



T.C.
MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**EVDE BESLENEN DİYARELİ KÖPEKLERİN DİŞKILARINDA
NOROVİRUS GENOGRUPLARININ (GI, GII VE GIV)
ARAŞTIRILMASI**

Tıp Hekimi Sevinç SÖKEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VİROLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof.Dr. Mehmet KALE

BURDUR-2017



T.C.
MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**EVDE BESLENEN DİYARELİ KÖPEKLERİN DİŞKILARINDA
NOROVİRUS GENOGRUPLARININ (GI, GII VE GIV)
ARAŞTIRILMASI**

Tıp Hekimi Sevinç SÖKEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VİROLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof.Dr. Mehmet KALE

Bu Araştırma Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0358-YL-16 proje numarası ile desteklenmiştir.

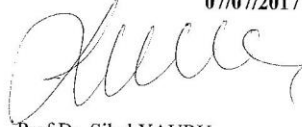
BURDUR-2017

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Sevinç SÖKEL tarafından *Prof.Dr. Mehmet KALE* yönetiminde hazırlanan *Evde Beslenen Diyareli Köpeklerin Dışkılarında Norovirus Genogruplarının (GI, GII ve GIV) Araştırılması* başlıklı tez çalışması jüri üyeleri olarak tarafımızdan okunmuş; kapsamı ve niteliği açısından Viroloji Anabilim Dalında (*Yüksek Lisans Tezi*) olarak oy birliği / oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi

07/07/2017



Prof.Dr. Sibel YAVRU

Selçuk Üniversitesi
Veteriner Fakültesi

Başkan



Prof.Dr. Mehmet KALE

Mehmet Akif Ersoy
Üniversitesi Veteriner
Fakültesi

Jüri



Doç.Dr. Sibel GÜR

Afyon Kocatepe
Üniversitesi Veteriner
Fakültesi

Jüri

ONAY

Bu tez, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Lisans Üstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu ~~20/07/2017~~ Tarih ve ~~2017/23~~ sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof.Dr. M.Doğa TEMİZSOYLU
Müdür
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



TEŐEKKÖR

Örnekleme işlemlerinde yardımcı olan tüm hayvan sever dostlara teşekkürü bir borç bilirim.

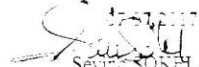
Tezin laboratuvar çalışmaları aşamasında yardımcı olan ve imkan sağlayan Prof. Dr. Mehmet KALE, Yard.Doç.Dr. Sibel HASIRCIOĞLU, Arş.Gör. Hasbi Sait SALTİK ve Uzman Orhan YAVUZ'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim ve tez aşamasında bana her zaman destek olan eşim, çocuklarım, iş arkadaşlarım ve dostlarıma teşekkürlerimi sunarım.



BEYAN

Evde Beslenen Diyareli Köpeklerin Dışkılarında Norovirus Genogruplarının (GI, GII ve GIV) Araştırılması başlıklı tez çalışmamın kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdaki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.


Sevilin SÖNEL

ONAY



Prof.Dr. Mehmet KALE

Danışman

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK SAYFASI	
KABUL VE ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
BEYAN SAYFASI	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
TÜRKÇE ÖZET	xi
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Virus Yapısı	3
2.1.1. Virus Konak Etkileşimi ve Patogenez	3
2.1.2. Viral Gastroenteritler	4
2.2. Caliciviridae Ailesi	5
2.3. NoV Enfeksiyonları	8
2.3.1. NoV Yapısı	8
2.3.2. NoV Sınıflandırması	9
2.3.3. NoV Genom Replikasyonu	10
2.3.4. Patogenez	11
2.3.5. İnsan NoV	12
2.3.6. Canini NoV	14
2.4. NoV Epidemiyolojisi	16
2.4.1. İnsan NoV Epidemiyolojisi	17
2.4.2. Hayvan NoV Epidemiyolojisi	19
2.4.3. Zoonotik Risk Durumu	20
2.5. Klinik	23
2.5.1. İnsanlarda Klinik Bulgular	23
2.5.2. Hayvanlarda Klinik Bulgular	24
2.6. NoV Teşhis, Tedavi, Korunma	25

2.6.1.	NoV Teşhisi	25
2.6.2.	NoV Tedavisi	27
2.6.3.	Korunma ve Kontrol	27
3	GEREÇ ve YÖNTEM	30
3.1.	Köpek Dışkı Örneklerinin Toplanması	30
3.2.	Köpek Dışkı Örneklerinin RNA Ekstraksiyonuna Hazırlanması	32
3.3.	Köpek Dışkı Örneklerinin RNA Ekstraksiyon Protokolü	35
3.3.1.	Homojenizasyon	35
3.3.2.	RNA Faz Ayrılması	35
3.3.3.	RNA Presipitasyonu	36
3.4.	Real-Time PCR ile NoV Genomu Tespiti	37
3.5.	İstatistiki Analiz	38
4.	BULGULAR	39
5.	TARTIŞMA	45
6.	SONUÇ ve ÖNERİLER	50
7.	KAYNAKLAR	52
8.	EKLER	71
8.1	Evde Beslenen Diareli Köpeklerin Dışkılarında NoV Araştırılması Anketi	71
9.	ÖZGEÇMİŞ	73

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Calicivirus kapsid yapısı	5
Şekil 2.2. Caliciviridae ailesinin filogenetik bağı	6
Şekil 2.3. NoV genomunun şematik yapısı, genom yapısında ORF'lerin varyantları	8
Şekil 2.4. NoV sınıflandırmasının şeması	10
Şekil 2.5. İnsan ve çevre olarak NoV bulaşma yolları	16
Şekil 2.6. Hayvan ve gıda orijinli çevresel virus kontaminasyon risk algoritmi	21
Şekil 3.1. Gaita örnekleri ve toplama kabı	30
Şekil 3.2. RNAfter™ solüsyonu	31
Şekil 3.3. 5 ml RNAfter™ konmuş cam tüpler	31
Şekil 3.4. Çözdürülen örneklerden gaita alımı	32
Şekil 3.5. Çözdürülen örneklerin eppendorf tüplerine aktarımı	33
Şekil 3.6. Örneklerin vortekslenme işlemi	33
Şekil 3.7. Örneklerin santrifügasyon işlemi	34
Şekil 3.8. Süpernatantların farklı eppendorf tüplerine aktarımı	34
Şekil 3.9. Kloroform ilavesi	35
Şekil 3.10. Isıtıcıda inkübasyon işlemi	36
Şekil 4.1. Köpeklerin aşı durumları	40
Şekil 4.2. Köpeklerin bakımından sorumlu kişilerin teması sırasında tutum ve davranışları	41
Şekil 4.3. Real-Time PCR sonuçları	42

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1. Calicivirus güncel taksonomi tablosu (2015)	7
Tablo 2.2. NoVsalgınlarında enfeksiyon kontrol önlemleri	29
Tablo 3.1. HEX, FAM ve ROX kanallarının fluoresans dalga boylarının durumuna göre sonuç değerlendirme tablosu	38
Tablo 4.1. Köpek sahiplenme yolları	39
Tablo 4.2. Köpek bakımından sorumlu kişilerin demografik verileri	40
Tablo 4.3. NoV G II pozitif bulunan köpeklerin bazı anket sonuçları	44

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

AGE: Akut gastroenteritler

CDC: Centre for disease control and prevention

°C: Santigrat derece

Cp: Crossing point

Cq: Quantification cycles

Ct: Treshold cycle

ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay

EM: Elektron mikroskop

EUYS: Erken uyarı ve yanıt sistemi

gRNA: Genomik RNA

HBGAs: İnsan histo-kan grup antijen reseptörleri

ICTV: Uluslararası virus taksonomi komitesi

IFA: İmmunfloresans antikor

kDa: Kilodalton

L: Litre

max: maksimum

mg: Miligram

min: minimum

ml: Mililitre

n: sayı

ng: Nanogram

nm: Nanometre

NoV: Norovirus

PBS: Phosphate Buffer Solüsyonu

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu

PK: Pozitif kontrol

RSHM: Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi

RT-PCR: Reverse Transcriptase-PCR

SaV: Sapovirus

qPCR: Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu

ORF: Open reading frame

USD: Amerikan Doları

VLP: Ana virus partikülleri

μ l: Mikrolitre

x g: Santrifüj alanı

T.C.
MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Yüksek Lisans Tezi

***Evde Beslenen Diyareli Köpeklerin Dışkılarında Norovirus Genogruplarının
(GI, GII ve GIV) Araştırılması***

“Sevinç SÖKEL”

Viroloji Anabilim Dalı

Tez danışmanı

“Prof.Dr. Mehmet KALE”

BURDUR – 2017

ÖZET

Bu çalışmada Burdur ilinde evde beslenen diyare semptomu gösteren farklı ırk, cinsiyet ve yaştaki 128 adet köpeğin dışkısında insan NoV GI, GII ve GIV varlığı Real-Time PCR metodu ile araştırıldı. Araştırmada, 128 adet köpek gaita örneğinin 5 (%3.91) adedinde sadece insan NoV GII bulundu. Çalışmada, insan NoV varlığı en fazla Melez ırkı, dişi ve 24 ay ve üzeri köpeklerde belirlendi. İnsan NoV GII tespit edilmiş köpeklerin pet dükkanından, sokak köpeği ve sahipli köpek yavrusu olarak elde edinildiği belirlendi. Köpeklerin barınma koşulları orta düzeyde olduğu gözlemlendi. Ev yemeği artıkları ve hazır kuru mama ile beslendikleri tespit edildi. Çoğunluğunun tam aşılı olduğu ve gezinti alanlarının bulunduğu görüldü. Enfekte tespit edilmiş hayvanlara bakan sahiplerinin genel olarak köpeklerle olan bakım öncesi ve sonrası el yıkama ve kıyafet değiştirme alışkanlıklarının olmadığı görüldü. Ülkemizde ilk olması özelliği taşıyan bu çalışma ışığında; köpeklerin barınma koşullarının, besin öğelerinin, yaşam alanlarının, çevre ile olan ilişkilerinde temizlik ve hijyen koşullarına azami ölçüde dikkat edilmesi gerekmektedir. Köpek sahiplerinin kişisel hijyenleri, köpekle temaslarda kıyafet değiştirme zorunluluğu, köpek için hazırlanan ortam, bakım ve besleme de gösterilecek hassasiyet, güçlü ve etkili dezenfektanların kullanımı, tuvalet ve kanalizasyondan köpeklerin uzak tutulması ve köpeklere yemek artıklarının verilmemesini tavsiye etmekteyiz. Çalışmada insan NoV GII tespit edilmiş köpeklerde, köpek sahiplerinin orta yaşlı ve yaşlı sınıfında yer aldığı ve çoğunluğunun erkek olduğu, bu evlerde hiç çocuk bulunmadığı belirlendi. Bu köpekler sahipleri tarafından evlat kabul edildiğinden, çok yakın temas kurulması sonucu da köpeklerde görülmeyen NoV GII'nin insanlardan köpeklere bulaşmış olabileceğini tahmin ediyoruz.

Anahtar kelimeler: Gaita, İnsan, Köpek, Norovirus, Real-Time PCR.

**Mehmet Akif Ersoy University
Institute of Health Science
Master of Science Thesis**

**Investigation of Norovirus Genogroups (GI, GII & GIV) in Stool of Pet Dogs with
Diarrhea**

Name and Surname:

Sevinç SÖKEL

Department of Virology

Supervisor:

Prof. Dr. Mehmet KALE

BURDUR – 2017

ABSTRACT

In this study, we searched the existence of human NoV GI, GII and GIV in the stool of 128 pet dogs in Burdur Province with diarrhoea in various sex, age and breed by using Real-Time PCR method. In the study, human NoV GII was found in only 5 of the 128 dog stool samples (3.91%). It was discovered in the study that human NoV existed most in crossbreed, female and aged 24 months or over dogs. It was determined that these dogs found with human NoV GII were either bought from pet shops or stray dogs or taken as puppy of another pet dog. It was seen that sheltering conditions of these dogs were moderate. It was determined that they were fed with home food residue and dry food. It was also found that most of them were vaccinated and had certain walking sites. It was found that the owners of the animals detected with infection generally did not have the habit of washing their hands or changing their clothes before or after caring their pets. As a conclusion, in the light of this study which is the first study in the country; sheltering conditions, food, habitats, hygiene are of crucial importance for dogs. We strongly advice that dog owners' personal hygiene, the necessity of changing their clothes during their contact with animals, the environment provided for the dog, the sensitivity in caring and feeding, use of strong and effective disinfectant, avoidance dogs from toilets and sewages are crucial issues in dogs care. We also advice that dogs not be fed with food residues. In the study, it was determined that the owners of the dogs with NoV GII are middle aged or elderly people most of whom are male, and that there were no children in their houses. As these dogs are treated like the owner's child, it is assumed that they could be transmitted with NoV GII as a result of close interaction with their owner.

Key words: Stool, Human, Dog, Norovirus, Real-Time PCR.

1. GİRİŞ

Bulantı, kusma ve ishalin görüldüğü akut gastroenteritler (AGE) tüm Dünya’da ve tüm yaş gruplarında görülmektedir. Bakteri, parazit, mantar ve viruslar başlıca AGE etkenleridir. Bu patojenler genellikle gıdaların ve suların kanalizasyon ile kirlenmesi ile bulaşmaktadır. Suların ve yüzeylerin kontaminasyonu ile insanları enfekte eden enterik viruslar gastroenteritlere neden olmaktadır. Fekal-oral yolla bulaşan, çevresel etkilere dirençli ve zarsız virus aileleri olan *Caliciviridae*, *Adenoviridae*, *Herpesviridae*, *Picornaviridae* ve *Reoviridae* salgınlara neden olmaktadır ve zoonotik patojendirler. Calicivirus ailesinden Norovirus (NoV) ve Sapovirus tüm yaş gruplarında gıda kaynaklı salgınlara ve AGE’lere neden olan en önemli viruslardır (134).

İlk defa “*hyperemesis hiemis* veya *winter vomiting disease*” olarak bebeklerde NoV bağlı AGE tanımını 1929 yılında pediyatrist Dr. John Zahorsky tarafından yapılmıştır (77, 145). Ancak, 1972 yılında tanımlanmasına rağmen, ilk NoV bağlı salgın 1968 yılında Norwalk (Ohio-ABD) bölgesinde ortaya çıkmıştır ve *Norwalk Like Virus* olarak isimlendirilmiştir. 1998 yılında Uluslararası Virus Taksonomi Komitesi (ICTV) *Caliciviridae* familyasında bulunan beş genustan biri olarak *Norwalk-Like Virus* genusu sınıflandırılmıştır (85).

Çok bulaşıcı olan NoV insanda insana, kontamine gıda ve/veya su ve kontamine yüzeylere temas ile bulaşmaktadır. Özellikle karın ağrısı, bulantı-kusma ve diyare belirtileri çocuk ve yaşlıları etkilemektedir (30). Centre for Disease Control and Prevention (CDC) verilerine göre, çoğunluğu çocuk ve yaşlılarda görülmek üzere, her yıl 19-21 milyon NoV nedenli AGE vakası görülmekte, bunların 56.000-71.000 kişi hastanede yatarak tedavi görmekte ve 570-800 ölüm vakası gerçekleşmektedir (31). Salgınlarda görülen semptomlar kısa sürede kendi kendini sınırlamakta ve 2-3 gün içinde geçmektedir. Bununla birlikte, immun yetmezliği bulunan hastalarda ise NoV bağlı AGE’ler uzun sürmekte ve tedavisi zor olmaktadır (57).

NoV’ların tüm Dünya’da görülen AGE salgınlığının yaklaşık %50’sinden sorumlu olduğu bildirilmiştir. NoV, influenza virus benzeri olarak 2-3 yılda bir yeni suşlar ile salgınlara neden olmaktadır (153). Kontamine gıda ve sulardan kaynaklanan salgınlığın kontrol edilmesi, bulaşma yollarının saptanması, etkenlerin

belirlenmesi için salgın takiplerinin yapılması gerekmektedir. Ulusal salgın sörveyansı bu nedenle önem arz etmektedir. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde FoodNet, Avrupa'da PulseNet gibi sörveyans programları bulunmaktadır (49). Türkiye'de de gıda ve su kaynaklı salgınların takibinin yapıldığı sörveyans sistemi Erken Uyarı ve Yanıt Sistemi (EUYS) kullanılmaktadır. Günlük verilerin girildiği sistemde salgınlara erken müdahale amaçlanmaktadır.

He ve ark. (63) 2014-15 epidemik sezonu boyunca Çin'in Güney Batı bölgesinde rhesus maymunlarında GII.17 NoV'nun doğal enfeksiyon oluşturduğunu ve insan GII.17 NoV'nun HBGA bağlanma bölgesine yakınındaki mutasyonlar sonucu maymunlara adapte olabileceğini ve yeni bir konakçının olduğunu bildirmişlerdir (116). NoV filoetik araştırma sonuçlarına göre Almanya'da 2016 kış döneminde görülen AGE vakalarında tespit edilen Avrupa ülkelerinde yeni dominant NoV epidemik suşu GII.P16-GII.2 olarak belirlenmiştir.

İnsanlarda AGE oluşturan NoV'lar birçok hayvan türünde de benzer hastalık oluştururlar. Özellikle buzağılarda ishallere neden olan NoV'lar morbidite ve mortalite nedeni ile ekonomik kayıplara neden olmaktadır (42).

Salgınlara neden olan NoV'ların gıdaların yetiştirilmesi, üretimi, hazırlanması sırasında veya içme sularının NoV ile enfekte insan ve/veya hayvansal atıklar kontamine olması sonucu NoV'a bağlı gelişen hastalıklar insan ve hayvan sağlığı açısından problem oluşturabilmektedir. Tüm Dünya'da bütün yaş gruplarında görülen AGE salgınları önemli bir halk sağlığı sorunudur. Veteriner hekimlikte hayvanlarda (sığıır, domuz, köpek, kedi v.b.) hastalıklara neden olması ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Son yıllarda Virus'un direk veya indirek geçişini destekleyen çalışmalar hastalığın zoonotik potansiyelini ortaya koymuştur.

Bu çalışmamızda önemli bir halk sağlığı problemi oluşturan NoV enfeksiyonunun, ishal semptomu gösteren evde beslenen sahipli köpeklerde varlığının araştırılması, genotipinin belirlenmesi, beslenme ve yaşam koşullarının incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Viruslar ışık mikroskopunda görülemeyen, bakterilerin geçemediği filtrelerden geçebilen zorunlu hücre içi parazitlerdir. Doğada bulunan bütün canlı hücreler (insan, hayvan ve bitki) viruslarla enfekte olabilmektedirler. Bu nedenle, viral hastalıklar sadece insan hekimliği yönünden değil, veteriner hekimliği, ziraat ve ekonomi yönünden de önem arz etmektedir (164).

2.1. Virus Yapısı

Viruslar hücre içinde replikasyon (nükleik asidin kopyalanması) ile çoğalmaktadırlar. Tek tip nükleik asit taşıyan virusların genomlarının bir hücreden diğer hücreye taşınması için çevresel faktörlerden korunması gerekmektedir. Nükleik asidi koruyan protein kılıfa kapsid denilmektedir. Bazı viruslarda kapsidi çevreleyen zarf veya zar adı verilen membran yapılar bulunmaktadır (164).

Viruslar temel olarak nükleik asit (DNA virus ve RNA virus), kapsid simetrisi (ikosahedral, helikal ve kompleks) ve lipid zarf bulunmasına (zarflı ve zarfsız) göre sınıflandırılmaktadırlar (152).

2.1.1. Virus Konak Etkileşimi ve Patogenez

Viruslar yaşam siklusları ve yeni nesilleri için hücresel enerji, metabolizma ve mekanizmaları kullanmaları gerekmektedir. Virusların hücre içinde çoğalmaları çeşitli basamaklardan oluşmaktadır. Hücre içine giriş, çoğalma ve hücre dışına çıkış ana basamaklarından oluşmaktadır (122, 152, 164). Virusun enfekte ettiği hücrelerde oluşan yeni sistem hem hücre, hem de virus için gerekli maddeleri sentezler ve mekanizmalar oluşturur. Bu mekanizmaların ana hatları şu şekildedir:

1. Viruslar hücre içine girebilmesi için öncelikle hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanır,
2. Hücre içine girebilmek için virus özelliklerine göre; hücre membranı ile füzyon, internalizasyon ve membrana penetrasyon,
3. Virus genomunun ortaya çıkması için kapsidin soyulması,
4. Viral genomun replikasyonu (DNA virusları nükleus, RNA virusları sitoplazma) ve yeni nesil virusların çoğalması,
5. Hücre içinden çıkış olarak izah edilmektedir (152, 164).

Hücre içine giren virusun hastalık oluşturması patogenezi bulunmaktadır. Virusun tropizm gösterdiği hücrelerde hastalık belirtileri patojenitedir ve virusun virulansı ile konağın immun yanıtı bunda önemli rol oynamaktadır (164). Virus partikülleri konağa damlacık, fekal-oral, temas ve vektör aracılığı ile girmektedirler. Giriş yoluna göre de enfeksiyon oluşturmaktadırlar. Hangi hücrelerin enfekte edileceği hücre yüzeyinin yapısı ve virusların bu yapılara affinitesi ile belirlenmektedir. Hücre yüzeyinde bulunan glikosfingolipid yapılar virusların bağlanması için ortak yapılardır. Virusun glikosfingolipid ile birleşimi antiviral etki için hedef oluşturmaktadır (152).

Viruslar konakta üç temel yolla enfeksiyon oluşturmaktadır. Bunlar, girdiği yerdeki hücreleri etkileyerek lokal, lenf nodüllerinin yardımı ve kan yolu ile yayılıp (viremi) dissemine (sistemik) ve asemptomatik enfeksiyonlar olarak sınıflandırılmaktadır (180). Konağa giren virus, giriş yerine göre oluşan bariyerleri (fiziksel, immun yanıt gibi) aştıktan sonra hücre içinde çoğalarak hedef doku/organda hasar oluşturması ile hastalık meydana getirmektedir.

2.1.2. Viral Gastroenteritler

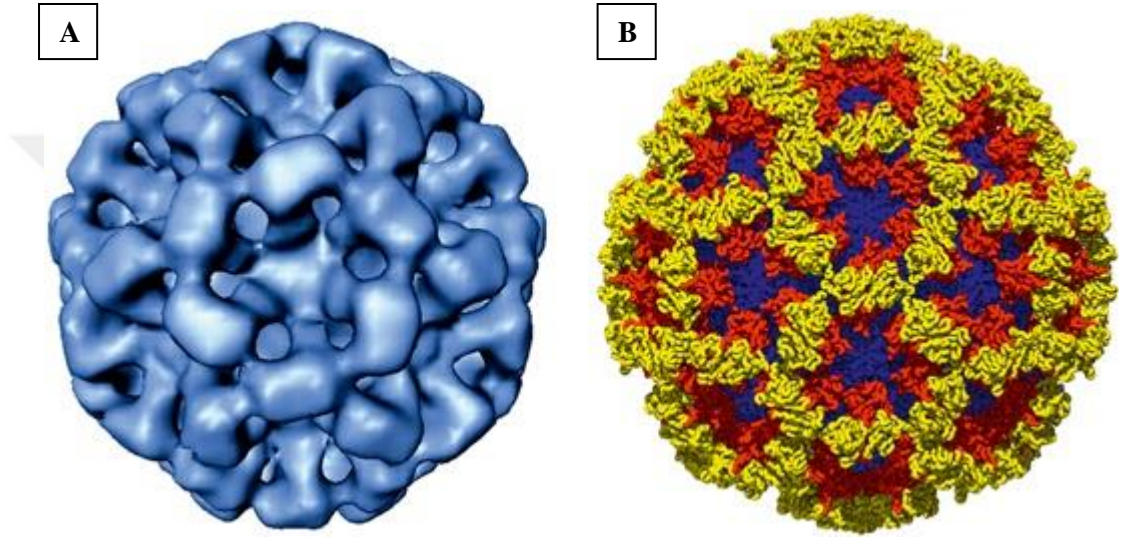
İnsanlarda AGE Dünya’da en sık görülen hastalıktır. Gelişmiş ülkelerde hastaneye yatışlara neden olmakta ve gelişmekte olan ülkelerde ise mortalitesi yüksek seyretmektedir. Özellikle çocuklarda viruslar AGE’in önemli etkenidir. Astrovirus, Calicivirus ve Enterik Adenovirus gastroenteritlere neden olan önemli viral etkenlerdendir (176).

