



**T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VİROLOJİ ANABİLİM DALI  
VVR-YL-2015-0001**

**GASTROENTERİTLİ HASTALARIN DIŞKI  
ÖRNEKLERİNDE HUMAN BOCAVİRÜS (HBoV)' ÜN  
MOLEKÜLER YÖNTEMLE ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Fadime KAHYAOĞLU**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Sevin KIRDAR**

**AYDIN-2015**

**T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VİROLOJİ ANABİLİM DALI  
VVR-YL-2015-0001**

**GASTROENTERİTLİ HASTALARIN DIŞKI  
ÖRNEKLERİNDE HUMAN BOCAVİRÜS (HBoV)' ÜN  
MOLEKÜLER YÖNTEMLE ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Fadime KAHYAOĞLU**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Sevin KIRDAR**

**AYDIN-2015**

**T.C.**  
**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**AYDIN**

Viroloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Fadime KAHYAOĞLU tarafından hazırlanan “**Gastroenteritli Hastaların Dışkı Örneklerinde Human Bocavirüs (HBoV)’ ün Moleküler Yöntemle Araştırılması**” başlıklı tez, 30/04/2015 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

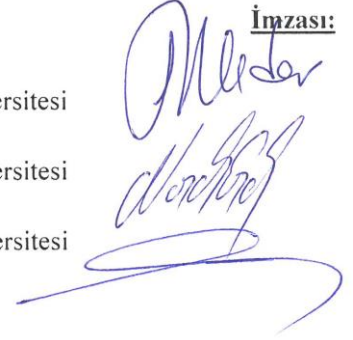
**Ünvanı, Adı ve Soyadı :**

- 1- Doç.Dr. Sevin KIRDAR
- 2- Yrd Doç.Dr. Nural EROL
- 3- Doç. Dr. Murat TELLİ

**Üniversitesi :**

- Adnan Menderes Üniversitesi
- Adnan Menderes Üniversitesi
- Adnan Menderes Üniversitesi

**İmzası:**



Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu (tezin türü) tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun  
..... Sayılı kararıyla (tarih) tarihinde onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü  
Prof. Dr. Ahmet CEYLAN

## ÖNSÖZ

Akut gastroenterit (AGE), 24 saat içinde üçten fazla ya da anne sütü ile beslenen bebeklerde her zamankinden daha sık ve sulu dışkılamadır. Akut gastroenteritler, her yaş grubunda olmakla birlikte özellikle 5 yaş altındaki çocuklarda daha sık görülmekte ve önemli bir ölüm sebebi olarak karşımıza çıkmaktadırlar. Fekal oral yolla bulaşan bu enfeksiyonlar; nüfusun kalabalık, beslenmenin yetersiz ve dengesiz, hijyenik koşulların bozuk olduğu ülkelerde her yıl 10-15 milyon kişinin ölümüne neden olmaktadır.

Dünya’da en sık akut diyare etkeni olarak Rotavirüs görülmekte iken Calicivirüsler (Norovirüsler, Sapovirüsler), Enterik adenovirüsler (Adenovirüs 40,41), Astrovirüsler ve Bocavirüs’ de AGE etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Etiyolojik açıdan rolleri tam olarak bilinmeyen Torovirüs, Coronavirüs, Aichi virüs, Picobirnavirüs, Enterovirüs, Parechovirüs diğer gastroenterit virüsleridir.

