli, K. W., Maure, T., Kas, M. P., Bande, G., Bebes, S., Luang-Suarkia, D., & Horwood, P. F. (2014). Detection of enteric viral and bacterial pathogens associated with paediatric diarrhoea in Goroka, Papua New Guinea. *International Journal of Infectious Diseases*, 27, 54-58.
- Sürmeli-Onay, Ö., Karhan, A., Güçer, Ş., Karagöz, T., & Yurdakök, M. (2012). Postmortem tanı alan fatal adenoviral pnömoni: Bir yenidoğan olgusu. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 55: 92-95.
- Takiff, H., Straus, S., & Garon, C. (1981). Propagation and in vitro studies of previously non-cultivable enteral adenoviruses in 293 cells. *The Lancet*, 318 (8251), 832-834.
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M., & Kumar, S. (2007). MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, 24(8), 1596-1599.
- Tebruegge, M., & Curtis, N. (2012). Adenovirus: an overview for pediatric infectious diseases specialists. *Pediatric Infection Disease J* 1, 626–627.
- Tekin, A. (2010). Mardin'deki akut gastroenteritli çocuklarda rotavirüs ve enterik adenovirüs sıklığı, *Journal Clinical Experimental Investigations*, 1(1):41-5.
- Thornton, A. C., Jennings-Conklin, K. S., McCormick, M. I. (2004). Noroviruses: Agents in Outbreaks of Acute Gastroenteritis. *Disaster Manage Response*, 2: 4-9.
- Thurston-Enriquez, J. A., Haas, C. N., Jacangelo, J., Riley, K. & Gerba, C. P. (2003). Inactivation of feline calicivirus and adenovirus type 40 by UV radiation. *Apply Environ Microbiology* 69, 577–582.
- Topçu Willke, A., Söyletir, G., & Doganay, M. (2008). *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. 3. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitap Evi, 1710-7.

- Tran, A., Talmud, D., Lejeune, B., Jovenin, N., Renois, F., Payan, C., & Andreoletti, L. (2010). Prevalence of rotavirus, adenovirus, norovirus, and astrovirus infections France. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(5), 1943-1946.
- Tuncer, S., Ceyhan, M., Yurdakök K. (1995). *Akut Gastroenteritli Çocuklarda Adenovirus Tip 40 ve tip 41' in Önemi*. V. Ulusal İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, İstanbul, Bildiri Özet Kitabı, s.102.
- Us, D. A., ve Ergünay, K. (2012). *Moleküler Kinik ve Tanısal Viroloji*, 1. Basım, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 177-215.
- Wilhelmi, I., Roman, E., Sánchez-Fauquier, A. (2003). Viruses causing gastroenteritis. *Clinical Microbiology Infection*, 9: 247-62.
- Wolfrum, N., & Greber, U. F. (2013). Adenovirus signalling in entry. *Cellular microbiology*, 15(1), 53-62.
- Xie, L., Yu, X. F., Sun, Z., Yang, X. H., Huang, R. J., Wang, J., ... & Liu, S. L. (2012). Two adenovirus serotype 3 outbreaks associated with febrile respiratory disease and pharyngoconjunctival fever in children under 15 years of age in Hangzhou, China, during 2011. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(6), 1879-1888.
- Yazıcı, V., Manzur, Y., & Akbulut, A. (2013). Akut Gastroenteritli Olgularda Rotavirus ve Enterik Adenovirus İnfeksiyonlarının Sıklığının Araştırılması. *Klinik Dergisi*, 26(1), 13-6.
- Yılmaz, İ. (2013). *Akut İshalli Çocuklarda Nörovirüs, Rotavirüs ve Adenovirüs sıklığı*. Uzmanlık Tezi, İstanbul Üniversitesi. İstanbul.
- Yousefi Rad A, Gözalan A. (2010). Detection of Rotavirus and Enteric Adenovirus antigens in outpatients with gastroenteritis. *Türkiye Klinikleri Journal Medical Science*, 30: 174-9.
- Yusuf, U., Hale, G. A., Carr, J., Gu, Z., Benaim, E., Woodard, P., & Hayden, R. T. (2006). Cidofovir for the treatment of adenoviral infection in pediatric hematopoietic stem cell transplant patients. *Transplantation*, 81(10), 1398-1404.
- Zhao, H., Chen, M., & Pettersson, U. (2014). A new look at adenovirus splicing. *Virology*, 456, 329-341.