2009 yılında Türkiye’nin 11 ilinden Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi (RSHM) Viroloji Merkez Laboratuvarına AGE nedeni ile gelen dışkı örneklerinin %44.2’sinde bir viral etken ve %6.8’inde birden fazla viral etken tespit edildiği rapor edilmiştir. Bu rapora göre, NoV (%57 GII ve %18 GI), Rotavirus (%16), Astrovirus (%5), Adenovirus (%4) ve koenfeksiyon (%15.4) tespit edilmiştir (1).

Sözen ve ark. (144) salgından etkilenen kişilerin tedavisi ve salgın kontrolü için kaynak ve etkenin tespitinin önemli olduğunu belirtmişlerdir. Ateşin eşlik etmediği bulantı, kusma ve karın ağrısının birlikte olduğu AGE salgınlarında dışkı incelemesinde lökosit ve eritrosit görülüyorsa, viral etkenin düşünülmesi gerektiği ve buna yönelik incelemeler yapılması gerektiği rapor edilmiştir (144).

2.2. Caliciviridae Ailesi

Caliciviridae ailesinde yer alan viruslar zarsız, ikosahedral simetrlili ve pozitif ssRNA yapısına sahiptirler. Virion, negatif Elektron mikroskop (EM)'unda 27-40 nanometre (nm) ve kriyoEM'unda 35-40 nm çapında görülmektedir. Virion, yaklaşık 15×10^6 boyutundadır. Virus'un kapsid yapısı beş katlı ve üçlü eksenli ikosahedral simetrisi ve 32 kupa şeklinde çöküntülerle karakteristik yapısını oluşturmaktadır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Calicivirus kapsid yapısı

A: Norwalk virus-likesi partikül kriyo-imaj görünümü. B: Norwalk virus kapsidi X-ray yapısı. Kabuk (mavi), P1 (kırmızı) ve P2 (sarı) (68).

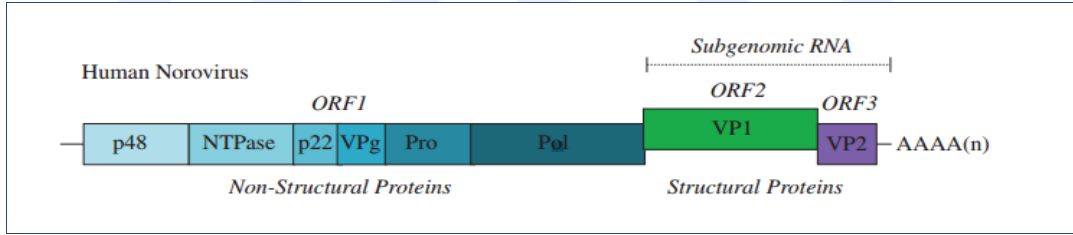
Tablo 2.1. Calicivirus güncel taksonomi tablosu (2015) (67)

Aile	Caliciviridae
Cins	Lagovirus
Tür	European Brown Hare Syndrome Virus
Tür	Rabbit Hemorrhagic Disease Virus
Cins	Nebovirus
Tür	Newbury-1 Virus
Cins	Norovirus
Tür	Norwalk Virus
Cins	Sapovirus
Tür	Sapporo Virus
Cins	Vesivirus
Tür	Feline Calicivirus
Tür	Vesicular Exanthema of Swine Virus

2.3. NoV Enfeksiyonları

2.3.1. NoV Yapısı

NoV genomu 7.5-8.5 kb, tek zincirli pozitif (+) polariteli RNA içeren open reading frame (ORF) bulundurmaktadır (73). ORF1, yapısal olmayan proteinleri kodlamakta ve RNA'ya bağımlı RNA polimeraz enzimlerinden köken alanlarda dâhil, 6 protein içindeki 3C-benzeri viral proteaz aracılığıyla ayrışmaktadır (6, 12) (Şekil 2.3). ORF2 büyük (VP1) ve ORF3 küçük (VP2) kapsit proteinleri kodlamaktadır (126) (Şekil 2.3). VP1 proteini iki alandan oluşmaktadır. Bunlar P (çıkıntılı, P1 ve P2) ve S (kabuk)'tur (Şekil 2.1). ORF4 günümüzde identifiye edilmiş proteindir ve virulens faktör olarak immün evazyona yardımı olduğu düşünülmektedir. Hücreler arası ilişkilerin ve immün tanıma özelliklerin birçoğu P2 üst bölgesinde yer almaktadır (128). Kapsit proteinin yalnızca Virus'un kabuk yapısını oluşturmadığını hücresel bağlanma bölgelerini ve viral fenotip veya serotip determinantlarını da oluşturduğuna inanılmaktadır. Virus yapısında bulunan VP1 ve VP2'nin beraber hareket ettiği belirtilmiştir (13).



Şekil 2.3. NoV genomunun şematik yapısı, genom yapısında ORF'lerin varyantları (78).

Ando ve ark. (3) 38 tam kapsid (ORF2) sekanslarının filogenetik analizlerini içeren bir protokol ileri sürmüşlerdir. Bu araştırmacılar, polimeraz genin 3' ucunda korunmuş bir bölgeden spesifik primerler bularak PCR sekanslama ürünleri geliştirmişlerdir. Bu ürün/ürünler genotiplendirme için kullanılmıştır (3).

Katayama ve ark. (80) 18 adet Norwalk benzeri virus tam genom analizi sonrasında kapsit geninin N-terminal kabuk bölgesinde bulunan kısa bir segment sekanslaması ile NoV ayrımı ve toplanmasını gerçekleştirebilmiştir. Bu sayede genotiplendirme için spesifik primerler geliştirmişlerdir (80).

Vinje ve ark. (169) 100 adet NoV VP1 (ORF2) sekans analizi ile VP1'in 3' ucunda kısa bir segment belirleyerek buradan NoV genotip ve genogruplarında ayırım yapılabileceğini rapor etmişlerdir (169).

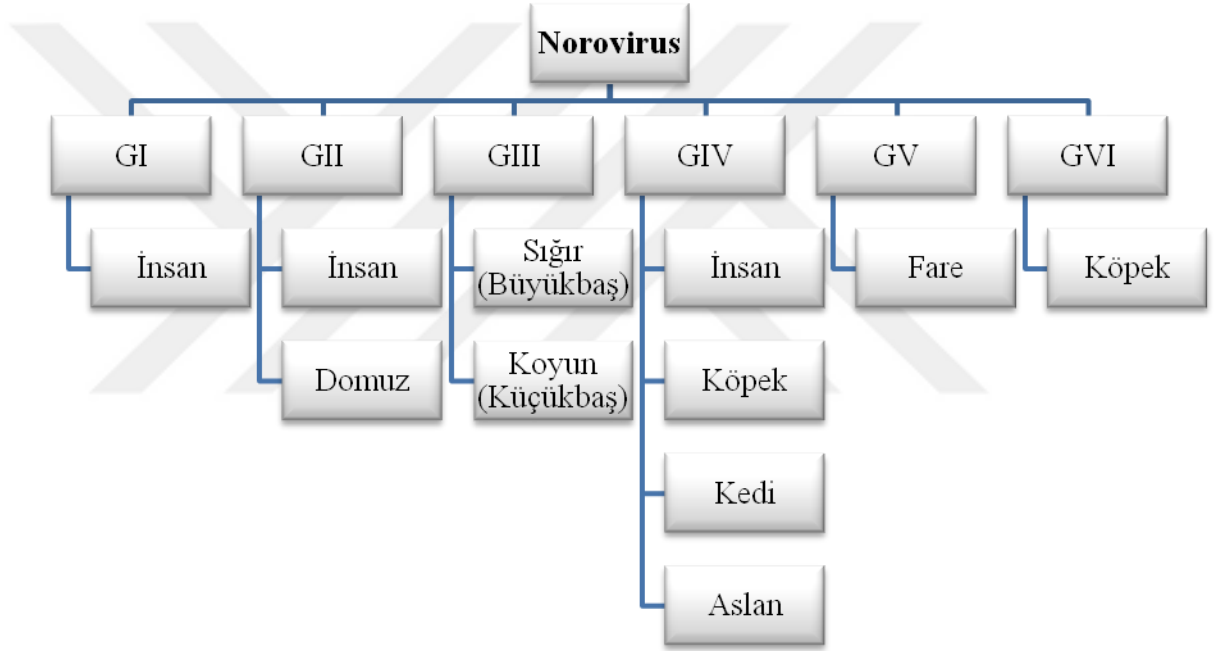
P domainleri P1 ve P2 subdomainlere ayrılmaktadır. P2 domaini insan histokan grup antijen reseptörleri (HBGAs) ile bağlantılı konaklar arası ilişkilidir. Kan grubu O olan bireyler hastalığa daha kolay yakalanmaktadır. NoV P partikülleri 20 nm çapında, yaklaşık 840 kilodalton (kDa) moleküler ağırlığında ve 24 monomer veya 12P dimeri içeren oktahedral nanopartiküllerdir (151). Küçük P partiküllerinin antijenik özellikleri ana virus partikülleri (VLP)'ne benzemektedir (150). NoV P domaini tek sekansa sahiptir. Diğer proteinlerle homolog değildir. Bu yüzden, NoV'una karşı aşı üretimi yapılması uygundur (151). Multiple salgınlarda ortak kaynak belirlenmesi için P2 domain geninin analiz edilmesi önem arz etmektedir (181). RNA'ya bağlı RNA polimeraz enzimi RNA'nın sentezi ve replikasyonunda önemli rol oynamaktadır. Bu yapı, homodimerdeki aktif formu açıklamaktadır (65). Bu bulgular, NoV enfeksiyonunun tedavisinde polimeraz inhibitör geliştirilmesine yol açmıştır.

2.3.2. NoV Sınıflandırması

NoV suşlarının tiplendirilmesinde 1970 ve 80'li yıllarda yalnızca immünolojik metotlar ve elektron mikroskopi yöntemleri kullanılmaktaydı (28). Bu metotların güvenilir, tekrarlanabilir özelliğe sahip oldukları ve asla NoV suşlarının antijenik sınıflandırılması için tam güven sağlamadığı belirtilmiştir. 1990'lı yıllarda NoV kapsit amplifikasyonu, sekansı ve çoğaltılması için uygun moleküler teknikler ile NoV karakterizasyonu belirlemek için gerekli olan aletler sağlanmıştır (73).

NoV'un serotiplendirilmesinde henüz virus nötralizasyon testinin uygun olmadığı ve insan NoV çoğaltımı için hücre kültür sistemlerinin kurulmadığı vurgulanmıştır (47). 1990'lı yıllarda birkaç araştırma grubu polimeraz gen'den kısa PCR ürünlerinin *nt* sekanslaması temelinde NoV klasifikasyon girişiminde bulunmuşlardır. Ancak, NoV genomunun tam filogenetik analizi sonucu sonrasında polimeraz geninin genotiplendirme için uygun olmadığı belirtilmiştir (80). Fakat rekombinant suşların identifikasyonunda yararlı olduğu ifade edilmiştir (20).

2006 yılına kadar farklı coğrafik bölgelerde NoV suşlarının sekanslanması ile ilgili araştırmalar devam etmiştir. Zheng ve ark. (183) Virus'un sınıflandırılmasındaki kafa karışıklığını ortadan kaldırmak ve net ifadeler kullanılması için NoV suşlarını genetik yönden standardize etmişlerdir. Çalışmaya 164 tam kapsit sekansı dahil edilmiş ve NoV suşları 3 grupta sınıflandırılmıştır. Bu gruplar suş, genotip ve genogruplardan oluşmuştur. 5 genogrupta 29 genotip belirlenmiştir. Bunların GI'de 8, GII'de 17, GIII'te 2, GIV ve GV'nin herbirinde 1 adet olduğu belirlenmiştir (183)(Şekil 2.4).



Şekil 2.4. NoV sınıflandırmasının şeması (24, 78).

2.3.3. NoV Genom Replikasyonu

NoV'un hücreye girişi ve replikasyon stratejisi tam olarak anlaşılamadığı gibi, hücre kültüründe üretimi yapılamamıştır. Ancak, şu an için murine NoV'un çoğaltılması gerçekleştirilebilmiştir. Bu uygulama, murine NoV-1 ile primer dendritik hücreler ve makrofoljarda başarılı olmuştur (179). Ayrıca, insan NoV genotip GII.3, T7 vaccinia virus ekspirasyon sisteminin kullanıldığı insan embriyonik hücrelerde klonlanmış ve çoğaltılmıştır (79). Pozitif polarite zincirli

virus gRNA, bir mRNA olarak görev yapmaktadır. NS1'den NS7'ye kadar üretilmiş yapısal proteinlerden tek bir polipeptit içinde konak hücrede transle edilmektedirler. Viral polipeptit viral proteaz NS6 tarafından ayrıştırılmaktadır. Viral proteinlerin translasyonu ve proteolitik salınımı sonrası pozitif zincir genom fonksiyonu gerçekleşmektedir. Replikasyon viral RNA'ya bağlı RNA polimeraz enzimi (NS7) ile oluşmaktadır.

Negatif zincirli RNA transkriptleri daha uzun genomik RNA (gRNA)'ların sentezi için kullanılmaktadır. Pozitif zincirli subgenomik RNA, ORF2 ve ORF3 içermektedir. VP1 ve VP2 yapısal proteinlerin üretiminde rol oynamaktadırlar (5). Replikasyonun sonuna doğru subgenomik RNA virionlar içine paketlenmektedirler. Ancak, bu virionların enfekte hücrelerden nasıl salındığına dair bir bilgi bulunmamaktadır.

2.3.4. Patogenez

NoV'lar insanlara oral yolla bulaşmaktadır. Bu viruslar aside dirençli olduklarından mideyi direkt geçmekte ve ince barsaklarda çoğalmaktadırlar. İnce barsak mukozalarında hastalık semptomlarına bağlı şekillenen lezyonlar ışık ve EM'unda incelenmiştir. Mukoza hatları yangılaşmış ve anormal görünüme sahip absorbe olmuş epitel hücreler gelişmiştir. Villilerin yumuşaması, mikrovillilerin kısalması, endoplazmik retikulumda dilatasyon, mitokondri şişkinliği ve intrasellüler ödemler mikroskobik düzeyde görülmüştür. 2 hafta içerisinde ince barsaklar normal histolojik görünümüne dönmektedirler (81).

Virus, enterosit sitoplazma içerisinde replike olur ve pozitif zincirli RNA mRNA gibi görev yapmaktadır. NoV'un konakçılarda kronik enfeksiyonlara neden olduğuna dair çok az bilgi bulunmaktadır. Ancak, yapılan bir çalışmada immun yetmezliğe sahip çocuk ve ergin bireylerde NoV GII'nin en az 8 ay boyunca etrafa saçıldığı bildirilmiştir (94).

NoV'un yol açtığı gastroenteritisin patogenezipek bilinmemektedir. NoV ile enfekte hastaların jejenumlarında villuslarda kısalma, epitel hücrelerinde bozulma ve vakuolizasyon, kript hipertrofisi ve lamina propriada mononükleer hücre infiltrasyonu görülmüştür. Mukozadabozulma geçici olarak kenar enzimlerinin

üretim azaltabilmektedir. Ancak, konvelasan dönemde normal yapım miktarına ulaşmaktadır (16).

NoV diyareleri farklı nedenlere bağlı olarak şekillenmektedir. Bunlardan; sekretorik diyare, lümen içerisine anyon girişi ile oluşmaktadır. Osmatik diyare, disakaritler gibi aktif ajanların sindiriminde hücreler arası meydana gelen bozulmalar sonucu oluşmaktadır (8). İyonların değişimleri yan boşluklardan transfer olmaktadır (64). İyon ve su dengesinin değişiminden viral 3 C benzeri proteaz enzimi sorumlu tutulmaktadır.

NoV'ların ince barsakların üst bölümündeki hücreleri enfekte ettiğine son dönemdeki çalışmalarda inanılmaktadır. Ancak, hedef hücre tam belirlenmemiştir. İnsan GI NoV'ların dendritik hücrelerde çoğaldığı bulunmuştur (14). Marionneau ve ark. (99) tarafından virus benzeri partiküllerin ve ince barsak dokularında yapmış oldukları çalışmalarda, NoV'un en çok barsak villi, en az kriptlerdeki hücrelere bağlandığı gösterilmiştir (99). Troeger ve ark. (159) NoV olgularında anyon, sekresyonu ve CD8+ lenfosit infiltrasyonunun arttığını belirlemişlerdir (159). NoV enfeksiyonunda kusma merkezinin uyarıldığı (60), HCL, pepsin ve intrinsik faktörlerin değişmediği (108) ve gastroenteritisli hastaların %15'inde NoV tespit edildiği belirlenmiştir (148).

Bir grup araştırmacı (14) 6 adet şempanzeyi Norwalk GI NoV ile enfekte ettikten sonra, 2 haftadan daha uzun süre virus saçılım görüldüğünü ve antikör cevabı oluştuğunu belirlemişlerdir. Şempanzelerde yapılan biyopsilerde jejunum ve duodenumdaki hücrelerde viral RNA varlığı bulunmuştur. Şempanzelerde 2-24 ay içinde aynı virus'a karşı direnç geliştiği tespit edilmiştir.

Radford ve ark. (129) hayvan NoV ile ilgili çalışmaların NoV'un insanlardaki patogenezinin daha iyi anlaşılmasını sağlanacağını bildirmişlerdir.

2.3.5. İnsan NoV

NoV'lar, akut bakteriyel olmayan insan gastroenteritlerin ana nedeni olarak görülmektedir. Gıdalardan ve insandan insana bulaşma, fekal oral yolla sağlanmaktadır. Virus, tüm Dünya'da çocuk ve yetişkin bireyleri etkilemektedir (86). Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda yoğun kusma olgularında hava yolu ile bulaşma sağlandığı indirekt kanıt olarak ortaya konmuştur (27). Yer altı su kaynakları da virus

ile kontamine olduğunda bulaşma görülebilmektedir (91). Havuz ve yer altı sularının kontamine olması durumunda bulaşma riski yüksektir. Bir diğer bulaşma yolu ise kontamine sulardan yapılan buzların meyve suyu gibi içecekleri soğutmak amacı ile kullanılmasıdır. Oldukça bulaşıcı olan bu virus ya sporadik olgular şeklinde ya da büyük akut salgınlar halinde hastane, koğuş, okul, üniversite, kamp alanları, otel, restoran ve tatil bölgelerinde görülebilmektedir (51). Gıda kontrollerinin bakteriyel yönden yapıldığı işletmelerde virus kontaminasyonunun görülmediği rapor edilmiştir (62). Virus'un hastanelerden identifikasyonunun oldukça zor olduğu bildirilmiştir (51). Kontamine sularda yaşayan su canlılarının çiğ etlerinin (midye, istiridye vb.) tüketilmesi de en büyük bulaşma yolu olarak görülmektedir (62).

Norwalk virus (NoV cinsi) partiküllerinin üretiminde cesium kloritte 1.33-1.41 g/cm³ buyyon dansitesinin olması gerektiği rapor edilmiştir. Norwalk virus ile enfekte insanlarda yapılan çalışmalarda, Virus'un oda sıcaklığında 3 saat pH 2.7'de idrar filtrelerinde, %20'lik eterde 4°C'de 18 saat ve 60°C'de 30 dakika canlı kaldığı belirlenmiştir. Norwalk virus'un 3.75-6.25 mg/L klor uygulamalarına dirençli olduğu, ancak 10 mg/L klor uygulamalarının yapıldığı içme sularında inaktive olduğu tespit edilmiştir (75).

NoV ile enfekte insanların dışkılarında virus'un yaklaşık 10⁸-10¹⁰ RNA kopyası/gr düzeyinde bulunduğu bildirilmiştir (92). Teorik olarak, virus ile enfekte bir insanın 1 gr dışkısı ile 5 milyon kadar insanın enfekte olabileceği tahmin edilmektedir. Hastalık esnasında görülen kusma olgularında 3x10⁵-3x10⁶ kişinin enfekte olabileceği hesaplanmıştır. Kusma yerinin insanlara olan mesafesi de hastalık bulaşmasında potansiyel risk arz etmektedir (100).

Hasta insanların klinik semptomlarından kurtulmaları sonrası bile 3 veya 4 hafta süreyle virus saçılımı devam edebilmektedir. Ancak, küçük çocuklarda bu durum daha uzun seyredebilmektedir (133). Küçük çocukların temizliğinde hijyene dikkat edilmemesi durumunda anne-babalar risk altındadırlar. Hastanede yapılan bir çalışmada tüm yaş grupları içerisinde diyare olgularının uzun sürdüğü ve semptomların ağır seyrettiği yaşlı hastaların dışkılarında Virus'un yüksek konsantrasyonda bulunduğu tespit edilmiştir (92). Aynı şekilde, immun yetmezliğe sahip hastalarda virus saçılımının daha uzun süre devam ettiği bildirilmiştir (117, 140). NoV, immun yetmezliği ve persistent diyaresi olan hastalarda primer etken

olarak bildirilmiştir. Bu hastalar üzerinde yapılan tedavi çalışmaları ve NoV biyolojisinin incelenmesinin doğru sonuçlar verebileceği rapor edilmiştir (57).

Virus'un kişiden kişiye çevre, gıda, su ve zoonotik bulaşma şeklinde gerçekleşmektedir (139).

2.3.6. Canini NoV

NoV'un altı genogrubu bulunmaktadır, bunlar içinde canine NoV'ların alt tipleri G IV ve G VI olmaktadır (Şekil 2.4).

İshalli yavru köpeklerde G IV NoV ile genetik benzerlik gösteren canine NoV 2006 yılında İtalya'dan (Pistoia) rapor edilmiştir. Canine NoV prototipi olan Bari/170/07/ITA, Pistoia/387/06/ITA aslan NoV'unun nükleik asiti ile %96.7 ve kapsid proteinlerinin amino asitleri ile %90.1 oranında benzer bulunmuştur (104, 105).