Bocavirüs 2005 yılında Allender ve ark tarafından solunum yolu enfeksiyonlu hastaların nazofaringeal aspirat örneklerinde saptanmış ve solunum yolu patojeni olduğu düşünülmüştür. Bu hipotez diğer solunum yolu virüslerinin belirlenemediği hastalarda sadece HBoV’ ün var olmasıyla desteklenmiştir. Son zamanlarda ise dışkı ve kan örneklerinde gösterilmiş olup gastroenterit etkeni olup olmadığı araştırma konusu olmuştur. Ülkemizde dışkı örneklerinde HBoV varlığı ve tiplendirmesi konusunda Mitui ve ark’ larının araştırması dışında çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Çocuk Hastalıkları ve Acil Servis’e akut gastroenterit şüphesi ile başvuran 96 hastaya ait dışkı örneğinde HBoV varlığı ve tiplendirmesi real time PCR yöntemiyle araştırılmıştır. PCR sonuçları kantitatif olarak elde edilmiştir. Miks enfeksiyon varlığı revers transkriptaz (RT)- PCR ile çalışılarak belirlenmiştir.

Bu çalışma, ADÜ- Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu’nun 11.09.2013 tarih ve 56989545/050.04-198 sayılı onayı ve Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TPF-14042 No’ lu proje ile desteklenmiştir.

# İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
KABUL VE ONAY SAYFASI	I
ÖNSÖZ	II
İÇİNDEKİLER	III
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	V
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
1. GİRİŞ	1
1.1. Akut Gastroenterit	1
1.2. AGE Nedeni Olan Virüsler	2
1.2.1. Rotavirüs	2
1.2.2. Enterik Adenovirüsler	6
1.2.3. Norovirüs	7
1.2.4. Astrovirüs	8
1.2.5. Diğer Gastroenterit Yapan Virüsler	9
1.2.6. Bocavirüs	9
1.2.6.1. Tarihçe	9
1.2.6.2. Sınıflandırma	10
1.2.6.3. Morfolojik yapı	11
1.2.6.4. Genom özellikleri	11
1.2.6.5. Replikasyon	14
1.2.6.6. Patogenez	15
1.2.6.7. Epidemiyoloji	16
1.2.6.8. Klinik	17
1.2.6.8.1 Solunum yolu hastalığı ve HBoV	17
1.2.6.8.2. Gastroenterit ve HBoV	18
1.2.6.8.3. İmmün yetmezlikli hastalarda HBoV	18
1.2.6.9. Tanı	18
2. GEREÇ VE YÖNTEM	20
2.1. Gereç	20
2.1.1. Hasta Örneklerinin Toplanması	20
2.1.2. Kullanılan Cihazlar	21

2.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	21
2.2. Yöntem	22
2.2.1. Viral Genomun Ekstraksiyonu	22
2.2.2. Real-Time PCR	23
2.2.2.1. Primerler	23
2.2.2.2. Amplifikasyon İşlemi	23
2.2.3. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi ile Doğrulaması	25
2.2.4. Multipleks RT- PCR	25
3. BULGULAR	27
4. TARTIŞMA	31
5. SONUÇ	36
ÖZET	37
SUMMARY	38
KAYNAKLAR	39
ÖZGEÇMİŞ	49
TEŞEKKÜR	50

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AGE: Akut gastroenterit

RV: Rotavirüs

AdV: Adenovirüs

NoV: Norovirüs

AsV: Astrovirüs

HBoV: Human bocavirüs

ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RT- PCR: Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu

dNTP: Deoksiribonükleozid Trifosfat

MgCl<sub>2</sub>: Magnezyum Klorür

cDNA: Komplementer DNA

pm: pikomol

bç: baz çifti

RNaz: Ribonükleaz

RT tamponu: Revers Transkriptaz tamponu

Ig G: İmmunglobulin G

EAV: Enterik Adenovirüs

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge 2.1.</b> Çalışmaya dahil edilen olguların yaş gruplarının dağılımı .....	21
<b>Çizelge 2.2.</b> HBoV primer dizileri .....	23
<b>Çizelge 2.3.</b> PCR karışımı içeriği.....	24
<b>Çizelge 2.4.</b> Real Time PCR döngü koşulları .....	24



## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Şekil 1.1.</b> Rotavirüs genom yapısı	4
<b>Şekil 1.2.</b> Parvoviridae ailesinde yer alan cinsler	11
<b>Şekil 1.3.</b> HBoV'un şematik görünümü	11
<b>Şekil 1.4.</b> HBoV' un ORF bölgesinden kodlanan proteinleri	12
<b>Şekil 1.5.</b> A; ST1 izolatu, B; ST2 izolatu	13
<b>Şekil 1.6.</b> Filogenetik analiz	14
<b>Şekil 1.7:</b> Human Bocavirüs replikasyonu	15
<b>Şekil 3.1.</b> HBoV pozitif saptanan hastaların amplifikasyon eğrileri	28
<b>Şekil 3.2.</b> HBoV tip 1'e ait amplifikasyon eğrileri	28
<b>Şekil 3.3.</b> HBoV tip 1'e ve pozitif kontrole ait melting eğrileri	29
<b>Şekil 3.4.</b> HBoV pozitif saptanan hastalara ait jel görüntüsü	29
<b>Şekil 3.5.</b> HBoV Tip 1 saptanan hastalara ait jel görüntüsü	30
<b>Şekil 3.6.</b> Multipleks RT-PCR pozitif Rotavirus örneklerin jel görüntüsü	30

# 1. GİRİŞ

## 1.1. Akut Gastroenterit

Akut gastroenterit (AGE), ani başlayan, bulantı, kusma, ishal ve karın ağrısı gibi yakınmalarla seyreden mide ve ince barsak inflamasyonu yapan klinik bir tablodur. Akut gastroenteritler, tüm dünyada yaygın olarak görülen enfeksiyon hastalıkları arasında yer almakta ve ciddi bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır. Özellikle çocuklar hastalıktan etkilenen grupta yer alır. Çocukluk çağı gastroenteritleri, dünyada görülme sıklığı ve ölüm nedenleri arasında alt solunum yolu enfeksiyonlarından sonra ikinci sıklıkta görülür. Gelişmekte olan ülkelerde akut gastroenterit enfeksiyonları, solunum yolları enfeksiyonlarından sonra çocuk morbititesinin ve sağlık harcamalarının önemli bir kısmını oluşturmaktadır (Özkan 2005, Albayrak ve ark 2011).

Akut gastroenterit, akut dehidratasyon ve ölüme neden olma, malnutrisyon ve büyümenin etkilenmesinin yanısıra uygun olmayan ilaç kullanımına da yol açması nedeni ile önem taşımaktadır (Özkan 2005).

Akut gastroenterit her yaş döneminde ortaya çıkabilir, ancak etiyolojik ajanlar ve hastalık şiddeti yaşa ve cinsiyete göre değişkenlik göstermektedir. Akut gastroenterit sporadik olgular veya epidemiler şeklinde görülebilir. Klinik olarak çok hafif seyirden ileri derecede sıvı kaybına kadar değişen geniş klinik spektruma sahiptir. Bulaşma sıklıkla fekal-oral yolla olur. İnfeksiyöz AGE viral, bakteriyel veya paraziter enteropatojenlere bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir. En sık virüsler AGE nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır (Tümgör 2010, Alaşehir ve ark 2014).

1940'lı yıllardan beri etiyolojisi açıklanamayan gastroenterit nedeni olarak virüslerden şüphelenilmiştir. Virüslere bağlı gastroenterit etkenleri ile ilgili çalışmalar, 1970'lerin başında elektron mikroskobunun keşfi ile birçok virüsün ilk örneklerinin keşfi başlamış, ancak bu patojenlerin çoğunun hücre kültüründe üretilmemesi ve bir hayvan modelinin bulunmaması, aynı zamanda bu virüs türlerinin yüksek oranda genetik ve antijene bağlı değişkenlik göstermeleri nedeniyle sınırlı kalmıştır (Tümgör 2010).