EKLER

EK-1. Etik Kurul Onayı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR KARAR FORMU									
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUNUN ADI	Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu							
	AÇIK ADRES	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası 06500 Beşevler/Ankara							
	TELEFON	0312 202 69 58							
	FAKS	0312 202 46 73							
E-POSTA	tipetikkurul@gazi.edu.tr								
BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Akut gastroenteritli 0-5 yaş arası çocuklarda nörovirus prevalansının araştırılması							
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Gülendem BOZDAYI							
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI/UZMANLIK ALANI/ BULUNDUĞU MERKEZ	Tıbbi Mikrobiyoloji A.D/ G.Ü.T.F.							
	DESTEKLEYİCİ (Varsa)								
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Kan, idrar, doku, radyolojik görüntü gibi biyokimya,mikrobiyoloji, patoloji ve radyoloji koleksiyon materyalleriyle veya rutin muayene tetkik tahlil ve tedavi işlemleri sırasında (önceden) elde edilmiş materyallerle yapılacak araştırmalar – Uzmanlık Tezi							
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>					
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Ver.No	Dili					
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>			
	AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>			
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı			Açıklama					
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ		<input checked="" type="checkbox"/>						
	BIYOLOJİK MATERYAL TRANSFER FORMU		<input type="checkbox"/>						
	DİĞER		<input type="checkbox"/>						
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 593	Toplantı tarihi: 22.12.2014							
	<p>Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmacının/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve 23.03.2011 tarihli toplantıda 21 sayı ile uygun bulunmuştur.</p> <p>Sorumlu araştırmacının 19.12.2014 tarih ile, Kurulumuza sunmuş olduğu bildiriminde, aynı hasta grubunda Adenovirüs çalışılacağı ve bu çalışma için gönüllülerden tekrar onam alınacağı talebi,</p> <p>Etik Kurulumuzda incelenmiş ve uygun bulunmuş olup, araştırma dosyasında belirtilen merkez/merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına, G.Ü. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir.</p>								
GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU									
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik (13.04.2013), İy Klinik Uygulamaları Kılavuzu								
BAŞKANIN ÜNVANI / ADI / SOYADI:	Prof.Dr.Canan ULUOĞLU								
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki	Katılım *	İmza		
Prof.Dr.Canan ULUOĞLU BAŞKAN	Tıbbi Farmakoloji A.D	G.Ü.T.F	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Arzu BAKIRTAŞ BAŞKAN YARD.	Çocuk Sağlığı ve Hast.A.D	G.Ü.T.F	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

EK-1. (devam) Etik Kurul Onayı

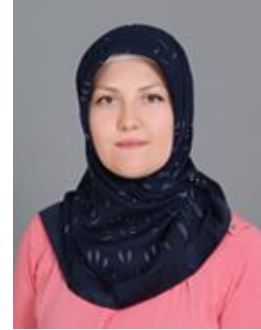
Prof.Dr.Gonea AKBULUT RAPORTÖR	Fizyoloji A.D	G.Ü.T.F	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Bülent BOYACI ÜYE	Kardiyoloji A.D	G.Ü.T.F	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Sefer AYCAN ÜYE	Halk Sağlığı A.D	G.Ü.T.F	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Mehmet Akif ÖZTÜRK ÜYE	İç Hastalıkları A.D	G.Ü.T.F	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Elvan İŞERİ ÜYE	Çocuk Psikiyatrisi A.D	G.Ü.T.F	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU ÜYE	Tıp Tarihi ve Etiği A.D	G.Ü.T.F	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı
Prof.Dr.Sercan AKSOY ÜYE	İç Hastalıkları AD.	H.Ü.T.F	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr.Hakan KAYIR ÜYE	Tıbbi Farmakoloji A.D	G.A.T.A	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr.Mustafa ARSLAN ÜYE	Anesteziyoloji ve Reanimasyon A.D	G.Ü.T.F	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr.Murat AKIN ÜYE	Genel Cerrahi A.D	G.Ü.T.F	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Av.Arzu BUZKIRAN KAYA ÜYE	Avukat	G.Ü.	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Emine ŞEKER ÜYE	Sivil Temsilci	-	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

* :Araştırma ile İlişki
 ** :Toplantıda Bulunma

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ÇOLAK, Meryem
 Uyuğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 30.05.1984, Ankara
 Medeni hali : Evli
 Telefon : 0 544 550 6357
 e-mail : microbiyolog@hotmail.com



Eğitim Derecesi	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi / Tıbbi Mikrobiyoloji ABD.	Devam ediyor
Yüksek lisans	Niğde Üniversitesi / Mikrobiyoloji ABD.	2011
Lisans	Niğde Üniversitesi / Biyoloji Bölümü	2007
Lise	Fatih Sultan Mehmet Lisesi (Yabancı dil ağırlıklı)	2002

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2007 – 2012	SÜTAŞ SÜT ÜRÜNLERİ A.Ş	Mikrobiyoloji Uzmanı

Yabancı Dil

İngilizce

Hobiler

Yüzme



GAZİ GELECEKTİR..