Martella ve ark. (103) 183 ishalli köpek dışkısında NoV prevalansını %2.2 (4/183) olarak belirlemişlerdir. Kapsid geni (ORF2) G IV NoV ile %54.0-54.4 arasında amino asit benzerliği göstermektedir. Japonya'da NoV Bari/91/07/ITA suşunun deniz kabuklularında bulunan Chiba/040502/04/Jp suşu ile nükleotid benzerliğinin %88.9 ve amino asit benzerliğinin %98.9 olması nedeniyle bulaşmanın su, deniz gibi çevre kirlenmesi sonucu meydana geldiğini tahmin edilmiştir. (103).

Caddy ve ark. (24) İngiltere köpek popülasyonunda canine NoV araştırma çalışmasında, köpek dışkılarında kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (qPCR) ile virus RNA'sı tespit edilmediğini ancak serolojik olarak anti-canine NoV antikorları tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Yaptıkları çalışmada yıllar içinde seropozitifliği %38.1 (1999-2001) ve %60.1 (2012-2013) olarak bulmuşlar ve bu artışın anlamlı olduğunu ($p<0.001$) ifade etmişlerdir (24).

Pinto ve ark. (127) ishalli ev kedilerinde NoV tespit ettiklerini ve G IV'ün hayvanlarda genel genogrup olabileceğini bildirmişlerdir (127).

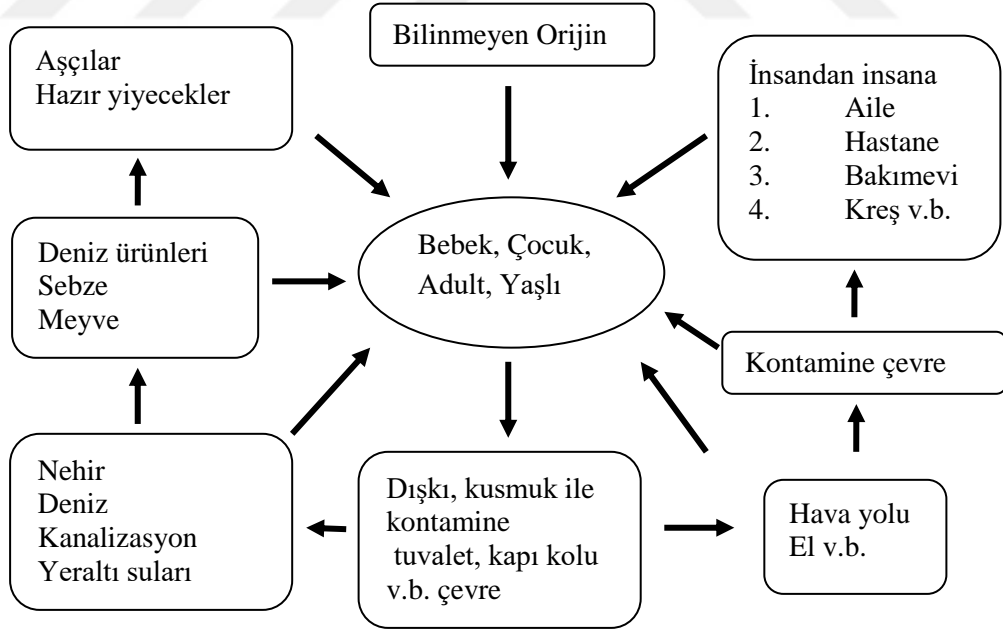
Deneysel çalışmalarda gnotobiyotik hayvanlarda canine NoV enfeksiyonu gösterilememiştir. Yapılan çalışmalarda canine NoV ile canine parvovirus ve canine coronavirus enfeksiyonlarının biri veya ikisi ile beraber olarak görülebileceği bildirilmiştir. Köpeklerin son yıllarda bir aile ferdi gibi insanlarla bir arada yaşaması (İngiltere de evde yaşayan köpek oranı %31) ve Virus'un hücre içine girişinde canine

NoV 'un insan NoV ile aynı reseptörleri kullandığını belirleyen çalışmaların bulunmasına bağlı olarak canine NoV'un zoonotik hastalık etkeni potansiyelini ortaya koymaktadır (25, 145). Zoonotik enfeksiyon potansiyelini ortaya koyan diğer etkenler;

1. Çalışmalarda köpek populasyonunda NoV dolaşımının son yıllarda artış olması,
2. Çocuklarda görülen gastroenterit enfeksiyonlarında köpek ve kedi orijinli virusların bildirimlerinin olması,
3. Canine NoV'unun heterojen genetik yapısının olması,
4. Kontamine olan sularda üretilen deniz ürünlerinin tüketimi (Canine NoV ile genetik benzerlik göstermesi) ile insanların enfekte olması,
5. Evde köpek bulunan bebek ve küçük çocuklarda NoV'a karşı sekretuvar IgA salınımı olması,
6. Ev halkında görülen AGE sonrası ev köpeğinde insan NoV karşı serolojik olarak antikorların gösterilmesi sayılmaktadır (103, 105).

2.4. NoV Epidemiyolojisi

NoV akut gastroenteritis olguları, ülkede ve yaş insanda görülebilmektedir. Sporadik, epidemik ve pandemik olarak yayılabilmektedir (113). NoV'ların bulaşma hızı yüksektir ve salgınlarda çeşitli bulaşma türlerine rastlanmaktadır. CDC, 1996–2000 yılları arasında tüm Dünya’da gelişen 348 NoV olgularında bulaşının %39 gıda kaynaklı, %12 insandan insana ve %3’te su kaynaklı olduğunu bildirmiştir (29). Bununla birlikte, büyük salgınların ortaya çıkmasında en önemli kaynağın dışkı ile kontamine su şebekelerinin olduğu rapor edilmiştir (156). Yine, CDC raporlarına göre salgınların görüldüğü bulaşma alanlarının %36’sının lokantalar ve hazır yemek satan yerler, %29’u bakımevi ve hastane, %12 okul ve kreş, %10 seyahat gemisi ve otel ile %9’u diğer ortamlar şeklinde olduğu belirlenmiştir (124). 2009 ve 2012 yılları arasında CDC’ye bildirilen NoV salgınlarının %90’ının gıda kaynaklı ve %78’inin gıda dışı kaynaklar olduğu raporlanmıştır. Gıda dışı kaynaklar insandan insana, kontamine su ve çevre ile kaynağı bilinmeyen salgınlar olarak belirlenmiştir (165) (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. İnsan ve çevre olarak NoV bulaşma yolları (165).

Gıda kaynaklı NoV salgınlarının %64'ü restoran, %17'si ikram ve ziyafet tesisleri bulaşma alanları olarak rapor edilmiştir. Gıdadışı kaynaklı NoV salgınlarının %80'i bakım evleri, %6'sı okul ve %4'ü hastaneler bulaşma alanları olarak rapor edilmiştir (4).

Salgınların ortaya çıkışında kalabalık ve kapalı ortamlarda bulunan kontamine halı benzeri eşyaların önemli olduğu araştırmalarla belirlenmiştir (149). Cruz gemilerinde yolcu ve mürettebat sayısının fazla olması, uzun süreli ve yakın temas ile hijyen uygulamalarındaki yetersizlik salgınlara zemin hazırlamaktadır (124, 149).

2.4.1. İnsan NoV Epidemiyolojisi

NoV'lerin primer bulaşma zinciri fekal-oral yol olup, etkenler enfekte kişilerin dışkı ve kusmuklarında bulunmaktadır. Düşük enfeksiyon dozuna ve dayanıklı yapıya sahip olan bu küçük patojenler, gerek kapalı yaşam ortamlarında direkt ve indirekt temas (hastane, hapisane, yurt, seyahat gemisi, lokanta, bakımevi vb.) gerekse geniş popülasyonlu şehirlerde su kaynakları ile son derece hızlı yayılarak kısa zamanda büyük salgınlara yol açmaktadırlar (55, 130). Yiyecek ve içecekler ile hasta bireylerin elleri veya dışkı/kusmuk bulaşmış çalışma yüzeyleri virüsle kontamine olabilmektedir (136). Bir araştırmada, pediatrik yoğun bakım birimlerinin tuvaletlerinden (musluk, kapı kolu, tuvalet kapağı vs.) alınan sürüntü örneklerinden %18 oranında NoV belirlenmiş ve çok az miktardaki dışkının bile enfeksiyonlara yol açabileceği belirtilmiştir (54). AGE'li hastalarla direkt temas, hastane ortamında (muayene, bakım, hastaya ait malzemeler vb.) ve aile içi bulaşmada önemlidir.

NoV, daha az olarak kusmuğun aerosolizasyonu sonucu havadaki kontamine partiküllerle bulaşabilmektedir (32). Gıda kaynaklı enfeksiyonlar, NoV'larda en çok görülen bulaşma yollarından biridir. Bulaşma, kontamine gıda ürünlerinin tüketilmesi ile gelişmektedir. Gıdalarda kontaminasyon gelişimi ise ürünü işleyen enfekte personelin Virus'u bulaştırması ya da ürünlerin lokanta ve marketlere ulaştırılmadan önce çapraz kontaminasyonu (personel eli, ekipman ve gıdanın temas ettiği yüzeyden gıdalara) ile olmaktadır. En sık salgın nedeni olan gıdalar salatalar, taze lahana karışımı, turp salatası, salata sosu, yeşil soğan, domates, maydanoz,

marul, bulgur, tostlar, kremalar, pastalar, donmuş gıdalar, sıvı gıdalar (meyve suları), meyveler, midye ve istridye gibi kabuklu deniz hayvanları olarak listelenmiştir. Su kaynaklı NoV salgınlarda su şebeke ve tesisleri, kuyu, havuz ve benzeri yerlere kanalizasyon suyu karışması sonucu ortaya çıkmaktadır (100, 157). Ayrıca maden sularında NoV izolat analizleri (53), atık sular ve akarsularda NoV GIV tespiti yapılmıştır (87).

2004-2007 yıllarında görülen NoV enfeksiyonları incelendiğinde kış aylarında, özellikle Aralık-Mayıs aylarında pik yapmasına rağmen, yılın her döneminde şekillenebilmektedir. Bu viruslar oldukça bulaşıcı olarak bilinmektedirler (enfeksiyöz doz yaklaşık 10 ile 100 partikül arasındadır) (155).

NoV enfeksiyonlarının ilk serolojik çalışmaları 1990'lı yılların başlarında gastroenteritisli çocuklarda yapılmıştır. Hastalık prevalansı çocuklarda yüksek seyirli olup, gelişmekte olan ülkelerde gelişmiş ülkelere göre prevalans yüksek olarak belirlenmiştir (121, 126). Çocuklarda NoV enfeksiyonları genellikle Rotavirus enfeksiyonları ile beraber seyretmektedir (123). Kore'de ulusal düzeyde yapılan bir çalışmada yeraltı sularında yaz döneminde %21.5 (65/300) ve kış döneminde %17.3 (52/300) NoV pozitiflik belirlenmiştir. En yüksek hastalık insidensi 5 yaşın altındaki çocuklarda görülmüştür (93). Şu ana kadar 1995-1996, 2002, 2006 ve 2008 yıllarında geniş pandemi olguları görüldüğü rapor edilmiştir (37).

Dünya'da tüm gastroenteritis olgularının yarısından fazlasından NoV'lar sorumlu olarak tutulmaktadır. Epidemik nonbakteriyel gastroenteritis olgularının %73-95'inden NoV'lar sorumlu bulunmuşlardır. NoV enfeksiyonlarında GI, GII ve GIV suşları çoğunlukla tespit edilmiş ve 2001 yılından itibaren NoV enfeksiyonlarında GII-4 suşu görülmektedir (5).

Güney Yarımküre'de NoV'a bağlı gastroenteritis olguları genellikle bahar ve yaz aylarında (101), Kuzey Yarımküre'de ise genellikle kış ve bahar başında (94) yoğun olarak seyretmektedir. CDC'ye bildirilen NoV salgınlının Aralık-Şubat aylarında pik yaptığı rapor edilmiştir (4).

ABD'nde NoV'un 23 milyon kişiyi etkilediği, 50.000 kişinin tedavi edildiği ve 300 kişinin öldüğü bildirilmiştir (107). 2002'de İngiltere'deki NoV salgınının 184 milyon Amerikan Doları (USD) maliyete neden olduğu rapor edilmiştir (97). İnsanlarda NoV genogruplarından GI, II, IV'ün gastrointestinal enfeksiyonlara neden

olduğu ve tüm Dünya’da GII suşunun en yaygın seyirli suş olduğu bildirilmiştir (50, 141). 1990 yılının son döneminde NoV gastroenteritislerinde en yaygın GII4’ün görüldüğü belirlenmiştir (21, 173). Bu suşa “Farmington Hills Virus” adı verilmiş ve olguların %64’ünün kruz gemilerinde tespiti yapılmıştır (174). 2004 yılındaki salgınlarda yeni bir GII4 suş varyantı belirlenmiş ve bu suşa “Hunter Virus” adı verilmiştir. “Farmington Hills virus” USA, Avrupa ve Avusturalya’da, “Hunter Virus” ise Avusturalya, Yeni Zellanda, Brezilya, Kanada, Tayvan, Japonya, Hong-Kong, Madagaskar’da tespiti yapılmıştır (161).

Dünya’da ve Türkiye’de insan NoV salgınları meydana gelmiştir. 2008 yılında Adana, Aksaray, Kırşehir ve Şereflikoçhisar’da görülen salgınlarda Reverse Transcriptase-PCR (RT-PCR) ve Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ile NoV GI ve GII tespit edilmiştir. Resmi olarak Türkiye’de ilk NoV salgını 2008 yılında bildirilmiştir (2, 39, 166). Ülkemizde Bulaşıcı Hastalıklar Sürveyans ve Kontrol Esasları Yönetmeliği ile “Gıda ve Su Kaynaklı Hastalıklar ve Zoonozlar Grubu” altında bildirim zorunludur (154).

Çilek, midye, salata, sandviç ve unlu mamüllere bağlı salgınlar görülmüştür (15). Özellikle midyeler Norwalk benzeri partiküllerin kaynağı olup, midye dokularına spesifik bağlandığı tespit edilmiştir. %30’u bulan büyük salgınlarda özellikle hastane, huzurevi ve kruz gemileri gibi kapalı mekanlarda şekillendiği belirtilmiştir (5). Hastane odalarında NoV salgınlarında influenza viruslarının da izole edildiği görülmüştür (61). Özellikle GII.4 suşlarının bulunduğu bildirilmiştir (136).

2.4.2. Hayvan NoV Epidemiyolojisi

İnsanlar dışında buzağı, domuz, köpek, kedi, maymun gibi birçok hayvanda NoV enfeksiyon etkenidir. Hemen hemen bütün vakalarda diyare ile birlikte AGE durumu bulunabilmektedir. Bovine NoV ilk olarak 1984 yılında diyareli buzağılarda gösterilmiştir. Viremiye bağlı letarjik diyarede enfeksiyon sonrası 20 gün kadar dışkı ile virus atılmaktadır (78).

Laboratuvar fareleri arasında Murine NoV en yaygın etkidir. Serolojik taramalarda bu oran %22.1 olarak belirlenmiştir (66). Etçi tür buzağı çiftliklerinde dışkı örneklerinde %31.6 ve süt sığırlarının dışkı örneklerinde %4.2 (NoV GIII

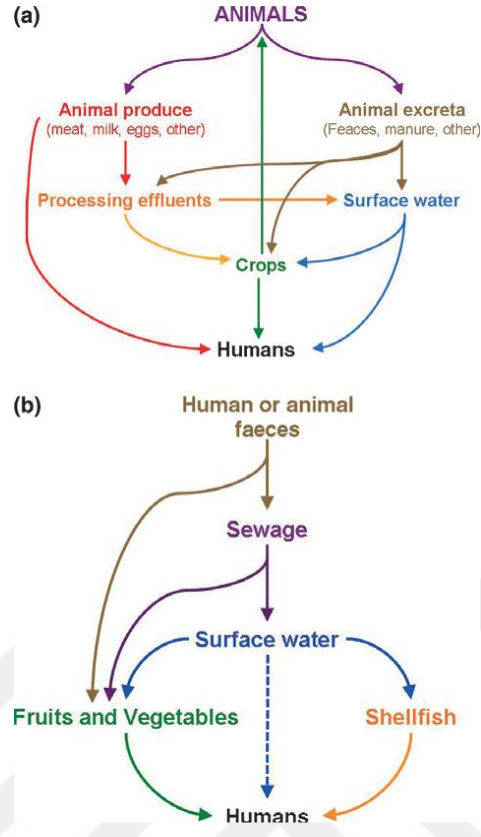
Newbury Ajan-2) pozitiflik tespit edilmiştir (167). Amerika'da Calicivirus'un buzağular arasında dağılımı %25-80 arasında olduğu görülmüştür (178). Almanya'da diyetli süt sığırlarının %9'unda Jenavirus, serum örneklerinin %99'unda aynı virus'un GIII genogrubu belirlenmiştir (41). Domuzlar arasında NoV yaygınlığı Japonya'da %0.35, Hollanda'da %2, Amerika'da %97, Japonya'da %36 düzeyinde rapor edilmiştir (52, 167). İtalya'daki Pistoia hayvanat bahçesinde NoV olduğu şüphelenilen ve yaygın hemorajik enteristen ölen bir arslan'da NoV varlığı tespit edilememiştir (102). Enterik caliciviruslar kedi, köpek ve diğer evcil türlerde tespit edilmiştir (111).

Yılmaz ve ark. (182) Marmara bölgesinde yaşları 1-60 gün arasında değişen 70 ishali buzağının dışkı örneklerinde RT-PCR ile Bovine NoV kapsid gen ve filogenetik analizi yapmışlardır. Çalışma sonucunda Bovine NoV GIII-2 prototip ile kümelenmiş olarak tespit edilmiştir (182).

2.4.3. Zoonotik Risk Durumu

İnsan ve hayvanlar arasında NoV'un zoonotik geçişine yönelik yeterli kanıt bulunmamaktadır. Ancak, gıdaların ve çevrenin hayvan/insan atıkları ile kontaminasyonu ile bulaşmanın indirekt yolla olması, etkenin zoonoz karakterde değerlendirilmesine yol açmaktadır (Şekil 6). İnsan NoV ile canine NoV'ların aynı hücre reseptörlerini kullandığını belirleyen çalışmalar, zoonotik riski mümkün kılmaktadır (78, 134).

Gastroenteritis klinik belirtisi gösteren veya göstermeyen hayvanların (buzağı ve domuzlar) dışkılarında NoV tespiti yapılmıştır (167). Moleküler analizler sonucu insan ve hayvan NoV suşlarının birbirine yakın olduğu belirlenmiştir. Özellikle domuz ve insanlarda, NoV GII tespit edilmiştir (171). Ayrıca, gnotobiotik domuzlarda insan NoV GII'nin replikasyonu gösterilmiştir (35).



Şekil 2.6. Hayvan ve gıda orijinli çevresel virus kontaminasyon risk algoritmi (134)

a) Hayvan kaynaklı kontaminasyon, b) Gıdaların çevresel kontaminasyonu

Hayvanların, insan NoV'ları için önemli bir rezervuar olduğu güçlü bir hipotezdir. Bu durumu Venezuela'da domuzlar arasında insan NoV'larına karşı tespit edilen antikorlar ile ilgili çalışma desteklemektedir. İlginç olan bir durumda, GI insan NoV genogrubun GII'den yüksek antikor prevalansına sahip olduğunun belirlenmesidir. Ancak, hayvan rezervuarı ve zoonoz geçişin var olduğu bilinmesine rağmen, reseptörler arası farklılık ve genetik uzaklık bu hipotezi desteklememektedir (52). Ayrıca, hem insan hem de sığırlar arasında benzer suşların varlığının kanıtlanamaması insanlarda oluşabilecek riski azaltmaktadır. Şu anda Kanada'da domuz ve sığırlarda insan NoV GII.4 suşunun yakın sekansının belirlenmesi, gelecekte oluşabilecek riskin oluşabileceğini göstermektedir (106).

Henüz insanlardan hayvan NoV'ları izole edilememesine rağmen, Hollanda'daki veterinerlerde bovine GIII.2'ye karşı antikor varlığının belirlenmesi, insan NoV GIII ile bovine NoV'lar arası yakınlığı destekler tarzda görülmektedir (175). İnsan ve sığır NoV'ları arasındaki çapraz reaktif epitop varlığı, insanlarda

hayvan NoV'larına karşı antikor varlığının tespitini açıklamaktadır (11). Ancak, insan ve sığır NoV'ları GIII'ün genetik uzaklık göstermesi sığır suşlarının insanlara bulaşma riskinin olmadığını göstermektedir (120).

Bazı hayvan Caliciviruslarında türler arası çapraz bariyerler olup, insanları alternatif konak olarak kullanabilmektedir (142). Snow Mountain Deniz Aslanı Virus'unun bir tipinin insanları enfekte ettiği, at ve sığırlarda Vesivirus'a karşı antikor tespit edildiği rapor edilmiştir (88, 89).

Mesquita ve ark. (110) köpeklerde NoV prevalansını ve genetik değişkenliği belirlemek için RT-PCR ile dışkı örneklerini incelemiştir. Diyareli köpeklerde %40 ve diyare semptomu göstermeyen köpeklerde %9 oranlarında canine NoV belirlemiştir. Virus'un genetik açıdan diğer NoV'lardan farklı olduğu ve yeni grup bu virus'un yapısal özelliğinde belirsizlikler tespit edildiğini bildirmiştir.

Menon ve ark. (109) Hindistan'daki 6-36 aylık çocuklar ve annelerinde insan ve sığır NoV benzeri partiküllerin varlığını değerlendirmiştir. Çalışmada, GII virüslere karşı oluşan antikorların GI'den daha erken ve yaygın tespit edildiğini belirlemiştir. Sığır NoV'larına karşı oluşan IgG antikorların düşük seviyelerde olması nedeniyle zoonoz bulaşma sağlanabileceğinin muhtemel olduğu belirtilmiştir.

Mattison ve ark. (106) hayvan dışkı örneklerinde ve perakende et ürünlerinde NoV taraması yapmışlardır. GIII (sığır), GII 18 (domuz) ve GII4 (insan) NoV sekanslarını belirlemiştir. Ayrıca, perakende et ürünlerinde GII4 benzeri NoV RNA tespiti yapmışlardır. Bu bulgular ışığında, yiyecek zinciri vasıtasıyla NoV'ların indirekt zoonoz bulaşmaya yol açabileceğini ifade etmişlerdir.

Bovine NoV Newbury ajan-1 1976 ve Jena virus 1980 yılında diyare semptomlu sığırların dışkılarında tespit edilmiştir. Porcine NoV Hollanda ve Japonya'daki sağlıklı görünüme sahip domuzların dışkılarından belirlenmiştir. Murine NoV'lar immun yetmezliği bulunan laboratuvar farelerinden izole edilmiştir. Günümüzde kafeste bulunan bir aslan ve bir köpek yavrusunda NoV varlığı da tespit edilmiştir (137).