İnfeksiyöz diyareye neden olan virüsler Rotavirüsler, Calicivirüsler (Norovirüsler, Sapovirüsler), Enterik adenovirüsler (Adenovirüs 40,41), Astrovirüsler'dir. Etiyolojik açıdan rolleri tam olarak bilinmeyen Torovirüs, Coronavirüs, Aichi virüs, Picobirnavirüs,

Enterovirüs, Parechovirüs diğer gastroenterit virüsleridir. Bocavirüs ise T. Allender ve arkadaşları tarafından 2005 yılında tanımlanmış olan yeni bir gastroenterit etkeni virüstür (Kırdar 2014).

Akut gastroenteritlerde etkenler göz önüne alındığında virüsler %50-70 oranda sorumludur. Akut gastroenterit olguların dışkı örneklerinde HBoV prevalansı %0.5 ile %20 arasında değişmektedir (Kim 2014, Cheng ve ark 2008, Albuquerque ve ark 2007, Chow ve ark 2010, Arthur ve ark 2009, Jin ve ark 2011, Wang ve ark 2011, Monavari ve ark 2013, Proenca ve ark 2014, Romani ve ark 2013, Risku ve ark 2012, Khamrin ve ark 2012). Akut çocukluk çağı gastroenteritlerinde ise bu oranlar RV %10-50, EAV %5-15, AsV %2-10, NoV ise tüm yaş gruplarında %4-30 arasındaki sıklıkta görölmektedir. Gıda hijyeni eksikliği viral gastroenteritlerin en büyük etkenidir. Rotavirüsler <2 yaş çocuklarda sık görülürken, NoV yaş ilerledikçe daha sık görölmektedir (Kırdar 2014).

## **1.2. AGE Nedeni Olan Virüsler**

### **1.2.1. Rotavirüs**

Rotavirüs, 1973 yılında Bishop ve arkadaşları tarafından Avustralya'da akut ishali olan çocukların duodenum biyopsilerinin elektron mikroskobu ile incelenmesiyle keşfedilmiştir. Elektron mikroskobunda tekerlek şeklinde görölmeleri nedeniyle 1978 yılında Uluslararası Virüsleri Adlandırma Komitesi tarafından Latince tekerlek anlamına gelen Rotavirüs ismi verilmiştir (Öztürk ve ark 2008).

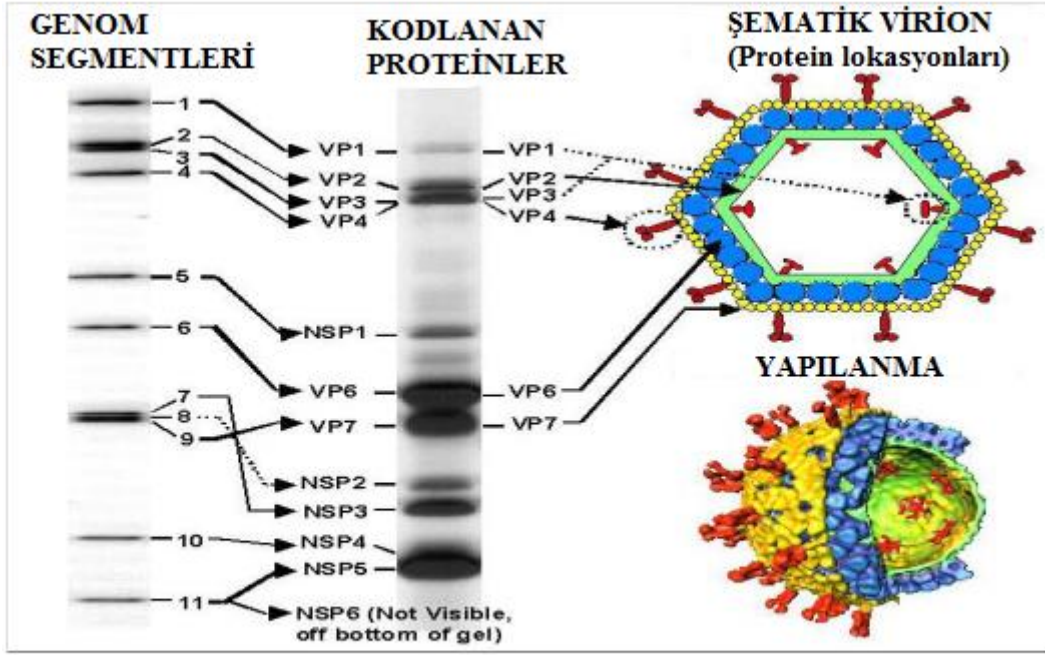
Rotavirüs tüm dünyada beş yaş altı çocuklarda görölen akut gastroenteritlerin en sık nedenidir. Rotavirüse bağlı gastroenteritler gelişmiş ve gelişmekte olan ölkelerde aynı sıklıkta görölmektedir. Gelişmiş ölkelerde hastalığa, gelişmekte olan ölkelerde hem hastalığa hem de ölüme yol açmaktadır. Rotavirüs ishalleri, dünya genelinde her yıl 111 milyon ishal atağına neden olmakta ve 2 milyon çocuk bu nedenle hastaneye yatırılmaktadır. Çoğu gelişmekte olan ölkelerde olmak üzere her yıl 611.000 çocuk hayatını kaybetmektedir (Kurugöl ve Salman 2008, Meral ve ark 2011).