2.5. Klinik

2.5.1. İnsanlarda Klinik Bulgular

Virus'un inkübasyonu 24–48 saat arasında yer almaktadır. Klinik bulgular 12–72 saat arası kadar sürmektedir. Ancak, iyileşmeden sonra sağlıklı bireylerde 2–3 hafta boyunca, immunsupresif bireylerde ise 8 aya kadar hasta gaitası ile virus saçılabilir (158). NoV akut gastroenteritislerinde sık görülen bulgular abdominal kasılmalar, bulantı, kusma ve sulu-kansız ishaldir. Bu bulgular aniden ya da dereceli olarak gelişmekte, yetişkin bireylerde mukussuz ve kansız bir ishal, çocuklarda ise karın ağrısı, bulantı ve kusma daha sık görülmektedir. Hastane ortamında gelişen salgınlarda ve özellikle 11 yaş altı çocuklarda hastalık daha uzun sürmektedir (4–6 gün). Bir yaşıdan büyük bebek ve çocuklarda ise ishal daha sık görülmektedir. Akut gastroenteritislerde yukarıdaki klinik bulgulara ilaveten baş ağrısı, titreme, hastaların %25–50'sinde kas ağrısı ve %37-45'inde ise 24 saat süren ateş (38–39°C) görülebilmektedir (133). Çocuk, yaşlı, immünsüprese bireyler, nekrotizan enterokolitli ve pediatrik onkoloji hastalarında enfeksiyonlar daha ağır seyretmekle birlikte genellikle vakalar hafif seyirlidir ve ölüm nadiren görülmektedir (125).

NoV gastroenteritis semptomlarında genel klinik semptomlar mide bulantısı, kusma, diyare, baş ağrısı ve kas ağrısıdır (118). NoV GII4 suşu ile enfekte olan çocuklarda diyare diğer NoV genotipleri ile enfekte olanlardan daha uzun sürmektedir (72). NoV enfeksiyonlarında ensefalopati, akut böbrek yetmezliği ve viremi şekillenmektedir (73, 107).

Hastalık semptomları genç çocuklar, yaşlılar, transplant ve immun yetmezlik bulunan bireylerde daha uzun sürmektedir (26).

NoV ile enfekte kişilerde gelişen diyarelerde gaitanın kansız, mukussuz olduğu ve kişilerde su kaybına bağlı kilo kaybı gözlenmiştir (112).

NoV enfeksiyonlarının %30'u asemptomatik seyirlidir. Ancak, bu kişilerde virus saçılımının devam etmesi nedeni ile enfeksiyon kaynağı olarakta rol oynamaktadırlar. Düşük ateş ve karın ağrısı nedeniyle hastalık "Mide Nezlesi" ismiyle de anılmaktadır (37). NoV enfeksiyonlarında yeni doğan prematüre çocuklarda nekrotize enterokolitis ve immun yetmezliği olanlarda pnömatozis

intestinalis şekillenmektedir (84, 162). NoV enfeksiyonlarında Crohn's hastalığında alevlenebilmekte ve eşlik edebilmektedir (83).

2002 yılında Afganistan'daki askeri personel arasında gelişen NoV salgınında 3 enfekte hastada duyarsızlık, boyun sertliği, ışık duyarlılığı ve birinde de intravasküler kuagulasyon görülmüştür (29).

NoV enfeksiyonlarında akut, kronik, yaygın olmayan klinik görünüm ve asemptomatik klinik formları görülebilmektedir (135).

Akut enfeksiyonlarda kusma, diyare ve diğer semptomlar, kronik enfeksiyonlarda ve immun yetmezliği olanlarda duyarsızlık, boyun sertliği, ışık duyarlılığı, ve intravasküler kuagulasyon ve asemptomatik enfeksiyonlarda klinik belirti olmadan virus saçılımı ve antikor cevabının gelişimi görülmüştür (135).

2.5.2. Hayvanlarda Klinik Bulgular

Bovine NoV Newbury ajan 2 ile enfekte gnotobiotik buzağılarda non hemorajik enteritis, orta şiddetli diyare, anoreksia ve xylose maladsorbsiyon klinik belirtileri görülmüştür. Diyare, 3 haftalık buzağılarda oldukça yaygındır. Bu belirtiler, iki ay kadar görülebilmektedir. Bovine NoV Newbury ajan 2, Bovine enterik calicivirus Newbury Ajan 1'e göre daha az virulenttir. Virus saçılımı, klinik belirtiler öncesi veya esnasında kısa süreli gerçekleşmektedir (17).

Enfekte buzağuların incebarsak proksimalindeki villuslarda atrofi, kript hiperplazisi ve submukozada ödemler görülmektedir (59). Gastrik ve rektal mukozada değişiklik görülmemektedir (17, 59).

Porcine NoV'lar, ergin domuzların dışkılarından klinik belirtiler görülmeden tespit edilmektedir. Ancak, domuzlarda meydana gelen diyare olgularında Porcine NoV' un gerçek etkileri araştırılması gerekmektedir (171).

Murine NoV'lar vahşi ve evcil farelerde asemptomatik olarak gerçekleşebilmektedir. Bu farelerde ensefalitis, cerebellar damarlarda vasikülitüs, pnömoni ve hepatitis görülebilmektedir. Bu virus ile deneysel enfekte farelerin dalak, mezenterik lenf nodülleri ve jejunumlarında Murine NoV-1 RNA tespiti yapılmıştır (77).

2.6. NoV Teşhis, Tedavi, Korunma

2.6.1. NoV Teşhisi

Norovirus araştırmalarında, gaita örneklerinde NoV antijen tespitinde ticari ELISA kitleri kullanılmaktadır. Bunlardan en sık kullanılanları Denka (Japonya), Oxoid (İngiltere) ve Ridascreen R. Biopharm (Almanya) firmalarının üretmiş oldukları kitlerdir. Bu kitlerin %30-70 arasında sensitivitesi ve %69-100 arasında spesifitesi vardır (44, 131). Bu kitler sandviç tip ELISA olarak hazırlanmışlardır.

RT-PCR testleri, NoV genomunun 4 korunmuş bölgesinden primer dizayn yapılarak geliştirilmiştir. Bu bölgeler; polimeraz gen, ORF 1-2 bağlama, N-terminal kabuk ve kapsit genin 5'-son kısmıdır. Kapsit genin 5' son bölgesi, %95 pozitifliğin belirlendiği NoV suşlarının (GI, GII) kullanımı ile yapılabilen tek tüp (one-step) RT-PCR testi ile değerlendirilmektedir. Bu testin en çok kullanılan metot olduğu bildirilmektedir (170). 5 RT-PCR testinin, 4 adedinde hedefin polimeraz geni olduğu bildirilmektedir (90).

Real-Time PCR testleri dışkı ve çevresel örneklerden NoV tespitine duyarlı olarak geliştirilmiştir (74, 132). Farklı yaklaşımlarla geliştirilen bu kitlerde primerler ilk olarak RT-PCR testi, Taq Man ve SYBR yeşil teknolojileri kullanılmıştır. Trujillo ve ark. (160) dışkı örneklerinde NoV GI,II, ve IV tespitinde ORF1-2 bağlantı hedefine real-time PCR geliştirmiştir. Konvansiyonel RT-PCR ile aynı örnekler incelendiğinde, NoV pozitif örneklerin %98 (64/65)'inde real time PCR ile de pozitiflikbelirlemişlerdir (160).

Real time PCR, konvansiyonel RT-PCR'den; daha kısa sürede sonuç vermesi, karışımındaki NoV varlığını belirlemedeki hassasiyeti ve viral partikül miktarını sayısal olarak vermesi yönünden daha avantajlı bir metot olarak görülmektedir (18).

Taq Man ve SBYR kimyası da bir primer yerine floresant işaretleme kullanılarak yapılan uygulamalardır (19). Bu alternatiflerden biri ticari Lux TM ve diğeri Plexor TM'dur. Lux TM teknolojisinde primerlerden biri 3' ucuna yakın florofor ile işaretlenmektedir. Plexor TM teknolojisinde reaksiyon başlangıcında güçlü floresan sinyali vermektedir (114, 115).

Farklılaştırılmış 3 boyutlu hücre kültürü ve gnotobiotik modellerde NoV replikasyonu sağlanmış olmasına rağmen, şu ana kadar NoV'un hücre kültürü ve

hayvan modellerinde başarılı bir replikasyonu sağlanamamıştır (35, 147). Chan ve ark. (33) NoV'ların lamina propria hücreleri gibi non epitelyal hücreler ve Brunner's bezlerine tropismus gösterdiğini belirlemiştir (33).

EM teşhiste kullanılmasına rağmen, klinik çalışmalarda kullanımı pratik olmamasından ötürü tercih edilmemektedir (40, 82).

İlk NoV tespiti immuno EM ile yapılmıştır (76). NoV tespiti için dışkının her gramında 10^6 - 10^7 arasında virus partikülü bulunması gerekmektedir (56). Ancak viral enfeksiyonlar sırasında virionların sayısı genellikle 10^6 - 10^7 'den düşük olduğu için virusları bir araya toplayan antiserum kullanımı ile EM duyarlılığı arttırılmaktadır (56). EM'nin teşhiste kullanımı yüksek ekipman maliyeti, deneyimli personel ve çok sayıda örnek işleyememesinden ötürü dezavantajlı bulunmaktadır.

ELISA'da NoV tespiti için dışkının her gramında 10^4 - 10^5 arasında virus partikülü (virion) bulunması gerekmektedir (56).

NoV teşhisinde PCR sensitivitesi ve spesifitesini artıran Nested PCR metodu da yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu tekniğin dezavantajı ise nakil edilen veya ampikonların kontaminasyonudur. Ancak, bu durum iyi sterilizasyonu yapılmış laboratuvar koşullarının sağlanması ile ortadan kaldırılabilir (58).

Vildevall (168) NoV teşhisinde ELISA'nın yanı sıra, insan NoV (GII3) ve sığır NoV (GII2) arasındaki çapraz reaksiyon derecesini belirlemek için Western-Blot testi, tek nükleotid polimorfizmini belirlemek için Pyrosequencing, serum örneklerinde NoV antikolarını belirlemek için Hemaglutinasyon İnhibisyon testi, NoV hemaglutininleri ve virus miktarını belirlemek için de Hemaglutinasyon testleri uygulamışlardır (168).

NoV teşhisinde EM, İmmunassay ve RT-PCR metotları kullanılmaktadır (96). Teşhisdeki en büyük zorluk NoV'ların immunolojik ve moleküler teknikler kullanılarak genetik ve antijenik ayrımların yapılmasıdır. Bu uygulamada insanlarda detaylı çalışılmasına rağmen, hayvan NoV'larında daha az yapılmıştır (182). İnsan NoV için geliştirilen (EM, RIA, WB, ELISA ve 3D-hücre kültür sistemi) sistemleri ve yeni jenerasyon test sistemleri hayvan NoV'ları için de yapılmalıdır (146).

Bovine ve porcine NoV ELISA antikor ve antijen kitleri geliştirilmiştir. Bovine NoV'ların Jena ve Newbury ajan-2 suşları en yaygın olanlarıdır.

Murine NoV'ların ELISA ve immunfloresans antikor (IFA) testleri ile de tespiti yapılmıştır (119).

Hayvan NoV suşlarının tespiti, insan NoV RT-PCR primer dizaynı ile tespit edilmektedir. Ancak, denemelerde Porcine ve Bovine NoV'una duyarlılığının oldukça düşük olduğu görülmüştür. Bu yüzden, öncelikle hayvan NoV varlığının teyit edilmesi ve yeni bir primer dizayna gidilmesi gerekmektedir. Örneğin, Porcine ve Bovine NoV'ları için spesifik RT-PCR ve ELISA kitlerinin geliştirilmesi gerektiği vurgulanmıştır (137).

2.6.2. NoV Tedavisi

NoV gastroenteritis tedavisi için viral proteinlerin sentezini inhibe eden antiviral aktivite gösteren bir thiazolidin derivatı olan Nitazoxanide kullanımı tavsiye edilmektedir (136, 138). Günümüzde hücre sistemlerinde toplanan NoV replikonunda anti-noroviral aktiviteler gösteren ribavirin ve piperazin derivatları da kullanılmaktadır (34, 45).

NoV bağlanma inhibitörlerinden faydalanılabileceği bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada, hidrojenlerle konjuge edilmiş α 1.2-fucosylate glikanlar kullanılmıştır (182). NoV'lara yönelik anti-adhezyon terapisi önerilmektedir (135).

NoV ile enfekte kişilerde temel tedavi, izotonik sıvılar ve beslenme ile dehidratasyonun önlenmesi olup, beslenmede BRAT diyeti adı verilen bir uygulamaya gidilmesi gerektiği vurgulanmıştır. Bunlar muz (B), pirinç (R), elma sosu (A) ve Tost/Kraker (T)'dir. Bu dönemde baharatlı yiyecekler, meyve, alkol, su ürünleri ve kahveden uzak durulması tavsiye edilmektedir (177).

2.6.3. Korunma ve Kontrol

Şu ana kadar NoV için uygun bir ticari aşı yoktur. Ancak, NoV hastalığının semptomlarını azaltacak aşı çalışmaları yapılmaktadır. Bu aşilar fare, gnotobiotik buzağular ve insanlarda faz I klinik çalışmalarında denenmiştir. Bu aşiların temel prensibi VLP'lerin baculovirus sistemlerince kapsid proteinlerin çoğalması sonrası biraraya getirme modeline dayanmaktadır. Bu aşiların hedef grubu yaşlı, çocuk, gebe kadın, seyahat edenler ve immun yetmezliğe sahip bireyler olarak belirlenmiştir (18).

NoV GI, GII ve GIV'e yönelik multivalan aşıların geliştirilmesi tavsiye edilmektedir (37).

Yüzey temizliğinde %2'lik hipokloritin kullanılması gerekmektedir. NoV persistentliğine yönelik kullanılan %2 hipokloritin kuru ve sabit yüzeylerde 8 saatten 7 güne kadar bekletilmesi tavsiye edilmektedir (38, 176).

NoV'lar zarsız yapıya sahip oldukları için aside dirençli, çevrede kalıcı ve 300 ng/ml'ye kadar klorlamaya dirençlidirler (48, 163). NoV'lara kuarterner amonyum dezenfektanları etkili değildir (46, 48). Yüzey dezenfeksiyonunda deterjan ve sodyum hipokloritin kombine kullanımı tavsiye edilmektedir (10).

Virus'un hücre kültüründe üretilmesi güçtür. Bu nedenle su kaynaklarında direk virus tanısı yapılamamaktadır. İndikatör koliform bakterisi tespitinden faydalanılmaktadır. Su kaynaklarında kontaminasyon saptandığında, NoV eliminasyonu için yüksek düzeyde klorlama (≥ 10 mg/L) yapılması gerekmektedir (84).

NoV salgınlarında fekal-oral yolla bulaşmanın yanında, insandan insana bulaşmada görüldüğünden kişisel hijyene önem verilmelidir. Özellikle toplu yaşanan ve yemek yenilen yerlerin mutfaklarında katı hijyen kuralları uygulanmalı ve kişisel hijyen eğitimlerine önem verilmelidir. Salgınlar şeklinde görülen NoV enfeksiyonlarından korunma önlemleri Tablo 2.2'de özetlenmiştir (9,153).

Tablo 2.2. NoV salgınlarında enfeksiyon kontrol önlemleri (9)

Enfeksiyon Kontrol Grubu	Enfeksiyon Kontrol Stratejisi
Salgın saptanması	Epidemiyolojik klinik tanı (Kaplan klinik tanı kriterleri) Etkilenen popülasyonda salgın için alınan dışkı örneklerinde laboratuvarda bakteriyel etken tanımlanmaması durumunda; 1. ortalama hastalık süresi 12-60 saat, 2. ortalama inkübasyon periyodu 24-48 saat olması, 3. vakaların >%50 kusma semptomu olmasıdır.
Hijyen	Enfeksiyon kontrolü için laboratuvar confirmasyonu sağlanmalıdır. Enfeksiyon kontrolü ve bulaşma önleme el hijyeni ile sağlanır. Bulaşma önlenmesi için insanların teması önlenmeli, Salgın döneminde sağlık personeli kişisel koruyucu (maske, eldiven, gözlük) kullanmalı, Kişisel koruyucular sık değiştirilmelidir.
Temizlik ve Dezenfeksiyon	Bütün yüzeyler %0.1 hipoklorid ile temizlenmeli, 1. temizlik etkilenmemiş alandan etkilenmiş alana doğru, 2. hasta yoğunluğunun fazla olduğu ve bulaştırma riski olan alanlarda temizlik sık olmalı, 3. tek kullanımlık kıyafetler atılmalı Hastaların kullandığı çarşaf, battaniye gibi tekrar kullanılan malzemeler iyice yıkanmalıdır.
Hasta izolasyonu	Yayılmı önlemek için hastalar bir araya toplanabilir.
Sağlık personeli	Yayılmı önlemek için semptomları olan personel 48 saat izin verilebilir.
Salgın bildirim	İl Halk Sağlığı Müdürlüğü Bulaşıcı Hastalıklar Şubesine bildirim yapılmalı ve salgın raporu hazırlanmalıdır.
Gıda güvenliği	En fazla fekal-oral yolla bulaş nedeni ile; 1. çiğ yenen gıdaların temizliği ve pişirilen gıdaların iyi pişirilmesi gerekir, 2. gıda hazırlayan kişilerde; bulantı, kusma, ishal gibi bulguların olma durumunda bu kişilere semptomlar geçtikten 48 saat sonrasına kadar gıda hazırlatılmamalıdır, 3. gıda hazırlayan kişiler hijyene dikkat etmeliler, 4. kontamine içme sularında süper klorlama yapılmalıdır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Köpek Dışkı Örnekleri Toplanması

Burdur ili merkezinde evde ve bahçede beslenen sahipli ve ishal semptomu gösteren çeşitli ırk ve cinsiyetteki 128 adet evcil köpektengaita örnekleri toplandı. Gaita örnekleri köpek sahipleri tarafından numune kaplarına toplandı ve tarafımızca soğuk zincir koşullarında laboratuvarlara getirildi (Şekil 3.1). Gaita örneklerinden steril bageet ile alınan (yaklaşık 1 gr) gaitalar steril bir cam tüpe aktarılarak, üzerilerine 5 ml kadar RNAfter™ (GeneMark, GMbiolab Co., Ltd., Taichung, Taiwan) solüsyonu (Şekil 2 ve 3) ilave edilerek, 5 dakika vortekslendi. Daha sonra bu karışım test uygulamasına kadar -20°C'lik derin dondurucuda saklandı.

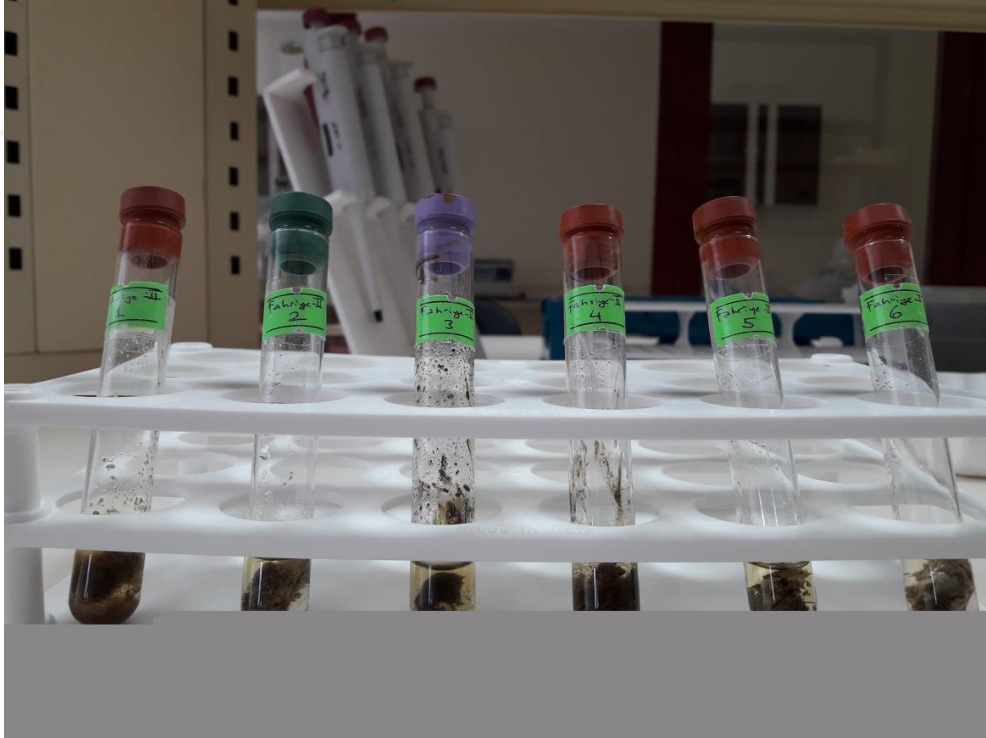
Köpeklerin dışkı örnekleri toplanması sırasında sahiplerine birer anket uygulandı. Ankette köpeklere ait (yaş, ırk, beslenme şekli, ishal için tedavi ve aşılama durumu) bilgiler, köpeğin yaşam koşulları ve gezinti alanı varlığı sorgulandı. Aynı ankette, köpekle aynı evde yaşayan kişilerin yaş, cinsiyet ve çocuk varlığı, köpeği besleyen kişinin bakım sırasındaki tutumları ve evde yaşayan kişilerde son 72 saatte ishal varlığı sorgulandı (Ek 1).



Şekil 3.1. Gaita örnekleri ve toplama kabı



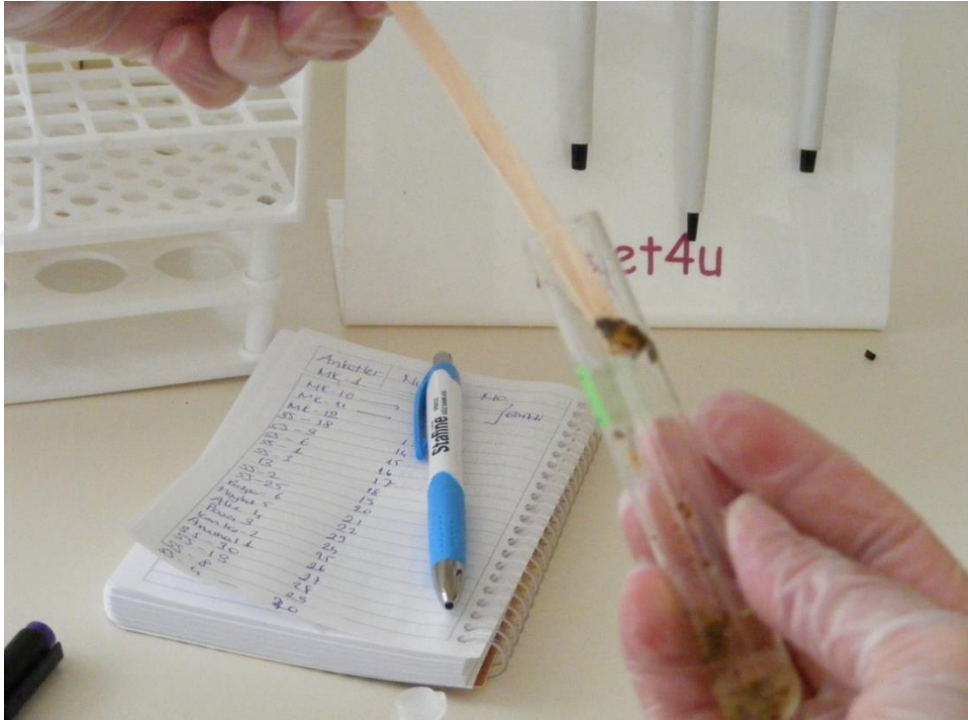
Şekil 3.2. RNAAfter™ solüsyonu



Şekil 3.3. 5 ml RNAAfter™ konmuş cam tüpler.

3.2. Köpek Dışkı Örneklerinin RNA Ekstraksiyonuna Hazırlanması:

Uygun şartlarda (soğuk zincir) toplanan ve RNAafter™ solüsyonu içinde -20°C'de saklanan gaita örnekleri oda sıcaklığında çözündürüldü. Çözünen karışımdan 1 gr kadar gaita steril baget yardımıyla alındı (Şekil 3.4). Daha önce hazırlanmış steril eppendorf tüplere aktarıldı (Şekil 3.5). Bu tüplere 1 ml kadar Phosphate Buffer Solüsyonu (PBS) ilave edildi. Eppendorf tüpündeki bu yeni karışım 10 dakika vortekslendi (Şekil 3.6). Daha sonra eppendorf tüpleri + 4 °C'de 2500 devir/dk. 25 dakika süreyle santrifügasyon işlemine tabi tutuldu (Şekil 3.7). Santrifügasyon sonrası eppendorf tüplerindeki süpernatantlardan 0.25 ml alınarak, başka bir steril eppendorf tüpüne aktarıldı (Şekil 3.8). Bu aşamadan sonra RNA ekstraksiyon protokolüne geçildi.



Şekil 3.4. Çözdürülen örneklerden gaita alımı



Şekil 3.5. Çözdürülen örneklerin eppendorf tüplerine aktarımı



Şekil 3.6. Örneklerin vortekslenme işlemi



Şekil 3.7. Örneklerin santrifügasyon işlemi



Şekil 3.8. Süpernatantların farklı eppendorf tüplerine aktarımı

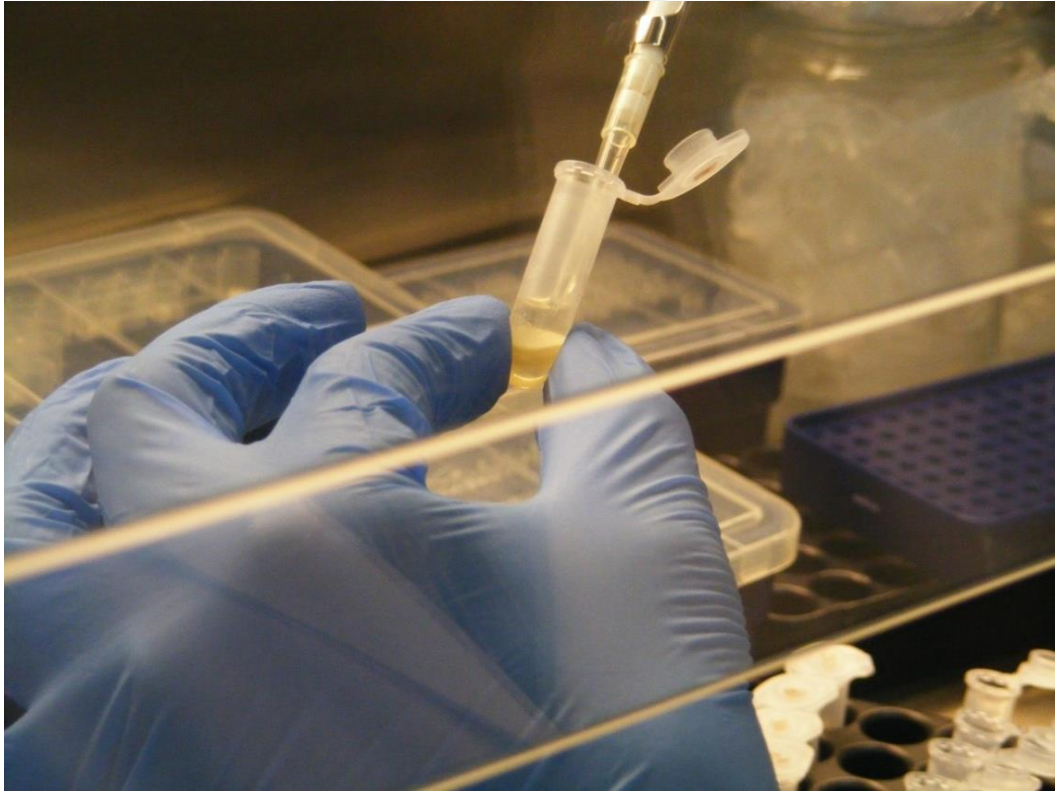
3.3. Köpek Dışkı Örneklerinde RNA Ekstraksiyon Protokolü

3.3.1. Homojenizasyon

Dışkı örneklerinde virus genomu tespiti üzere RNA ekstraksiyonu protokolü uygulandı. Eppendorfa aktarılmış, ön işlem görmüş 250 µl örnek süpernatant üzerine 750 µl Trizol (GeneMark, GMbiolab Co., Ltd., Taichung, Taiwan) aktarılıp, pipetasyon işlemi ile karıştırıldı. Bu karışım, 4°C'de 2500 devirde 25 dakika santrifüj edildi.

3.3.2. RNA Faz Ayrılması

Örnek ve Trizol karışımına 200 µl kloroform (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany) eklendi (Şekil 3.9). 12000 g'de 4°C'de 15 dakika santrifüj edilmesi sonrası organik moleküller (hücre proteinleri, DNA, lipid v.b.) çöktürülürken RNA sulu bölümde bulunması nedeni ile süpernatant temiz eppendorf tüpüne alındı.



Şekil 3.9. Kloroform ilavesi

3.3.3. RNA Presipitasyonu

RNA'nın pozitif yüklenmesi ve presipitasyonu sağlamak amacı ile 500 µl isopropanol (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany) eklendi. 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. 12000 g'de 4⁰C'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatant döküldü. Yıkama için 1000 µl %75'lik etanol eklenerek iyice karıştırılarak 7500 g'de 4⁰C de 15 dakika santrifüj edildi ve bu işlem bir kez tekrarlandı. Süpernatant dökülerek kurumaya bırakıldı. Kuruduktan sonra 40 µl RNAase free su eklenerek 58.5 ⁰C'de 15 dakika ısıtıcıda (Benchmark Scientific, Edison, New Jersey, USA) inkübe edildi (Şekil 3.10). RNA ekstraksiyonu yapılan örnekler -20⁰C'de depolandı.



Şekil 3.10. Isıtıcıda inkübasyon işlemi

3.4. Real-Time PCR ile NoV Genomu Tespiti

Evcil köpeklerin dışkı örneklerinde Real-Time PCR yöntemi ile NoV I, GII ve GIV tespitinde foodproof® Norovirus Detection Kit-5'Nuclease-(BIOTECON Diagnostic®, Potsdam, Germany) kitleri kullanıldı. Bu amaçla, öncelikle her bir örnek için bir reaksiyon tüpünde foodproof® NoV kit'i master miksten 14 µl ve enzim solüsyonu 1µl olacak şekilde toplamda 15 µl PCR karışımı hazırlandı. RNA ekstraksiyonu yapılan örneklerin her birinden farklı bir reaksiyon tüpüne 10 µl alındı ve üzerilerinedaha önceden hazırlanmış 15 µl PCR karışımı eklendi. Bir örneğe ait reaksiyon tüpünde toplamda 25 µl karışım hazırlanmış oldu. Ayrıca, iki farklı reaksiyon tüpünün birine 10 µl Negatif kontrol ve diğer tüpe 10 µl Pozitif kontrol ilave edildi. Tüm reaksiyon tüplerindeki örnekler içlerindeki miktar kadar PCR pleytlerine aktarıldı, ağızları sıkıca şeffaf folya ile kapatılarak, uygun bir santrifüj aletinde kısa süreli (10-15 sn.) santrifüj edildiler. LightCycler® 480 II Systems (Roche Diagnostics Ltd., Mannheim, Germany) cihazında sıcaklık-zaman programı kit üreticisi firmanın belirttiği doğrultuda amplifikasyon aşamasına geçildi. Hazırlanan pleyt, cihaza yerleştirilerek program çalıştırıldı. Kit üreticisi firmanın belirttiği sıcaklık-zaman programı şu şekilde uygulandı: Reverse transcription için 1 siklus 45⁰C 30 dakika, pre-inkübasyon için 1 siklus 95⁰C 5 dakika ve amplifikasyon için birinci basamak olarak 95⁰C 15 saniye, ikinci basamak olarak 60⁰C 60 saniye ve üçüncü basamak olarak 72⁰C 10 saniye olmak üzere polimeraz zincir reaksiyonu 50 siklus olarak gerçekleştirildi. Amplifikasyon sonuçları LightCycler® 480 II Systems cihazında floresan okunması sonrasında elde edilen veriler kit üreticisi firmanın belirttiği sonuç değerlendirme tablosuna göre (Tablo 3.2) değerlendirildi.

Tablo 3.1. HEX, FAM ve ROX kanallarının fluoresans dalga boylarının durumuna göre sonuç değerlendirme tablosu

NoV G I	NoV G II	Proses Kontrol	Sonuç Yorumlaması
HEX kanalı	FAM kanalı	ROX kanalı	
Pozitif	Pozitif	Pozitif/Negatif	NoV GI ve II/ IV Pozitif
Negatif	Pozitif	Pozitif/Negatif	NoV GII Pozitif
Pozitif	Negatif	Pozitif/Negatif	NoV GI Pozitif
Negatif	Negatif	Pozitif	NoV GI ve II/IV Negatif
Negatif	Negatif	Negatif	Geçersiz

3.5. İstatistiki Analiz

Köpek sahiplerine uygulanan anketteki sorular SPSS 15.0 (2007) istatistik analiz programına girildi. Verilerde frekans, ortalama, standart sapma olarak tanımlayıcı analizi yapıldı ve $p<0.05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

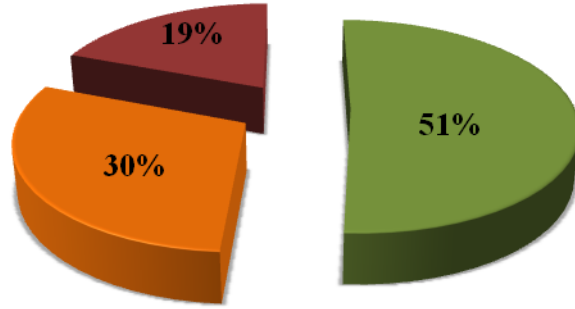
Çalışma için çok değişik köpek ırkından örnekleme yapıldı. En fazla görülen üç ırk Golden Retriever (%21.6), Çoban Köpeği (%17.6) ve Akbaş-Kangal (%11.8) dı. Köpeklerin %47'si erkek ve %53'ü dişiydi. Köpeklerin ortalama yaşı 36.5 aydı (min.1.0, max.156.0). Kişilerin köpekleri sahiplenme şekli olarak pet dükkanından, barınaktan, sokaktan ve özel olarak getirtme olarak gruplanmış ayrıca bu gruplara uymayanlar diğerk olarak değerlendirildi (Tablo 4.1.). En fazla köpek sahiplenme yolu özel getirtme (%41.7) olarak bulundu (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Köpek sahiplenme yolları

Sahiplenme Yolu	Sayı (n)	Oran (%)
Özel getirtme	53	41.7
Diğerk	35	27.2
Pet dükkanı	19	14.6
Sokak köpeği	14	10.7
Barınak	7	5.8
Toplam	128	100.0

Köpek sahipleri köpeklerin barınma koşullarını %6.7 oranında kötü, %42.3 oranında orta ve %51 oranında iyi olarak değerlendirdi. Çalışmada sorulan ankette köpeklerin beslenme alışkanlıkları hazır kuru mama, evde hazırlanan mama, ev yemeği artıkları ve diğerk olarak soruldu ve birden fazla şık işaretlenebileceği belirtildi. Buna bağı olarak köpeklerin %67.3'ü hazır kuru mama, %66.3'ü ev yemeği artıkları ve %7.7'si evde hazırlanan mamalar ile beslendikleri katılımcılar tarafından beyan edildi. Köpeklerin %51'i tam aşılı, %30'u eksik aşılı ve %18 aşısız olarak belirlendi (Şekil 4.1). Köpeklerin %21.2'sinin gezinti alanı olmadığı belirtildi.

■ Tam aşıllı ■ Eksik aşıllı ■ Aşısız



Şekil 4.1. Köpeklerin aşı durumları

Köpeklerin sahiplerinin ortalama yaşları 39.1 (min. 12, max. 69) olarak belirlendi. Köpek sahiplerinin %75.5'i (97 kişi) erkek ve %24.5'i (31 kişi) kadındı. Köpek beslenen evlerde çocuk olma durumuna bakıldığında %49 (62 kişi) evet ve %51 (66 kişi) hayır olarak tespit edildi. Köpek bulunan evlerde yaşayan çocuk sayısı en fazla %58.8 (37 kişi) oranında iki çocuklu olanlardı (Tablo 4.2).

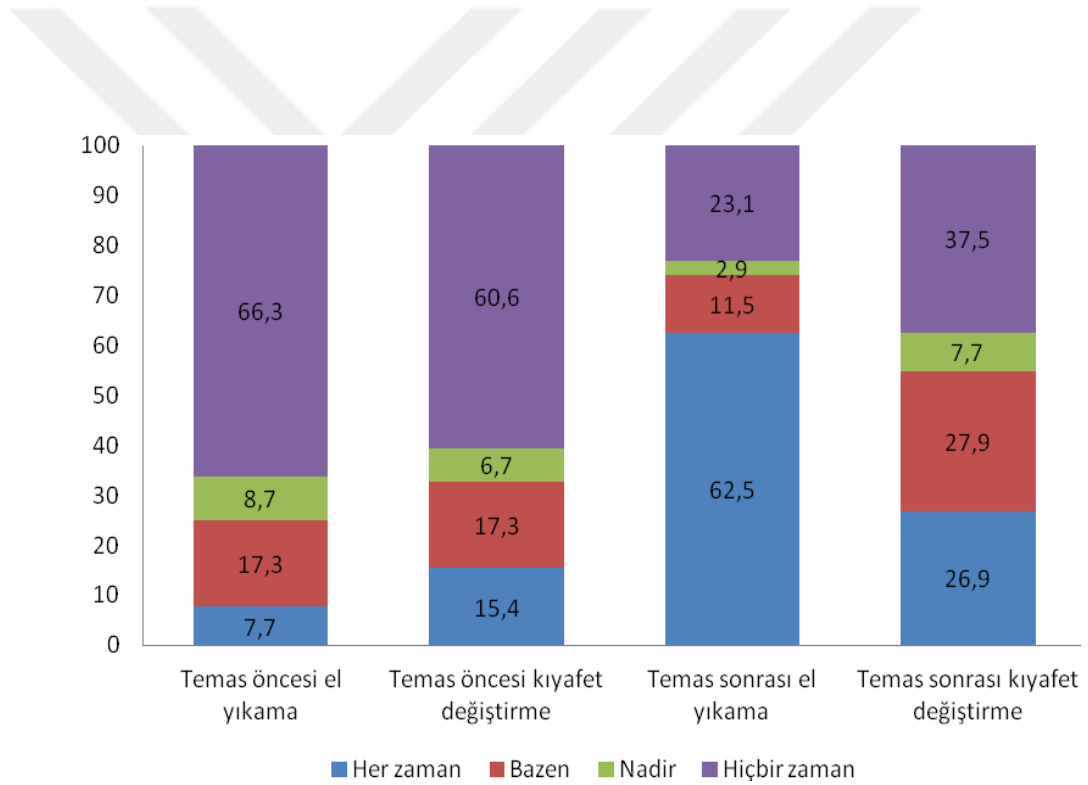
Tablo 4.2. Köpek bakımından sorumlu kişilerin demografik verileri

	Sayı (n)	Oran (%)
Cinsiyet		
Erkek	97	75.5
Kadın	31	24.5
Evde çocuk bulunma durumu		
Evet	62	49.0
Hayır	66	51.0
Evde yaşayan çocuk sayısı		
Bir çocuk	19	31.4
İki çocuk	37	58.8
Üç çocuk	6	9.8

Köpek bakımından evde yaşayan kişiler sorumlu olup, birden fazla şık işaretlenebileceği belirtildi. Buna göre %69.2'u baba, %41.3 anne ve %23.1 çocuklar

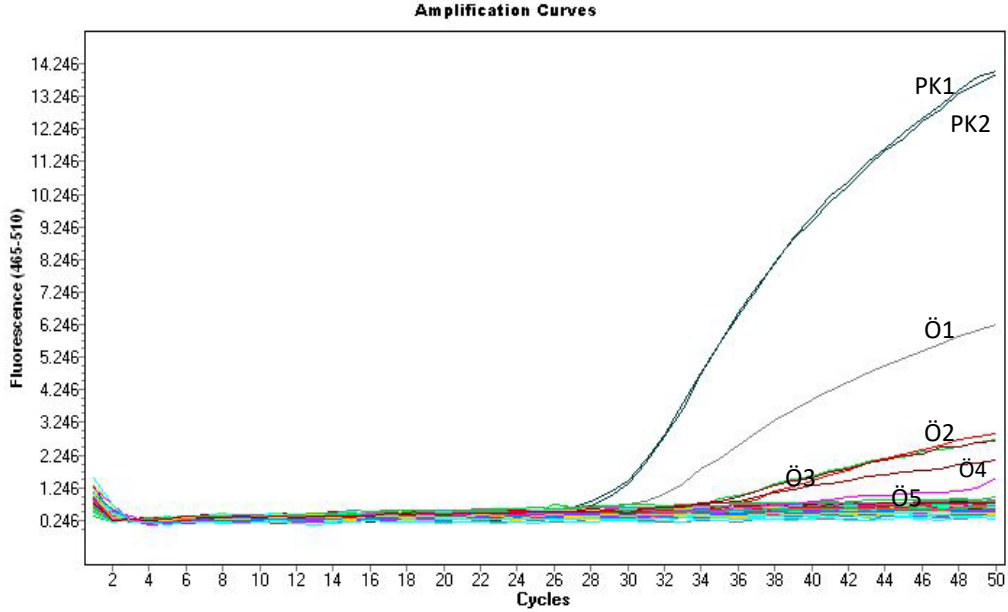
olarak sıralandı.Evde yaşayan çocukların yaş ortalaması birinci, ikinci ve üçüncü çocuk olarak sırasıyla 15.2 ± 7.5 ; 12.6 ± 5.4 ve 10.8 ± 5.2 yıl olarak görüldü.

Bakımları için köpeklerle temas sırasında kişilerin davranış ve tutumlarını belirlemek için her zaman, bazen, nadiren ve hiçbir zaman şeklinde hazırlanan dördü lühert ölçeği kullanıldı. Katılımcıların %66.3'ünün köpekler ile temas öncesinde el yıkamadıkları ve %60.6'sının kıyafet değiştirme alışkanlığının olmadığı görüldü. Katılımcıların köpek bakımından sonra %62.5'unun el yıkama alışkanlığının bulunduğu, %26.9'ununda kıyafet değiştirme alışkanlığının olmadığı belirlendi (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Köpeklerin bakımından sorumlu kişilerin teması sırasında tutum ve davranışları

Real Time-PCR ile incelenen 128 adet köpek gaita örneğinin 5 (%3.91) adedinde insan NoV GII bulundu (Şekil 4.3). Ancak, NoV GII bulunan örneklerde NoV GI ve GIV için pozitiflik belirlenmedi. Diğer 123 adet köpek gaita örneğinde NoV GI, GII ve GIV varlığı belirlenmedi. Değerlendirme HEX, FAM ve ROX kanallarının floresans dalga boylarının durumuna göre ticari kitin sonuç değerlendirme tablosu kullanılarak yapıldı.



Şekil 4.3.Real-Time PCR sonuçları

[PK1: Pozitif Kontrol 1 (CP:30.25), PK2: Pozitif Kontrol 2 (CP:30.07), Ö1: Örnek 1 (CP:33.20), Ö2: Örnek 2 (CP:39.92), Ö3: Örnek 3 (CP:40.52), Ö4: Örnek 4 (CP:39.48), Ö5: Örnek 5 (CP:42.76)].

NoV GII pozitif tespit edilen köpeklerin kendi aralarında: ırklara göre dağılımı %40 Melez, %20 Minyatür Poodle, %20 Golden Retriever, %20 Rottweiler; cinsiyete göre dağılımı %80 dişi, %20 erkek; yaş ortalaması 31.40 ay (min. 24, max. 40); köpeğin sahiplenme şekli %40 pet dükkanı, %40 sokak köpeği, %20 sahipli köpek yavrusu; köpeklerin barınma koşulları %100 orta düzeyli; köpeklerin %60'ı ev yemeği artıkları ve %100 hazır kuru mama; aşılama durumları %60 tam aşı, %20 eksik aşı, %20 aşısız; köpeğin gezinti alanı %60 var, %40 yok; köpeklerin %100'ünün ishali ve ishal tedavisi gördüğü; köpek sahiplerinin yaş ortalaması 53.4 (min. 36, max. 62) ve cinsiyetleri %80 erkek, %20 kadın; köpeklerin yaşadığı evlerde çocuk bulunmadığı; köpek beslenmesi ile ilgili %80 baba, %20 anne; bakım

öncesi el yıkama %40 nadiren, %40 hayır, %20 her zaman; bakım öncesi kıyafet %60 hiçbir zaman, %40 bazen; bakım sonrası el yıkama %40 hiçbir zaman, %40 bazen, %20 her zaman; bakım sonrası kıyafet %60 hiçbir zaman, %40 bazen olarak; evde yaşayan bireyler arasında son 72 saatte ishal olgusu görülmediği belirlendi (Tablo 4.3).



Tablo 4.3. NoV GII pozitif bulunan köpeklerin bazı anket sonuçları

Sıra no	Köpek cinsi	Köpek cinsiyet,	Köpek yaşı (ay)	Köpeğin sahiplenme şekli	Köpeğin Aşlanma Durumu	Köpeğin gezinti alanı	Bakım öncesi el yıkama	Bakım öncesi kıyafet değiştirme	Bakım sonrası el yıkama	Bakım sonrası kıyafet değiştirme
1	Golden retriever	Dişi	40	Sokak köpeği	Tam aşı	Var	Nadiren	Bazen	Her zaman	Bazen
2	Rottweiler	Dişi	24	Pet dükkânı	Aşısız	Var	Her zaman	Bazen	Bazen	Bazen
3	Minyatür Poodle	Dişi	27	Pet dükkânı	Eksik aşı	Var	Hiçbir zaman	Hiçbir zaman	Hiçbir zaman	Hiçbir zaman
4	Melez	Dişi	30	Sahipli köpek yavrusu	Tam aşı	Yok	Nadiren	Hiçbir zaman	Bazen	Hiçbir zaman
5	Melez	Erkek	36	Sokak köpeği	Tam aşı	Yok	Hiçbir zaman	Hiçbir zaman	Hiçbir zaman	Hiçbir zaman

5. TARTIŞMA

NoV insan, koyun, domuz, fare ve köpeklerin intestinal hastalıkları ile ilişkilidir. Canine NoV ilk defa İtalya’da 2007 yılında tespit edilmiştir. Daha sonra Portekiz, Yunanistan ve Amerika Birleşik Devletlerinde devam eden çalışmalarda köpeklerin dışkılarında tespit edilmiştir (23). İnsan NoV’ları GI, GII ve GIV olarak gruplandırılmışlardır. Ancak canine NoV’ları GIV ve GVI olarak gruplandırılmaktadırlar. GIV’teki insan ve canine NoV’ları arasında %85’ten az düzeyde aminoasit benzerliği bulunmaktadır. Bu yüzden farklı genotipler olan IV.1 ve IV.2’ye ayrılmaktadırlar (103). İnsanlar ile köpeklerin bir arada çok yakın temasla yaşaması, birbirleriyle aynı ortamı paylaşması ve bunun oldukça yaygınlaşması nedeniyle son yıllarda insan NoV’unun kedi ve köpek populasyonlarında varlığı çeşitli çalışmalarla araştırılmaktadır. Buna karşın, canine NoV antikor varlığı 373 adet küçük hayvan hekimliği ile uğraşan veteriner hekimlerin %22.3’ünde ve 120 adet bireyin %5.8’inde belirlenmiştir (110).