Rotavirüs, *Reoviridae* ailesinde, ikozahedral yapıda, 65-75 nm büyüklüğünde bir RNA virüsüdür. Çift tabakalı kapsidli yapısı vardır. Zarfsız olmalarından dolayı lipid çözücülere karşı direnç gösterirler. Genomu çift iplikli 11 segmentden oluşur. Virüs endositozla hücreye girer ve replikasyon sitoplazmada gerçekleşir.

Genom, altı yapısal (VP1, VP2, VP3, VP4, VP6, VP7) ve altı yapısal olmayan (NSP1, NSP2, NSP3, NSP4, NSP5, NSP6) protein kodlar (Şekil 1.1). İnfektif RV partikülü üç tabakalı (TLP: triple layered particle) olup dış kapsid, iç kapsid ve kor'dan meydana gelir. Kor bölgesinden VP1, VP2 ve VP3 proteinleri oluşur. İç kapsidde yer alan VP6, serogruplarda önem taşır. VP6, antijenik determinant olup nötralizan olmayan antikor yanıtından sorumludur. Dış kapsidde, VP4 ve VP7 proteinleri bulunur ve bu kapsid proteinlerine göre G ve P serotiplerine ayrılır. VP4 ve VP7 proteinlerine karşı nötralizan antikorlar oluşur. Bu proteinler hücreye bağlanma ve girişten sorumludur (Ustaçelebi 1999, Nyugen ve ark 2006, Kırdar 2014).

Rotavirüslerin tiplendirmesinde kapsid proteinlerinin antijenik özelliğine göre rotavirüsler grup, subgrup ve serotiplere ayrılırlar. VP6 proteini, grup ve subgruplamada rol oynar. VP6 proteinindeki farklılıklara göre Rotavirüsler A,B,C,D,E,F,G' ye kadar 7 gruba ayrılır. A,B,C grupları insanlar ve hayvanlarda; D,E,F,G grubu ise hayvanlarda bulunur. Ayrıca VP6 proteinine göre I, II, I+II ve non I, non II olmak üzere dört subgruba ayrılır. Subgrup II diğerlerinden daha sık görülür. VP4 ve VP7 proteinleri serotiplendirmede rol oynar. VP4 ile tanınanlara P serotipleri, VP7 ile tanınanlara G serotipleri denir. Rotavirüs sınıflandırılmasında VP4 ve VP7 tipleri ikili sistem olarak kullanılır. Alternatif olarak G ve P genotiplendirmesine (VP4 ve VP7 genom segmentlerinin dizi analizi) başvurulur. İnsanda rotavirüs infeksiyonlarının %80-95'i G 1-4 serotipleriyle meydana gelir ve en yaygın olan tip G1 serotipidir (Ustaçelebi 1999, Nyugen ve ark 2006).