Summa ve ark. (147) insanlarla aynı evde yaşayan sahipli köpeklerin gaita örneklerinde NoV GI, GII ve GIV varlığını Real-Time PCR metodu ile araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, ishal semptomu gösteren insanlarla temas halinde olan 4 adet köpeğin gaita örneklerinde insan NoV varlığı belirlenmiştir.

Caddy ve ark. (25) İngiltere’de sahipli köpeklerin gaita örneklerinde insan NoV varlığını Real-Time PCR uygulaması ile araştırmışlardır. 325 adet köpek kan örneğinin 43 adedinde insan NoV antikor varlığını belirlenmiştir.

Soma ve ark. (143) Japonya’daki diyareli 97 köpeğin gaitasında NoV varlığını RT-PCR ile araştırmışlardır. Araştırmada, 2 adet örnekte NoV varlığı belirlenmiştir. Martino ve ark. (43) 516 adet köpek kan serumunda insan NoV GII.4, GIV.1 ve köpek NoV GIV.2 ve GVI.2. virus partikül benzeri temelinde geliştirilen ELISA ile inceleme yapmışlardır.

Mesquita ve ark. (110) 105 adet köpek gaitasında NoV varlığını araştırmışlardır. Araştırmada, 63 adet köpeğin ishalleri gaitası ve 42 adet köpeğin normal gaitası RT-PCR ile incelenmiştir. İncelemeler sonucunda ishalleri köpeklerin gaitalarında %40 düzeyinde ve ishalleri olmayan köpeklerin gaitalarında %9 düzeyinde yeni tür NoV varlığı bulunmuştur.

Ülkemizde insan NoV'ların ishali köpek gaitalarında araştırılması üzerine yapılan bir çalışmaya, yaptığımız literatür taramalarında rastlamadık. Bu yüzden, elde ettiğimiz sonuçlar bu yönüyle ilk olma özelliğini taşımaktadır.

Bu çalışmada, 128 adet köpek gaita örneğinin 5 (%3.91) adedinde NoV GII bulundu. Bu örneklerde, NoV GI ve GIV için pozitiflik bulunmadı. 123 adet köpek gaita örneğinde NoV GI, GII ve GIV varlığı belirlenmedi. Summa ve ark. (147) özellikle pozitif örneklerin 3 adedinde GII.4 ve 1 adedinde GII.12 bulunduğu ifade etmişlerdir. Mesquita ve ark. (110) 14 Avrupa ülkesinde yaşayan 308 adet köpeğin kan örneklerinde insan NoV GI.1 ve GII.4'e karşı test etmişlerdir. Çalışmada, 20 serum örneğinde (19 adedi GII.4 ve 1 adedi GI.1) pozitiflik belirlenmiştir. Çalışmada köpek gaitalarında elde edilen insan NoV GII %3.91 oranı, Summa ve ark. (147)'nin köpek gaitalarında elde ettikleri insan NoV GII %4.3 oranı ve Martella ve ark. (103)'nin köpek gaitalarında tüm NoV'lara yönelik elde ettikleri %2.2 oranı ile paralellik göstermektedir. Ancak, gerek köpek serum örneklerinde gerekse köpek gaitalarında daha yüksek prevalans sonuçları (Azevedo ve ark. (7) [%11], Di Martino ve ark. (43) [%10.1], Mesquita ve ark. (110) [%40]) elde edilen araştırmalarda mevcuttur.

Çalışmada, Real-Time PCR analizinde pozitif örneklerin Cp (Crossing point) değerlerini 33.20-42.76 (ortalama 39.18) aralığında bulduk. Summa ve ark. (147) Real-Time PCR analizinde pozitif örneklerin Cq (Quantification cycles) değerlerini 23-37 (ortalama 30.98) aralığında bulmuşlardır. Bu sonuçlar birbirilerine yakın düzeylerde bulunmuştur. Bu arada Real-Time PCR'da kullanılan Ct (Treshold cycle), Cq ve Cp ifadeleri birbirileri ile aynı durumları tanımlamaktadırlar.

Summa ve ark. (147) 1 adet İrlanda setteri, 1 adet Dachsund ve 2 adet Poodle ırkında; Soma ve ark. (140) 1 adet Poodle ve 1 adet Borzoi ırkında; bu çalışmada da 2 adet Melez, 1 adet Minyatür Poodle, 1 adet Golden Retriever, 1 adet Rottweiler ırklarında insan NoV GII varlığı belirlendi. Bu üç çalışmanın sonucunda Poodle ırkı ön plana çıkmıştır. En fazla Melez ırkta insan NoV varlığı belirlendi.

Cinsiyete göre enfeksiyon incelendiğinde; Summa ve ark. (147) 3 erkek ve 1 dişide, Soma ve ark. (143) 1 erkek ve 1 dişide, çalışmada 1 erkek ve 4 dişide dağılım belirlenmiştir.

Mesquita ve ark. (110) canine NoV pozitif köpeklerin yüzdesinin 3 yaşına kadar artış gösterdiği, daha sonra azaldığı ve bu durumun yaşlılıkla immunitenin azalmasına bağlı olduğu sonucuna varılmıştır. Summa ve ark. (147) insan NoV GII tespit edilen köpeklerin yaş dağılımını 3 yaşlılarda 1 adet, 5 yaşlılarda 2 adet ve 6 yaşlılarda 1 adet belirlemiştir. Soma ve ark. (143) 2 aylık 2 adet köpek yavrusunda NoV varlığı tespit etmişlerdir. Çalışmamızda, 24-40 ay arasında ortalaması 31.40 ay olan 5 adet köpekte NoV varlığı bulundu. Di Martino ve ark. (43) NoV GII.4 ve GVI.2 için 1 yaşından küçük genç köpeklerde %7-%9 arasında pozitiflik, 12 yaşından daha büyük olan erişkin köpeklerde %15 olarak pozitiflik belirlemiştir. Bu durumlardan farklı olarak, Caddy ve ark (25) 56 farklı ırktan oluşan, ortalama 5.1 yıl yaş aralığındaki veteriner kliniklerine getirilmiş 131 adet köpekte ve yaş ortalaması 5.6 yıl olan sağlıklı görünüme sahip 117 adet köpekte insan NoV varlığı tespit edilemediğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, insan NoV GII tespit edilmiş köpeklerin pet dükkanından, sokak köpeği ve sahipli köpek yavrusu olarak elde edildiği görülmektedir. Bu köpeklerin barınma koşulları orta düzeyde olduğu gözlenmiştir. Ev yemeği artıkları (%60) ve hazır kuru mama (%100) ile beslendikleri belirtilmiştir. %60'ı tam aşılı, %20'si eksik aşılı ve %20'si aşısızdır. Köpeklerin %60'ının gezinti alanı varken, %40'nın bulunmadığı görülmektedir. İnsan NoV GII tespit edilmiş köpeklerin %100'ünün ishalleri ve ishal tedavisi gördüğü ifade edilmiştir.

Köpek sahiplerinin yaş ortalaması 53.4 yıl (min 36, max 62) olarak orta yaşlı ve yaşlı sınıfında yer almaktadır. Köpek sahiplerinin cinsiyetlerinin %80'si erkek ve %20'si kadındır. Köpeklerin yaşadığı evlerin hepsinde çocuk bulunmadığı tespit edildi. Bu durumun tam tersi olarak, Summa ve ark. (147) pozitif tespit edilen köpeklerin evlerinde küçük çocukların yaşadığını belirtmişlerdir. İnsan NoV'ların çocuklardan hayvanlara bulaşmasının, çocukların evde yüzeylere ve yataklara kontrolsüz kumaları sonucu bulaşmanın olabildiğini ifade etmişlerdir. Çalışmamızda, köpek beslenmesi ile ilgili %80 babanın, %20 annenin ilgilendiği işaretlenmiştir. İnsan NoV GII tespit edilmiş köpeklerde, köpek sahiplerinin orta yaşlı ve yaşlı sınıfında yer alan ve çoğunluğunun erkek olması bakım, besleme ve hijyen koşullarının iyi olmadığını göstermektedir.

İnsan NoV GII tespit edilmiş köpeklere bakım öncesinde sahiplerinin kişisel el yıkama alışkanlığının %40 nadiren, %40 hayır ve %20 her zaman seçenekleri oranları ile ifade edilmiştir. Bakım öncesinde sahiplerinin kıyafet değiştirme alışkanlıklarının %60'ında hiçbir zaman, %40'ında bazen olduğu belirlendi. Bakım sonrasında sahiplerinin kişisel el yıkama alışkanlığının %40'ında hiçbir zaman, %40'ında bazen, %20'sinde her zaman olduğu görüldü. Köpek sahiplerinin köpek bakımı sonrasında kıyafet değiştirme alışkanlıklarının %60'ında hiçbir zaman ve %40'ında bazen olarak cevap verildi. Örnekleme yapıldığı dönemde evde yaşayan bireyler arasında son 72 saatte ishal olgusu görülmediği ifade edildi. Buradan elde edilen veriler doğrultusunda insan NoV GII tespit edilmiş köpeklerin sahiplerinin genel olarak köpeklerle olan bakım öncesi ve sonrası el yıkama ve kıyafet değiştirme alışkanlıklarının olmadığı görüldü.

İnsan NoV'ların hücrelere girebilmesi için ilk olarak HBGAs olarak bilinen kompleks karbonhidratlara bağlanması gerekmektedir (99). Eritrositlerde olduğu gibi gastrointestinal, genitoüriner ve solunum sistemi organlarının epitel hücre yüzeylerinde HBGAs da çoğaltılırlar ve salya dahil vücut sıvıları içindeki hücreler tarafından salınırlar (98). İnsan NoV etkenlerin HBGAs bağlanarak hücrelere girdiği deneysel olarak ispatlanmıştır. Gastrointestinal sistemde HBGAs çoğalmı ile insan NoV arasında duyarlılık olduğu ortaya konmuştur (70, 95).

İnsan NoV'ların köpeklere duyarlı olduğu için köpeklerin gastrointestinal organlarında HBGAs çoğalmaktadır. Köpek kan tipleri insan sistemlerine benzememesine rağmen insan NoV'ları tarafından köpek eritrositleri hemagglutine edilmezler (71). Şu an için köpeklerin salyalarında ve barsak epitel hücre yüzeylerinde HBGAs üretimi gösterilmiştir (22).

Hastalıkların, hayvanlardan insanlara veya insanlardan hayvanlara geçişinde temas önemli bir geçiş yoludur. Köpeklerin bakımı sırasında kişilerin davranışları özellikle zoonotik hastalıkların bulaşması açısından önemlidir. NoV'ların insan ve hayvanlar arasında zoonoz geçişine yönelik yeterli döküman bulunmamaktadır. Ancak, birkaç çalışma potansiyel olarak geçişin olabileceğini göstermektedir. Canine NoV ile ilgili son gözlemler insan NoV ile aynı hücresel reseptörleri kullandığı ve teorik olarak hayvan NoV'ların insanlara geçişinin mümkün olduğu yönündedir. Nitekim veteriner hekimlerde anti-canine NoV antikorlarının tespiti bu geçişi

gösteren örneklerden biridir (78). Ayrıca, bu durumun tam tersi hayvanların (sığır, domuz ve köpek) gaitalarında insan NoV varlığının tespit de benzer şekilde yorumlanmaktadır (25, 106, 126). Amerika ve Avrupa'daki köpek sahiplerinin %45'inin yataklarını köpekleri ile paylaştığı ve bu kişilerde zoonoz etkenlerin bulunabileceği bildirilmiştir (36). NoV'ların ve diğer etkenlerin, hayvan sahiplerinin köpeklerini ağızlarından öpmeleri veya köpeklerin sahiplerini yalaması sonucu bulaşabileceği ifade edilmiştir (36). NoV ile enfekte insanların gaitalarından yoğun virus saçılımı ve enfeksiyonun akut fazında meydana gelen kusmalar bulaşmada etkilidir (125). Ev içi veya dışındaki yüzeylerde meydana gelen bulaşmalar, bu bulaşıkların temizlenmemesi ve temizlikte güçlü dezenfektanlar uygulanmaması etkenin saçılımda önem arz etmektedir (172). Köpeklerin dışarıdaki gezintilerinde kürkleri, ağız ve burunları, ayak patileri etkenin insan, hayvan ve çevre bulaşmasında oldukça önemlidir (147).

Bu çalışmada, insan NoV ile enfekte köpeklerde yaşam alanlarından, çevreden, yemek atıklarından ve el-ağız-vücut teması ile bulaşmanın olduğu düşünülmektedir. Özellikle tuvalet, kanalizasyon, köpek sahiplerinin yemek artıkları, ev-çevre gezinti alanları, köpek ve köpek sahibi arasındaki yakın temas başlıca en önemli nedenler olarak tahmin etmekteyiz.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada evde beslenen, sahipli, farklı yaş, ırk ve cinsiyetteki 128 adet köpeğin gaita örneğinde İnsan NoV GI, GII ve GIV varlığı Real-Time PCR ile araştırıldı. Ayrıca, köpeklerin dışkı örnekleri toplanması sırasında sahiplerine birer anket uygulandı. Ankette köpeklere ait (yaş, ırk, beslenme şekli, ishal için tedavi ve aşılama durumu) bilgiler, köpeğin yaşam koşulları ve gezinti alanı varlığı sorgulandı. Aynı ankette, köpekle aynı evde yaşayan kişilerin yaş, cinsiyet ve çocuk varlığı, köpeği besleyen kişinin bakım sırasındaki tutumları ve evde yaşayan kişilerde son 72 saatte ishal varlığı sorgulandı.

Çalışma sonucunda, 128 adet köpek gaita örneğinin 5 (%3.91) adedinde insan NoV GII bulundu. NoV GII bulunan örneklerde NoV GI ve GIV için pozitiflik belirlenmedi. Diğer 123 adet köpek gaita örneğinde NoV GI, GII ve GIV varlığına rastlanmadı. Elde ettiğimiz sonuçlar son yıllarda yapılmış bu tür bir kaç çalışma ile paralellik göstermiştir. Bu araştırma, Ülkemizde bu yönlü yapılan ilk çalışma özelliğini taşımaktadır.

Bu çalışmada, insan NoV varlığı en fazla Melez ırkı, dişi ve 24 ay ve üzeri köpeklerde belirlendi. İnsan NoV GII tespit edilmiş köpeklerin pet dükkanından, sokak köpeği ve sahipli köpek yavrusu olarak elde edinildiği belirlendi. Köpeklerin barınma koşulları orta düzeyde olduğu gözlemlendi. Ev yemeği artıkları ve hazır kuru mama ile beslendikleri tespit edildi. Çoğunluğunun tam aşılı olduğu ve gezinti alanlarının bulunduğu görüldü. İnsan NoV GII tespit edilmiş köpeklerin %100'ünün ishali ve ishal tedavisi gördüğü ifade edildi.

İnsan NoV GII tespit edilmiş köpeklerin sahiplerinin genel olarak köpeklerle olan bakım öncesi ve sonrası el yıkama ve kıyafet değiştirme alışkanlıklarının olmadığı görüldü. Bu nedenle köpeklerin barınma koşullarının, besin öğelerinin, yaşam alanlarının, çevre ile olan ilişkilerinde temizlik ve hijyen koşullarına azami ölçüde dikkat edilmesi gerekmektedir. Köpek sahiplerinin kişisel hijyenleri, köpekle temaslarda kıyafet değiştirme zorunluluğu, köpek için hazırlanan ortam, bakım ve besleme de gösterilecek hassasiyet, güçlü ve etkili dezenfektanların kullanımı, tuvalet ve kanalizasyondan köpeklerin uzak tutulması ve yemek artıklarının verilmemesi gibi bazı temel önlemler alınmalıdır.

Çalışma sonucunda insan NoV GII tespit edilmiş köpeklerde, köpek sahiplerinin orta yaşlı ve yaşlı sınıfında yer aldığı ve çoğunluğunun erkek olduğu, bu evlerde hiç çocuk bulunmadığı belirlendi. Köpeklerin evin bir bireyi olarak çocuk yerine konulmuş olduğu tahmin edildiğinden, bu köpekler ile sahiplerinin çok yakın temasta bulunması (beraber yemek yemek, sarılmak, öpmek vb.) doğaldır. Bu bağlamda, köpek ve sahiplerinin yakın ilişkileri neticesinde temas yoluyla köpeklerde görülmeyen NoV GII'nin insanlardan köpeklere bulaşması muhtemeldir.



7. KAYNAKLAR

1. **Albayrak N, Yağcı-Çağlayık D, Altaş AB, Korukoğlu G, Ertek M** (2011): Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Viroloji Referans ve Araştırma Laboratuvarı, 2009 yılı akut viral gastroenterit verilerinin değerlendirilmesi. *Turk Hij Den Biyol Derg.*, **68(1)**: 9-15.
2. **Altay A, Bozdayı G, Meral M, Bilge YD, Dalgıç B, Özkan S, Ahmed K** (2013): Akut gastroenterit nedeniyle Ankara'da iki farklı hastaneye başvuran 0-5 yaş arası çocuklarda Norovirus enfeksiyonu sıklığının araştırılması. *Mikrobiyol Bul.*, **47**, 98-108.
3. **Ando T, Noel Js, Frankhauser RL** (2000): Genetic Classification of Norwalk-like Viruses. *J Infect Dis.*, **181**: 336-348.
4. **Aron J, Hall AJ, Wikswo ME, Pringle K, Gould LH, Parashar UD** (2014): Vital Signs: Foodborne Norovirus Outbreaks-United States, 2009-2012. *MMWR.*, **63(22)**: 491-495.
5. **Atmar RL, Estes MK** (2006): The epidemiologic and clinical importance of norovirus infection. *Gastroenterol Clin North Am.*, **35**, 275-290.
6. **Atmar RL, Estes MK** (2009): *Human Caliciviruses*. Ed (s): RICHMAN DD, WHITLEY RJ, HAYDEN FG, Clinical virology, ASM Press, Washington DC, pp: 1109-1126.
7. **Azevedo M, Mullis L, Vegas E, Britt J, Pereira O, Silva C, Vinjé J** (2012): *Detection of norovirus in dogs in Arkansas*. American Society of Virology Conference, Wisconsin, p: 23-30.
8. **Baldi F, Bianco MA, Nardone G, Pilotto A, Zamparo, E** (2009): Focus on acute diarrhoeal disease. *World J Gastroenterol.*, **15**, 3341-3348.
9. **Barclay L, Park GW, Vega E, Hall A, Parashar U, Vinje J, Lopman B** (2014): Infection Control for Norovirus. *Clin Microbiol Infect.*, **20**: 731-40.
10. **Barker J, IB Vipond, SF Bloomfield** (2004): Effects of cleaning and disinfection in reducing the spread of Norovirus contamination via environmental surfaces. *J Hosp Infect.*, **58**, 42-49.
11. **Batten CA, Clarke IN, Kempster SL, Oliver SL, Bridger JC, Lambden PR** (2006): Characterization of a cross-reactive linear epitope in human

- genogroup I and bovine genogroup III norovirus capsid proteins. *Virology.*,**356**, 179–187.
12. **Belliot G, Sosnovtsev SV, Mitra T, Hammer C, Garfield M, Green KY** (2003): In Vitro Proteolytic Processing of The MD145Norovirus ORF1 Nonstructural Polyprotein Yields Stable Precursors and Products Similar to Those Detected in Calicivirus-infected Cells. *J Virol.*,**77**: 10957-10974.
 13. **Bertolotti-Ciarlet A, Crawford SE, Hutson AM, Estes MK** (2003): The 3' End of Norwalk Virus mRNA Contains Determinants That Regulate The Expression and Stability of The Viral Capsid Protein VP1: A Novel Function for The VP2 Protein. *J Virol.*,**77**: 11603-11615.
 14. **Bok K, Parra GI, Mitra T, Abente E, Shaver CK, Boon D, Engle R, Yu C, Kapikian AZ, Sosnovtsev SV, Purcell RH, Green KY** (2011): Chimpanzees as an animal model for human norovirus infection and vaccine development. *Proc Natl Acad Sci U S A.*,**108**, 325-330.
 15. **Bresee JS, Widdowson MA, Monroe SS, Glass RI** (2002): Foodborne viral gastroenteritis: challenges and opportunities. *Clin Infect Dis.*, **35**, 748-753.
 16. **Brian WJ, Mahy VM** (2005): Topley and Wilson's microbiology and microbial infections,10th edition, Hodder Arnold Company, London, p: 1-7408.
 17. **Bridger JC, Hall GA, Brown JF** (1984): Characterization of a calicilike virus (Newbury agent) found in association with astrovirus in bovine diarrhea. *Infect Immun.*,**43**, 133–138.
 18. **Bucardo-Rivera F** (2008): Pediatric rotavirus and norovirus diarrhea in Nicaragua. Ph. Thesis. Department of Microbiology, Tumor and Cell Biology (MTC), Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden. pp. 1-71.
 19. **Buh Gasparic M, Cankar K, Zel J, Gruden K** (2008): Comparison of different real-time PCR chemistries and their suitability for detection and quantification of genetically modified organisms. *BMC Biotechnol.*,**8**, 26.
 20. **Bull RA, Tanaka MM, White PA** (2007): Norovirus recombination. *J Gen Virol.*,**88**, 3347-3359.

21. **Bull RA, Tu ET, McIver CJ, Rawlinson WD, White PA** (2006): Emergence of a new norovirus genotype II.4 variant associated with global outbreaks of gastroenteritis. *J Clin Microbiol.*,**44**, 327-333.
22. **Caddy S.** Can Noroviruses Be Zoonotic?. Erişim: (<https://www1.imperial.ac.uk/resources/DB493701-57D6-43A6-B369-B47BE72C6798/sarahcaddyswinningessay.pdf>) Erişim tarihi: 18.04.2017.
23. **Caddy S, Breiman A, le Pendu J, Goodfellow I** (2014): Genogroup IV and VI canine noroviruses interact with histo-blood group antigens. *J Virol.*, **88**:10377–10391.
24. **Caddy S, Emmott E, El-Attar L, Mitchell J, de Rougemont A, Brownlie J, Goodfellow I** (2013): Serological Evidence for Multiple Strains of Canine Norovirus in the UK Dog Population. *PLoS ONE*, **8(3)**: e81596.
25. **Caddy SL, de Rougemont A, Emmott E, El-Attar L, Mitchell JA, Hollinshead M, Belliot G, Brownlie J, Le Pendu J, Goodfellowa I** (2015): Evidence for Human Norovirus Infection of Dogs in the United Kingdom. *J Clin Microbiol.*, **53**:1873–1883. doi:10.1128/JCM.02778-14.
26. **Carlsson B, Lindberg AM, Rodriguez-Diaz J, Hedlund KO, Persson B, Svensson L** (2009): Quasispecies dynamics and molecular evolution of human norovirus capsid P region during chronic infection. *J Gen Virol.*, **90**, 432-441.
27. **Caul EO** (1994): Small round structured viruses: Airborne transmission and hospital control. *Lancet.*,**343**, 1240-1242.
28. **Caul EO, Appleton H** (1982): The electron microscopical and physical characteristics of small round human fecal viruses: an interim scheme for classification. *J Med Virol.*,**9**, 257-265.
29. **Center for Disease Control and Prevention** (2002): Outbreak of acute gastroenteritis associated with Norwalk-like viruses among British military personnel-Afghanistan. *MMWR* **51**, 477–479.
30. **Centre for Disease Control and Prevention**(2017a): Norovirus. Erişim: (<https://www.cdc.gov/norovirus/index.html>). Erişim tarihi: 18.04.2017.
31. **Centre for Disease Control and Prevention.** (2017b): Norovirus for public health professional. Erişim: (<https://www.cdc.gov/norovirus/php/illness-outbreaks.html>).Erişim tarihi: 18.04.2017.

32. **Chadwick PR, McCann R** (1994): Transmission of SRSV by vomiting during a hospital outbreak of gastroenteritis. *J Hosp Infect.*,**26**, 251-259.
33. **Chan MC, Ho WS, Sung JJ** (2011): *In vitro* whole-virus binding of a norovirus genogroup II genotype 4 strain to cells of the lamina propria and Brunner's glands in the human duodenum. *J Virol.*,**85**, 8427-8430.
34. **Chang KO, Geroche DW** (2007): Interferons and ribavirin effectively inhibit Norwalk virus replication in replicon-bearing cells. *J Virol.*,**22**, 12111-12118.
35. **Cheetham S, Souza M, Meulia T, Grimes S, Han MG, Saif LJ** (2006): Pathogenesis of a genogroup II human norovirus in gnotobiotic pigs. *J Virol.*,**80**, 10372–10381.
36. **Chomel B, Sun B** (2011): Zoonoses in the bedroom. *Emerg Infect Dis.*,**17**: 167–72.
37. **Chung JY** (2012): Noroviruses: Recent updates. *Pediatric Gastroenterol Hepatol Nutr.*,**15**, 1-7.
38. **Clay S, Maherchandani S, Malik YS, Goyal SM** (2006): Survival on uncommon fomites of feline calicivirus, a surrogate of noroviruses. *Am J Infect Dis.*,**34**, 41-43.
39. **Çan G, Yavuzylmaz A, Çınarka H, Dereli M, Topbaş M, Özgün Ş** (2011): Trabzon İli Sürmene İlçesi Norovirüs Salgını İncelemesi-Temmuz 2010. *TAF Prev Med Bull.*,**10**, 501-510.
40. **De Bruin E, Duizer E, Vennema H, Koopmans MP** (2006): Diagnosis of norovirus outbreaks by commercial ELISA of RT-PCR. *J Virol Methods* 137, 259-264.
41. **Deng Y, Batten CA, Liu BL, Lambden PR, Elschner M, Gunther H, Otto P, Schnurch P, Eichhorn W, Herbst W, Clarke IN** (2003): Studies of epidemiology and seroprevalence of bovine noroviruses in Germany. *J Clin Microbiol.*,**41**, 2300–2305.
42. **Di Felice E, Mauroy A, Dal Pozzo F, Thiry D, Ceci C, Di Martino B, Marsilio F, Thiry E** (2016): Bovine Noroviruses: A Missing Component of Calf Diarrhoea Diagnosis". *Vet J.*, **207**: 53–62. DOI: 10.1016/j.tvjl.2015.10.026

43. **Di Martino B, Di Profio F, Melegri I, Sarchese V, Massirio I, Palermo G, Romito G, Lorusso E, Lanave G, Bodnar L, Bunavoglia C, Marsilio F, Green KY, Martella V** (2017): Seroprevalence for Norovirus Genogroup II, IV and VI in Dogs. *Vet Microbiol.*, **203**: 68-72. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.03.006>.
44. **Dimitriadis A, Marshall JA** (2005): Evaluation of a commercial enzyme immunoassay for detection of norovirus in outbreak specimens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.*, **24**, 615-618.
45. **Dou D, He G, Mandadapu SR, Aravapali S, Kim Y, Chang Ko, Groutas EC** (2012): Inhibition of noroviruses by piperazine derivatives. *Bioorg Med Chem Lett.*, **22**, 377-379.
46. **Doultree JC, Druce JD, Birch CJ, Bowden DS, Marshall JA** (1999): Inactivation of feline calicivirus, a Norwalk virus surrogate. *J Hosp Infect.*, **41**, 51-57.
47. **Duizer E, Bijkerk P, Rockx B, De Groot A, Twisk F, Koopmans M** (2004): Inactivation of caliciviruses. *Appl Environ Microbiol.*, **70**, 4538-4543.
48. **Duizer E, Schwab KJ, Neill FH, Atmar RL, Koopmans MP, Estes MK** (2004): Laboratory efforts to cultivate noroviruses. *J Gen Virol.*, **85**, 79-87.
49. **Erol İ** (2016): Yeni ve Yeniden Önem Kazanan Gıda Kaynaklı Bakteriyel Zoonozların Epidemiyolojisi. *Vet Hekim Der Derg.*, **87(2)**: 63-76.
50. **Fankhauser RL, Monroe SS, Noel JS, Humphrey CD, Bresee JS, Parashar UD, Ando T, Glass RI** (2002): Epidemiologic and molecular trends of "Norwalk-like viruses" associated with outbreaks of gastroenteritis in the United States. *J Infect Dis.*, **186**, 1-7.
51. **Fankhauser RL, Noel JS, Monroe SS, Ando T, Glass RI** (1998): Molecular Epidemiology of "Norwalk - like viruses" in outbreaks of gastroenteritis in the United States. *J Infect Dis.*, **178**, 1571-1578.
52. **Farkas T, Nakajima S, Sugieda M, Deng X, Zhong W, Jiang X** (2005): Seroprevalence of noroviruses in swine. *J Clin Microbiol.*, **43**, 657-661.
53. **Fretz R, Beuret C, Svoboda P, Tanner M, Baumgartner A** (2005): Phylogenetic analyses of norovirus isolates from human stool samples, mineral waters and oysters in Switzerland. *Mitt Lebensm Hyg.*, **96**, 298-310.

54. **Gallimore CI, Taylor C, Gennery AR, Cant AJ, Galloway A, Miren Iturriza-Gomara MI, Gray JJ** (2006): Environmental monitoring for gastroenteric viruses in a pediatric primary immunodeficiency unit. *J Clin Microbiol.*,**44**, 395-399.
55. **Glass IR, Noel J, Ando T, Fankhauser R, Belliot G, Mounts A, Parashar UD, Bresee JS, Monroe SS** (2000): The epidemiology of enteric Caliciviruses from humans: a reassessment using new diagnostics. *J Infect Dis.*,**181**, 254-261.
56. **Glass IR, Noel J, Mitchell D, Herrmann JE, Blacklow NR, Pickering LK, Dennehy P, Ruiz-Palacios G, de Guerrero ML, Monroe SS** (1996): The changing epidemiology of astrovirus-associated gastroenteritis: a review. *Arch Virol.*,**12**, 287-300.
57. **Green KY** (2014): Norovirus Infection in Immunocompromised Host. *Clin Microbiol Infect.*, **20**: 717-23.
58. **Grote D** (2013): Astrovirus and norovirus infection in a paediatric setting. Ph. Thesis. Department of Infectious Diseases and Microbiology, CHW, Discipline of Paediatrics and Child Health, The University of Sydney. pp. 1-119.
59. **Gunther H, Otto P** (1987): Diarrhea in young calves. 7. "Zackenvirus" (Jena agent 117/80) – a new diarrhea pathogen in calves. *Arch Exp Vet.*,**41**, 934–938.
60. **Guyton A, Hall J** (2000): *Textbook of Medical Physiology*, W.B. Saunders Company, Philadelphia, p: 1-1120.
61. **Hansen S, Stamm-Balderjahn S, Zuschneid I, Behnke M, Ruden H, Vonberg RP, Gastmeier P** (2007): Closure of medical departments during nosocomial outbreaks: data from a systematic analysis of the literature. *J Hosp Infect.*, **65**, 348-353.
62. **Haramoto E, Katayama H, Ohgaki S** (2004): Detection of noroviruses in tap water in Japan by means of a new method for concentrating enteric viruses in large volumes of freshwater. *Appl Environ Microbiol.*,**70**, 2154-2160.
63. **He Z, Liu B, Tao Y, Li C, Xia M, Zhong W, Jiang X, Liu H, Tan M** (2017): Norovirus GII.17 Natural Infections in Rhesus Monkeys, China. *EID.*, **23**(2): 316-19. DOI:<http://dx.doi.org/10.3201/eid2302.161077>.

64. **Hodges K, Gill R** (2010): Infectious diarrhea: Cellular and molecular mechanisms. *Gut Microbes* **1**, 4-21.
65. **Hogbom M, Jager K, Robel I, Unge T, Rohayem** (2009): The active form of the norovirus RNA-dependent RNA polymerase is a homodimer with cooperative activity. *J Gen Virol.*,**90**, 281-291.
66. **Hsu CC, Wobus CE, Steffen EK, Riley LK, Livingston RS** (2005): Development of a microsphere-based serologic multiplexed fluorescent immunoassay and a reverse transcriptase PCR assay to detect murine norovirus 1 infection in mice. *Clin Diagn Lab Immunol.*,**12**, 1145–1151.
67. **https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/positive-sense-rna-viruses-2011/w/posrna_viruses/253/caliciviridae**.Erişim tarihi: 15.02.2017.
68. **https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/positive-sense-rna-viruses-2011/w/posrna_viruses/254/caliciviridae-figures**. Erişim tarihi: 26.04.2017.
69. **https://www.researchgate.net/publication/281053477_Caliciviridae_Virus_taxonomy_the_classification_and_nomenclature_of_viruses**.Erişim tarihi: 12.01.2017.
70. **Hutson AM, Airaud F, LePendou J, Estes MK, Atmar RL** (2005): Norwalk virus infection associates with secretor status genotyped from sera. *J Med Virol.*, **77**:116–120.
71. **Hutson AM, Atmar RL, Marcus DM, Estes MK**(2003): Norwalk virus-like particle hemagglutination by binding toHhsto-blood group antigens. *J Virol.*, **77**: 405–415.
72. **Ito S, Takeshita S, Nezu A, Aihara Y, Usuku S, Noguchi Y, Yokota S** (2006): Norovirus-associated encephalopathy. *Pediatr Infect Dis J.*, **25**, 651-652.
73. **Jiang W, Wang M, Wang K, Estes MK** (1993): Sequence and Genomic Organization of Norwalk Virus. *Virology*, **195**: 51-61.
74. **Kageyama T, Kojima S, Shinohara M, Uchida K, Fukushi S, Hoshino FB, Takeda N, Katayama K** (2003): Broadly reactive and highly sensitive

- assay for Norwalk-like viruses based on real-time quantitative reverse transcription-PCR. *J Clin Microbiol.*,**41**, 1548-1557.
75. **Kapikian AZ, Chanock RM** (1996): *Norwalk group viruses in Fields Virology*, 3rd edition, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, p: 783-810.
76. **Kapikian AZ, Wyatt RG, Dolin R, Thornhill TS, Kalica AR, Chanock RM** (1972): Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J Virol.*,**10**,1075-1081.
77. **Karst SM, Wobus CE, Lay M, Davidson J, Virgin HW** (2003): STAT1-dependent innate immunity to a Norwalk-like virus. *Science***299**, 1575–1578.
78. **Karst SM, Zhu S, Goodfellow IG** (2015): The Molecular Pathology of Noroviruses. *J Pathol.*,**235**: 206-216.
79. **Katayama K, Hansman GS, Oka T, Ogawa S, Takeda N** (2006): Investigation of norovirus replication in a human cell line. *Arch Virol.*,**151**, 1291-1308.
80. **Katayama K, Shirato-Horikoshi H, Kojima S, Kageyama T, Oka T, Hoshino F, Fukushi S, Shinohara M, Uchida K, Suzuki Y, Gojobori T, Takeda N** (2002): Phylogenetic analysis of the complete genome of 18 Norwalk-like viruses. *Virology.*,**299**, 225-239.
81. **Kele B** (2011): Comparative molecular genetic studies of nucleic acid detection in human noroviruses. Ph. Thesis, Institute of Clinical Microbiology, Albert Szent-Györgyi Clinical Center, Faculty of Medicine, University of Szeged. pp.1-51.
82. **Kele B, Lengyel G, Deak J** (2011): Comparison of an ELISA and two reverse transcription polymerase chain reaction methods for norovirus detection. *Diagn Microbiol Infect Dis.*,**70**, 475-478.
83. **Khan RR, Lawson AD, Minnich LL, Martin K, Nasir A, Emmett MK, Welch CA, Udall JN Jr** (2009): Gastrointestinal norovirus infection associated with exacerbation of inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.*,**48**, 328-333.

84. **Kim MJ, Kim YJ, Lee JH, Lee JS, Kim JH, Cheon DS, Jeong HS, Koo HH, Sung KW, Yoo KH, Choe YH** (2011): Norovirus: a possible cause of pneumotosis intestinalis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.*,**52**, 314-318.
85. **King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz EJ** (2017) Virus Taksonomy Ninth Report of thr International Committee on Taksonomy of Viruses. Erişim: (http://www.ictvonline.org/proposals/Ratification_1998.pdf). Erişim tarihi: 22.03.2017.
86. **Kirkwood CD, Bishop RF** (2001): Molecular detection of human calicivirus in young children hospitalized with acute gastroenteritis in Melbourne, Australia, during 1999. *J Clin Microbiol.*,**39**, 2722-2724.
87. **Kitajima M, Haramoto E, Phanuwat C, Katayama H, Ohgaki S** (2009): Detection of genogroup IV norovirus in wastewater and river water in Japan. *Lett Appl Microbiol.*,**49**, 655–658.
88. **Kurth A, Evermann JF, Skilling DE, Matson DO, Smith AW** (2006): Prevalence of vesivirus in a laboratory-based set of serum samples obtained from dairy and beef cattle. *Am J Vet Res.*,**67**, 114–119.
89. **Kurth A, Skilling DE, Smith AW** (2006): Serologic evidence of vesivirus-specific antibodies associated with abortion in horses. *Am J Vet Res.*,**67**, 1033–1039.
90. **Le Guyader F, Estes MK, Hardy ME, Neill FH, Green J, Brown DW, Atmar RL** (1996): Evaluation of a degenerate primer for the PCR detection of human caliciviruses. *Arch Virol.*,**141**, 2225-2235.
91. **Leclerc H, Schwartzbrod L, Dei-Cas E** (2002): Microbial agents associated with waterborne contaminants. *Crit Rev Microbiol.*,**28**, 371-409.
92. **Lee N, Chan MC, Wong B, Choi KW, Sin W, Lui G, Chan PK, Lai RW, Cockram CS, Sung JJY, Leung WK** (2007): Fecal viral concentration and diarrhea in norovirus gastroenteritis. *Emerg Infect Dis.*,**13**, 1399-1401.
93. **Lee SG, Jheong WH, Suh CI, Kim SH, Lee JB, Jeong YS, Ko G, Jang KL, Lee GC, Paik SY**(2011): Nationwide groundwater surveillance of noroviruses in South Korea, 2008. *App Environ Microbiol.*,**77**, 1466-1474.

94. **Levett PN, Gu M, Luan B, Fearson M, Stubber J, Jamieson F, Petric M** (1996): Longitudinal study of molecular epidemiology of small round-structured viruses in a pediatric population. *J Clin Microbiol.*, **34**, 1497-1501.
95. **Lindesmith L, Moe C, Marionneau S, Ruvoen N, Jiang X, Lindblad L, Stewart P, LePendou J, Baric R**(2003): Human susceptibility and resistance to Norwalk virus infection. *Nat Med.*, **9**:548–553.
96. **Lopman BA, Brown DW, Koopmans M** (2002): Human caliciviruses in Europe. *J Clin Virol.*, **24**, 137–160.
97. **Lopman BA, Reacher MH, Vipond IB, Hill D, Perry C, Halladay T, Brown DW, Edmunds WJ, Sarangi J** (2004): Epidemiology and cost of nosocomial gastroenteritis, Avon, England, 2002- 2003. *Emerg Infect Dis.*, **10**, 1827-1834.
98. **Marionneau S, Cailleau-Thomas A, Rocher J, Le Moullac-Vaidye B, Ruvoën N, Clément M, Le Pendu J**(2001): ABH and Lewis histo-blood group antigens, a model for the meaning of oligosaccharide diversity in the face of a changing world. *Biochimie.*, **83**:565–573.
99. **Marionneau S, Ruvoën N, Le Moullac-Vaidye B, Clement M, Cailleau-Thomas A, Ruiz-Palacois G, Huang P, Jiang X, Le Pendu J**(2002): Norwalk virus binds to histo-blood group antigens present on gastroduodenal epithelial cells of secretor individuals. *Gastroenterology* **122**:1967-1977.
100. **Marks PJ, Vipond IB, Carlisle D, Deakin D, Fey RE, Caul EO** (2000): Evidence for airborne transmission of Norwalk-like virus (NLV) in a hotel restaurant. *Epidemiol Infect.*, **124**, 481-487.
101. **Marshal IA, Hellard ME, Sinclair MI, Fairly CK, Cox BJ, Catton MG, Kelly H, Wright PJ** (2003): Incidence and characteristics of endemic Norwalk-like virus-associated gastroenteritis. *J Med Virol.*, **69**, 568-578.
102. **Martella V, Campolo M, Lorusso E, Cavicchio P, Camero M, Bellacicco AL, Decaro N, Elia G, Greco G, Corrente M, Desario C, Arista S, Banyai K, Koopmans M, Buanavoglia C** (2007): Norovirus in captive lion cub. *Emerg Infect Dis.*, **13**, 1071–1073.
103. **Martella V, Decaro, Lorusso E, Radogna A, Moschidou P, Amorisco F, Lucente MS, Desario C, Mari V, Elia G, Banyai K, Carmichael LE,**

- Buonavoglia C** (2009): Genetic Heterogeneity and Recombination in Canine Noroviruses. *J Virol.*, **83(21)**: 11391-11396. DOI:10.1128/JVI.01385-09.
104. **Martella V, Lorusso E, Decaro N, Elia G, Radogna A, D'Abramo M, Desario C, Cavalli A, Corrente M, Camero M, Germinario CA, Bányai K, Di Martino B, Marsilio F, Carmichael LE, Buonavoglia C** (2008): Detection and Molecular Characterization of a Canine Norovirus. *EID.*, **14(8)**: 1306-1308. DOI:10.3201/eid1408.080062.
105. **Martella V, Pinto P, Buonavoglia C** (2011): Canine Noroviruses. *Vet Clin Small Anim.*, **41**: 1171-81.
106. **Mattison K, Shukla A, Cook A, Pollari F, Friendship R, Kelton D, Bidawid S, Farber JM** (2007): Human Noroviruses in Swine and Cattle. *Emerg Infect Dis.*, **13**, 1184-1188.
107. **Medici MC, Abelli LA, Dodi I, Dettori G, Chezzi C** (2010): Norovirus RNA in the blood of a child with gastroenteritis and convulsions--A case report. *J Clin Virol.*, **48**, 147-149.
108. **Meeroff JC, Schreiber DS, Trier JS, Blacklow NR** (1980): Abnormal gastric motor function in viral gastroenteritis. *Ann Intern Med.*, **92**, 370-373.
109. **Menon VK, George S, Shanti AA, Saravanabavan A, Samuel P, Ramani S, Estes MK, Kang G** (2013): Exposure to human and bovine noroviruses in a birth cohort in southern India from 2002 to 2006. *J Clin Microbiol.*, **51**: 2391-2395.
110. **Mesquita JR, Barclay L, Nascimento MSJ, Vinjé J** (2010): Novel Norovirus in Dogs with Diarrhea. *Emerg Infect Dis.*, **16**: 980-982.
111. **Mochizuki M, Kawanishi A, Sakamoto H, Tashiro S, Fujimoto R, Ohwaki M** (1993): A calicivirus isolated from a dog with fatal diarrhoea. *Vet Rec.*, **132**, 221-222.
112. **Moreno-Espinosa S, Farkas T, Jiang X** (2004): Human caliciviruses and pediatric gastroenteritis. *Semin Pediatr Infect Dis.*, **15**, 237-245.
113. **Moshe S** (2009): Is Norovirus a foodborne or pandemic pathogen? An analysis of the transmission of Norovirus-associated gastroenteritis and the roles of food and food handlers dreyfuss. *Foodborne Path Dis.*, **10**, 1219-1228.

114. **Nazarenko I** (2006): Homogeneous detection of nucleic acids using self-quenched polymerase chain reaction primers labeled with a single fluorophore (LUX primers). *Methods Mol Biol.*, **335**, 95-114.
115. **Nazarenko I, Pires R, Lowe B, Obaidy M, Rashtchian A** (2002): Effect of primary and secondary structure of oligodeoxyribonucleotides on the fluorescent properties of conjugated dyes. *Nucleic Acids Res.*, **30**, 2089-2195.
116. **Niendorf S, Jacobsen S, Faber M, Eis-Hübinger AM, Hofmann J, Zimmermann O, Höhne M, Bock CT**(2017): Steep Rise in Norovirus Cases and Emergence of A New Recombinant Strain GII.P16-GII.2, Germany, Winter 2016. *Euro Surveill.*, **22(4)**: 30447. DOI: <http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.4.304472>
117. **Nilsson M, Hedlund KO, Thorhagen M, Larson G, Johansen K, Ekspong A, Svensson L** (2003): Evolution of human calicivirus RNA in vivo: accumulation of mutations in the protruding P2 domain of the capsid leads to structural changes and possibly a new phenotype. *J Virol.*, **77**, 13117-13124.
118. **Nordgren J, Kindberg E, Lindgren PE, Matussek A, Svensson L** (2010): Norovirus gastroenteritis outbreak with a secretor-independent susceptibility pattern, Sweden. *Emerg Infect Dis.*, **16**, 81-87.
119. **Oliver SL, Batten CA, Deng Y, Elschner M, Otto P, Charpilienne A, Clarke IN, Bridger JC, Lambden PR** (2006): Genotype 1 and genotype 2 bovine noroviruses are antigenically distinct but share a cross-reactive epitope with human noroviruses. *J Clin Microbiol.*, **44**, 992–998.
120. **Oliver SL, Dastjerdi AM, Wong S, El-Attar L, Gallimore C, Brown DW, Green J, Bridger JC** (2003): Molecular characterization of bovine enteric caliciviruses: a distinct third genogroup of noroviruses (Norwalk-like viruses) unlikely to be of risk to humans. *J Virol.*, **77**, 2789–2798.
121. **Ozawa K, Oka T, Takeda N, Hansman GS** (2007): Norovirus infections in symptomatic and asymptomatic food handlers in Japan. *J Clin Microbiol.*, **45**, 3996-4005.
122. **Öztürk F** (2002): *Genel Viroloji*. S.Ü. Vet. Fak., Konya. p:1-204.
123. **Parashar UD, Gibson CJ, Bresse JS, Glass RI** (2006): Rotavirus and severe childhood diarrhea. *Emerg Infect Dis.*, **12**, 304-306.

124. **Parashar UD, Quiroz ES, Mounts AW, Monroe SS, Fankhauser. RL, Ando T, Noel JS, Bulens SN, Beard SR, Li JF, Bresee JS, Glass RI** (2001): Norwalk-like viruses: Public health consequences and outbreak management. *MMWR Recomm Rep.*, **50**, 1-17.
125. **Patel MM, Hall AJ, Vinjé J, Parashar UD** (2009): Noroviruses: a comprehensive review. *J Clin Virol.*, **44**:1–8.
126. **Peasey AE, Ruiz-Palacios GM, Quigley M, Newsholme W, Martinez J, Rosales G, Jiang X, Blumenthal UJ.** (2004): "Seroepidemiology and Risk Factors for Sporadic Norovirus/Mexico Strain". *J Infect Dis.*, **189**: 2027-2036.
127. **Pinto P, Wang Q, Chen N, Dubovi EJ, Daniels JB, Millward LM, Buonavoglia C, Martella V, Saif LJ.** (2012): "Discovery and Genomic Characterization of Noroviruses from a Gastroenteritis Outbreak in Domestic Cats in the US". *PLoS ONE*, **7(2)**: e32739. doi:10.1371/journal.pone.0032739.
128. **Prasad BV, Hardy ME, Dokland T, Bella J, Rossmann MG, Estes MK**(1999): X-ray Crystallographic Structure of The Norwalk Virus Capsid. *Science.*, **286**: 287-290.
129. **Radford AD, Gaskell RM, Hart CA.** (2004): "Human norovirus infection and the lessons from animal caliciviruses". *Current Opinion in Infectious Diseases*: **17(5)**: 471-478.
130. **Ramirez S, Giammanco GM, De Grazia S, Colomba C, Martella V, Arista S** (2008): Genotyping of GI.4 and GI.2 norovirus RT-PCR amplicons by RFLP analysis. *J Virol Methods* **147**, 250-256.
131. **Richards AF, Lopman B, Gunn A, Curry A, Ellis D, Cotterill H, Ratcliffe S, Jenkins M, Appleton H, Gallimore CI, Gray JJ, Brown DW** (2003): Evaluation of a commercial ELISA for detecting Norwalk-like virus antigen in faeces. *J Clin Virol.*, **26**, 109-115.
132. **Richards GP, Watson MA, Fankhauser RL, Monroe SS** (2004): Genogroup I and II noroviruses detected in stool samples by real-time reverse transcription-PCR using highly degenerate universal primers. *Appl Environ Microbiol.*, **70**, 7179-7184.

133. **Rockx B, De Wit M, Vennema H, Vinje J, De Bruin E, Van Duynhoven Y, Koopmans M** (2002): Natural history of human calicivirus infection: a prospective cohort study. *Clin Infect Dis.*,**35**, 246-253.
134. **Rodriguez-Lazaro1 D, Cook N, Ruggeri FM, Sellwood J, Nasser A, Nascimento MSJ, D'Agostino M, Santos R, Saiz JC, Rzezutka A, Bosch A, Girones R, Carducci A, Muscillo M, Kovac̃ K, Diez-Valcarce1 M, Vantarakis A, von Bonsdorff CH, Husman AMR, Hernandez M & van der Poel WHM** (2012): Virus Hazards from Food, Water and Other Contaminated Environments. *FEMS Microbiol Rev.*,**36**: 786–814. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2011.00306.x
135. **Rydell GE** (2009): Norovirus, causative agent of winter vomiting disease, exploits several histo-blood group glycans for adhesion. Institute of Biomedicine Department of Clinical Chemistry and Transfusion Medicine University of Gothenburg, Intellecta Infolog AB, Västra Frölunda, pp. 1-57.
136. **Said MA, Perl TM, Sears CL** (2008): Healthcare epidemiology: gastrointestinal flu: norovirus in health care and long-term care facilities. *Clin Infect Dis.*, **47**, 1202-1208.
137. **Scipioni A, Mauroy A, Vinje J, Thiry E** (2008): Animal noroviruses. *Vet J.*,**178**, 32–45.
138. **Siddia DM, Koo HL, Adachi JA, Viola GM** (2011): Norovirus gastroenteritis successfully treated with nitazoxanide. *J Infect.*,**63**, 394-397.
139. **Siebenga JJ** (2010): A study of norovirus molecular epidemiology: Impact, prevalence, diversity and genetic adaptation. Erasmus University, Ponsen & Looijen B.V., WageningenRotterdam, pp. 1-200.
140. **Siebenga JJ, Beersma MF, Vennema H, van Biezen P, Hartwig NJ, Koopmans M** (2008): High prevalence of prolonged norovirus shedding and illness among hospitalized patients: A model for in vivo molecular evolution. *J Infect Dis.*, 198, 994-1001.
141. **Siebenga JJ, Vennema H, Duizer E, Koopmans MP** (2007): Gastroenteritis caused by norovirus GGII.4, The Netherlands, 1994-2005. *Emerg Infect Dis.*,**13**, 144-146.

142. **Smith AW, Skilling DE, Cherry N, Mead JH, Matson DO** (1998): Calicivirus emergence from ocean reservoirs: zoonotic and interspecies movements. *Emerg Infect Dis.*,**4**, 13–20.
143. **Soma T, Nakagomi O, Nakagomi T, Mochizuki M** (2015): Detection of Norovirus and Sapovirus from diarrheic dogs and cats in Japan. *Microbiol & Immunol.*, **59(3)**: 123–128. doi: 10.1111/1348-0421.12223.
144. **Sözen H, Gönen İ, Beydilli H**(2014): An outbreak of norovirus gastroenteritis in a county in Turkey. *JMID*, **4(1)**: 26-9.
145. **Stephanie MK, Zhu S, Ian GG.** (2015): The Molecular Pathology of Noroviruses. *J Pathol*, **235**: 206-16.
146. **Straub TM, Honer zu Bentrup K, Orsoz-Coghlan P, Dohnalkova A, Mayer BK, Bartholomew RA, Valdez CO, Bruckner-Lea CJ, Gerba CP, Abbaszadegan M, Nickerson CA** (2007): In vitro cell culture infectivity assay for human noroviruses. *Emerg Infect Dis.*,**13**, 396-403.
147. **Summa M, von Bonsdorff CH, Maunula L** (2012): Pet Dogs-A Transmission Route for Human Noroviruses?. *J Clin Virol.*,doi:10.1016/j.jcv.2011.12.014
148. **Takanashi S, Hashira S, Matsunaga T, Yoshida A, Shiota T, Tung PG, Khamrin P, Okitsu S, Mizuguchi M, Igarashi T, Ushijima H** (2009): Detection, genetic characterization, and quantification of norovirus RNA from sera of children with gastroenteritis. *J Clin Virol.*, **44**, 161-163.
149. **Taku A, Gulati BP, Allwood PB, Palazzi K, Hedberg CW, Goyal SM** (2002): Concentration of caliciviruses from food contact surfaces. *J Food Prot.*,**65**, 999-1004.
150. **Tan M, Fang PA, Xia M, Chachiyo T, Jiang W, Jiang X** (2011): Terminal modifications of norovirus P domain resulted in a new type of subviral particles, the small P particles. *Virology***410**, 345-352.
151. **Tan M, Huang P, Xia M, Fang PA, Zhong W, Mcneal M, Wei C, Jiang W, Jiang X** (2011): Norovirus P article, a novel platform for vaccine development and antibody production. *J Virol.*,**85**, 753-764.
152. **Taube S, Jiang M, Wobus CE.** (2010): "Glycosphingolipids as Receptors for Non-Enveloped Viruses". *Viruses*, **2**: 1011-49.

153. **TC Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu.** (2014): Bulaşıcı Hastalıkların Tanısı için Saha Rehberi, Erişim: (<http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr/ums/M-N/Norovirus-enfeksiyonu.pdf>). Erişim tarihi: 03.05.2017
154. **TC Sağlık Bakanlığı.** (2011): Bulaşıcı Hastalıklar Sürveyans ve Kontrol Esasları Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik. 02.04.2011 tarih ve 27893 sayılı Resmi Gazete.
155. **Teunis PF, Moe CL, Liu P, Miller SE, Lindesmith L, Baric RS, Le Pendu J, Calderon RL** (2008): Norwalk virus: How infectious is it? *J Med Virol.*,**80**, 1468-1476.
156. **Thornton AC, Jennings-Conklin KS, McCormick MI** (2004): Noroviruses: Agents in outbreaks of acute gastroenteritis. *Disast Manag Resp.*,**2**, 4-9.
157. **Todd EC, Greig JD, Bartleson CA, Michaels BS** (2007): Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 3. Factors contributing to outbreaks and description of outbreak categories. *J Food Prot.*,**70**, 2199-2217.
158. **Treanor JJ, Dolin R** (2000): *Norwalk virus and other Caliciviruses*.Ed(s): MANDELL GL, BENNETT JE, Principles and practice of infectious diseases 5th editions, Churchill Livingstone, Philadelphia,pp. 1949-1956.
159. **Troeger H, Loddenkemper C, Schneider T, Schreier E, Epple HJ, Zeitz M, Fromm M, Schulzke JD** (2009): Structural and functional changes of the duodenum in human norovirus infection. *Gut*, **58**: 1070-1077.
160. **Trujillo AA, McCaustland KA, Zheng DP, Hadley LA, Vaughn G, Adams SM, Ando T, Glass RI, Monroe SS** (2006): Use of TaqMan real-time reverse transcription-PCR for rapid detection, quantification, and typing of norovirus. *J Clin Microbiol.*,**44**, 1405-1412.
161. **Tu E** (2008): Molecular Epidemiology and Detection of Norovirus. University of New South Wales Sydney NSW Australia, PhD. Thesis, Sydney. pp. 1-150.

162. **Turcios-Ruiz RM, Axelrod P, St John K, Bullitt E, Donahue J, Robinson N, Friss HE** (2008): Outbreak of necrotizing enterocolitis caused by norovirus in a neonatal intensive care unit. *J Pediatr.*,**153**, 339-344.
163. **Urakami H, Ikarashi K, Okamoto K., Abe Y., Ikarashi T., Kono T., Konagaya Y., Tanaka N** (2007): Chlorine sensitivity of feline calicivirus, a norovirus surrogate. *Appl Environ Microbiol.*,**73**, 5679-5682.
164. **Us AD, Ergünay K.** (2012): *Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji*. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınları.
165. **Ushijima H, Fujimoto T, Müller WE, Hayakawa S.** (2014): "Norovirus and Foodborne Disease: A Review". *Food Safety*, **2(3)**: 37-54.
166. **Uyar Y, Çarhan A, Ozkaya E, Ertek M** (2008): Türkiye’de 2008 yılında ortaya çıkan ilk Norovirus salgınının laboratuvar sonuçlarının değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul.*,**42**, 607-615.
167. **Van der Poel WH, van derHeide H, Verschoor F, Gelderblom H, Vinje J, Koopmans MP** (2003): Epidemiology of Norwalk-like virus infections in cattle in The Netherlands. *Vet Microbiol.*,**92**, 297–309.
168. **Vildevall M** (2011): The Norovirus Puzzle: Characterization of human and bovine norovirus susceptibility patterns. PhD. Thesis. Department of Clinical and Experimental Medicine, Linköping University, Sweden. pp. 1-58.
169. **Vinje J, Hamidjaja RA, Sobsey MD** (2004): Development and application of a capsid VP1 (region D) based reverse transcription PCR assay for genotyping of genogroup I and II noroviruses. *J Virol Methods*,**116**, 109-117.
170. **Vinje JH, Vennema L, Maunula CH, von Bonsdorff M, Hoehne E, Schreier A, Richards J, Green D, Brown SS, Beard SS, de Bruin ME, Svensson L, Koopmans MP** (2003): International collaborative study to compare 68 reverse transcriptase PCR assays for detection and genotyping of noroviruses. *J Clin Microbiol.*,**41**, 1423-1433.
171. **Wang QH, Han MG, Cheetham S, Souza M, Funk JA, Saif LJ** (2005): Porcine noroviruses related to human noroviruses. *Emerg Infect Dis.*,**11**, 1874–1881.
172. **Weber D, Rutala W, Miller M, Huslage K, Sickbert-Bennett E** (2010): Role of hospital surfaces in the transmission of emerging health care-associated

- pathogens: Norovirus, *Clostridium difficile*, and *Acinetobacter* species. *Am J Infect Control*, **38**: 25–33.
173. **White PA, Hansman GS, Li A, Dable J, Isaacs M, Ferson M, McIver CJ, Rawlinson WD** (2002): Norwalk-like virus 95/96-US strain is a major cause of gastroenteritis outbreaks in Australia. *J Med Virol.*,**68**, 113-118.
174. **Widdowson MA, Cramer EH, Hadley L, Bresee JS, Beard RS, Bulens SN, Charles M, Chege W, Isakbaeva E, Wright JG, Mintz E, Forney D, Massey J, Glass RI, Monroe SS** (2004): Outbreaks of acute gastroenteritis on cruise ships and on land: identification of a predominant circulating strain of norovirus-United States, 2002. *J Infect Dis.*,**190**, 27-36.
175. **Widdowson MA, Rockx B, Schepp R, van der Poel WH, Vinje J, van Duynhoven YT, Koopmans MP** (2005): Detection of serum antibodies to bovine norovirus in veterinarians and the general population in the Netherlands. *J Med Virol.*,**76**, 119–128.
176. **Wilhelmi I, Roman E, Sanchez-Fauquier A** (2003): Viruses Causing Gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect.*,**9**: 247-262.
177. **William FW** (2013): Norovirus infections-An overview. *Infectious Disease Update***20**, 14-26.
178. **Wise AG, Monroe SS, Hanson LE, Grooms DL, Sockett D, Maes RK** (2004): Molecular characterization of noroviruses detected in diarrheic stools of Michigan and Wisconsin dairy calves: circulation of two distinct subgroups. *Virus Res.*,**100**, 165–177.
179. **Wobus CE, Karst SM, Thackray LB, Chang KO, Sosnovtsev SV, Belliot G, Krug A, Mackenzie JM, Green KY, Virgin HW** (2004): Replication of Norovirus in cell culture reveals a tropism for dendritic cells and macrophages. *PLoS Biol.*,**2**, e432.
180. **Wong D** (2017): Noroviruses.(<http://virology-online.com/viruses/Diarrhoea5.htm>).Erişim tarihi: 17.01.2017.
181. **Xerry J, Gallimore CI, Iturriza-Gomara M, Gray JJ** (2009): Tracking the transmission routes of genogroup II noroviruses in suspected foodborne or environmental outbreaks of gastroenteritis through sequence analysis of the P2 domain. *J Med Virol.*,**81**, 1298-1304.

182. **Yilmaz H, Turan N, Altan E, Bostan K, Yilmaz A, Helps CR, Cho KO** (2011): First Report on The Phylogeny of Bovine Norovirus in Turkey. *Arch Virol.*, **156**: 143-147.
183. **Zheng DP, Ando T, Fankhauser R.L, Beard RS, Glass RI, Monroe SS** (2006): Norovirus classification and proposed strain nomenclature. *Virology.*, **346**, 312-323.



8. EKLER

8.1.EVDE BESLENEN DİYARELİ KÖPEKLERİN DIŞKILARINDA NOROVİRUS ARAŞTIRILMASI ANKETİ

Norovirus; İnsanlarda ve hayvanlarda ishallere neden olan viral etkidir. Sahipli köpekler evin bir bireyi olarak kabul edilmektedir. İnsan ve hayvanları ilgilendiren bu virusün varlığını tespit etmek amacı ile araştırma yapılmaktadır. Çalışma sonuçları yalnızca bilimsel amaçla kullanılacaktır ve kişisel bilgileriniz (isim, telefon v.b.) istenmemektedir. Tüm soruları eksiksiz yanıtlamanız beklenmektedir ve değerlendirme açısından oldukça önemlidir.
Katılımınız için teşekkür ederiz.

Anket Tarihi: .../.../2016

Anket No:

Sahip olduğunuz köpek ile ilgili bilgiler:

1. Köpeğinizin ırkı nedir?		
2. Köpeğinizin cinsiyeti	Erkek	Dişi
3. Köpeğinizin yaşıyılay

4. Köpeğinizi nasıl edindiniz?
 1. Pet dükkânından aldım
 2. Barınaktan edindim
 3. Sokakta buldum
 4. Özel getirttim
 5. Diğer (belirtiniz).....
5. Köpeğinizin barınma koşullarını nasıl tarif edersiniz
 1. Kötü
 2. Orta
 3. İyi
6. Köpeğinizin beslenme şekli (birden fazla şık işaretlenebilir)
 1. Hazır kuru mama
 2. Evde hazırlanan mama
 3. Ev yemeği artıkları
 4. Diğer (belirtiniz).....
7. Köpeğinizin aşılama durumu
 1. Aşılı tam
 2. Eksik aşı
 3. Aşısız
8. Köpeğinizin gezinti alanı var mı?
 1. Var
 - b. Yok
9. Köpeğinizde şu an ishal var mı?
 1. Var
 - b. Yok
10. Köpeğiniz ishal nedeni ile tedavi görüyor mu?
 1. Evet
 - b. Hayır

11. Köpek sahibi ile ilgili bilgiler:

Köpek sahibinin yaşı (yıl)		
Köpek sahibinin yaşı	Erkek	Kadın
Evde çocuk var mı?	Var Var Adet	Yok
1.nci çocuk yaşı		
2.nci çocuk yaşı		
3.ncü çocuk yaşı		
4.ncü çocuk yaşı		

12. Köpeğin beslenmesi ile ilgilenen kişi

1. Anne
2. Baba
3. Çocuk(lar)
4. Diğer (belirtiniz).....

13. Aşağıdaki soruları köpeğinizle temas (gezdirilmesi, temizliği, oyun oynanması, sevilmesi gibi durum olarak değerlendiriniz) sırasında size uygunluk derecesini belirtiniz

	Evet Her zaman	Bazen	Nadiren	Hayır Hiçbir zaman
Köpekle temas etmeden önce ellerimi yıkarım				
Köpekle temas etmeden önce kıyafetlerimi değiştiririm				
Köpekle temas sonrası ellerimi yıkarım				
Köpekle temas sonrası kıyafetimi değiştiririm				

14. Evde yaşayanlar arasında son 72 saat içinde ishal olan var mı?

5. Var
6. Yok

KATILIMINIZ İÇİN TEŞEKKÜRLER

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Sevinç SÖKEL
Doğum Yeri ve Yılı : Ankara 1970
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
Elektronik Posta : drsokel15@gmail.com
İletişim Adresi : Halk Sağlığı Müdürlüğü Yeni Mah. Eski
Antalya Cad. No:24 Burdur



Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Lisans: Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, 1993.

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl (Mesleki Deneyim):

1. TC Sağlık Bakanlığı, 1994-2011
2. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, 2011- Halen devam ediyor.

Yayınları (SCI ve diğer makaleler):

1. Kostakoğlu U, Yılmaz G, Volkan S, Sökkel SK, Kaya S, Köksal İ. (2012): Evaluation of Clinical and Laboratory Predictors of Fatality in Patients With Hantavirus Infection. JMID (Journal of Microbiology and Infectious Diseases) 2(4): 155-159.
2. Sökkel SK, Önal Ö. (2015): Acil Sağlık İstasyonlarında Çalışan Personelin Mesleki Risk Durumları. Journal of Comtemporary Medicine 5(4): 239-244.
3. Sökkel S, Önal Ö. (2016): Birinci Basamak Sağlık Personelinin Mevsimsel İnfluenza Aşısı Hakkındaki Bilgi ve Tutumları. Konuralp Tıp Dergisi 8(1): 41-46.
4. Sökkel S, Kale M.(2015): İnsan ve Hayvan Norovirusları. Ayrıntı Dergisi, 3 (33): 61-65.
5. Sökkel S, Kale M, Hasırcıoğlu S, Yıldırım Y, Saltık HS. (2016): Zika Virus Yeni Bir Pandemi mi?. Ayrıntı Dergisi, 3 (36): 52-56.
6. Sökkel KS, Çoksak A, Erçoban N, Kılınç AS, Temel F. (2012): Burdur Devlet Hastanesi Personelinin Riskli Temas Durumlarının Değerlendirilmesi 15. Ulusal Halk Sağlığı Kongresi 2-6 Ekim 2012, Bursa, Türkiye.

7. Sökel SK, Badıllıoğlu O, Őenbayram S, Bolat G, Temel F. (2012): Burdur İlinde Görölen Zehirlenme Olgularının Değerlendirilmesi. 15. Ulusal Halk Sağlığı Kongresi, 2-6 Ekim 2012, Bursa, Türkiye.
8. Sökel S, Erçoban M, Çil H, Erginbaş E, Kılınç AS. (2013): Sağlık Personelinin Mevsimsel Grip Aşısı ve Hepatit B Aşısı ile İlgili Tutum ve Davranışları 16. Ulusal Halk Sağlığı Kongresi, 27-31 Ekim 2013, Antalya,
9. Sökel S, Badıllıoğlu O, Canıgür S, Őenbayram S. (2013): Akılcı İlaç Kullanımı Konusunda Eczacıların Bilgi Durum Değerlendirmesi, Burdur, 2012. 16. Ulusal Halk Sağlığı Kongresi, 27-31 Ekim 2013, Antalya, Türkiye.
10. Sökel S, Çoksak A, Badıllıoğlu O, Őenbayram S, Erk MM, Teker A. (2013): Evaluation of Vocational Education by Cleaning Staff in The State Hospital, Burdur, 2012. 14th World Sterilization Congress and 8th National Sterilization Disinfection Congress of Turkey, 6-9 November 2013, Antalya,
11. Çoksak A, Gümüő N, Volkan S, Sökel S. (2014): Burdur Devlet Hastanesi Karma Yoğun Bakımda Uygulanan Enfeksiyon Kontrol Programının Etkinlik Araştırması, Hastane İnfeksiyonları Kongresi, 11-15 Nisan 2014, Antalya, Türkiye.
12. Sökel SK, Önal Ö. (2014): Birinci Basamak Sağlık Personelinin Erişkin Bağışıklamasında Mevsimsel İnfluenza Aşısının Bilinirliği ve Tutumlarının Belirlenmesi. 17. Ulusal Halk Sağlığı Kongresi, 20-24 Ekim 2014, Edirne, Türkiye.
13. Özcan H, Erçoban N, Akıner F, Sökel S, Korkmaz S, Yıldırıncı C. (2016): Acil Servise Bağvuran ICD-10'aGöre Psikiyatrik Hastalık Tanısı Alan Hastaların Acil Serviste Değerlendirilmesi. VI. Uluslar arası Sağlıkta Performans ve Kalite Kongresi, "Klinik Süreçlerde Kalite, Teknoloji ve işbirliği" 1-4 Mart 2016, Antalya, Türkiye.
15. Erçoban N, Özcan H, Akıner F, Sökel S, Yıldırıncı C, Salman K, Temel F. (2016): Acil Servise Bağvuran ve Yoğun Bakıma Yatışı Yapılan Hastaların Acil Serviste Bekleme Sürelerinin Mortaliteye Etkisi. VI. Uluslar arası Sağlıkta Performans ve Kalite Kongresi, "Klinik Süreçlerde Kalite, Teknoloji ve işbirliği" 1-4 Mart 2016, Antalya, Türkiye.