Tüm dünyada grup A Rotavirüslerinde 23G genotipi (G1-G23), 31P genotipi izlenir. İnsanlarda RV gastroenteriti ile ilişkili en yaygın genotipler G1, 2, 3, 4 ve 9 ve P genotipleri ise P8 ve 4'dür. Beş genotip kombinasyonu insanlarda RV infeksiyonlarında en sık (P1A8G1, P1A8G3, P1A8G4, P1B4G2 ve P1A8G9) görülmektedir. Ülkemizde yapılan RV genotiplendirme çalışmalarında en yaygın genotip ve serotipler G9P8'dir. Dünyada Rotavirüs ishallerinde en sık görülen serotipler; G1P(8) (%54), G2P(4) (%12), G3P(8) (%3),G4P(8) (%9) ve son zamanlarda önem kazanan G9P(8) veG9P(6) (%4) 'dür (Gür 2007, Kurugöl ve Salman 2008, Kırdar 2014).



**Şekil 1.1.** Rotavirüs genom yapısı (Bozdayı 2014)

Ilıman iklim kuşağında en çok kış aylarında ve 2 yaş altı çocuklarda görülen RV ishalleri; gelişmekte olan ülkelerde, gelişmiş ülkelere oranla daha erken dönemde ortaya çıkmakta, klinik olarak daha ağır seyretmekte ve ölüm daha sık görülmektedir. Ülkemizde yılda ~ 3000 RV ishali kaynaklı ölüm olmaktadır. Ağır ishallerin ve ishal kaynaklı hastaneye yatışlarda ishalleri önemli ölçüde ekonomik yük getirmektedir. Genellikle endemiktir, fakat nadiren salgınlardan sorumlu olabilir. 5 yaş altı özellikle 6-24 ay arası çocuklarda daha sık görülür ve bu olgularda diyare daha ağır seyirlidir. Nozokomiyal infeksiyonların %20-60'ından ve seyahat diresinin %20' sinden sorumludur. İnsanlarda etkin suşların çoğu A, B ve C grubundan olup; A grubu çocuklarda fazla, B grubu su orijinli epidemilerde ve Çin'de, C grubu ise yiyecek orijinli olup Avrupa, Asya ve Amerika'da sıklıkla gözlenmektedir (Gür 2007, Sırmatel 2013, Bozdayı 2014, Kırdar 2014).

Rotavirüs başlıca fekal oral yolla bulaşmaktadır. Yakın temas ve ortak kullanılan eşyalarla bulaşabilen etken kalabalık yaşam koşullarında salgınlara yol açmaktadır. Ayrıca kontamine su, yiyecek ve az oranda da olsa damlacık yolu ile de bulaştığı gösterilmiştir. Kuluçka dönemi 12 saat ila 4 gün (1-3 gün) arasındadır. Kusma, ishal ve karın ağrısı ile

karakterize klinik tablo 4-8 gün sürmektedir. Dışkı yolu ile virüs atılımı 10 gün, semptomların düzelmesinden sonra 2-3 gün sürer (Gür 2007, Yasa ve ark 2009, Sırmatel 2013, Bozdayı 2014, Kırdar 2014).

Rotavirüs gastroenteritinin patogeneğinde, virüsün gastrointestinal sisteme geçişi ile ince bağırsak epitelyum yüzeyinde değişiklik, su absorpsiyonunda bozulma, su ve iyon kaybı ile sulu diyare oluşmaktadır. Mekanizma multifaktöryel olup, enfeksiyon incebarsağın proksimalinden başlar ve distale yayılır. Burada laktoz, glikoz ve sodyum malabsorpsiyonu ile kısalmış ve küntleşmiş villuslar izlenir. Olgunlaşmamış enterositlerde disakkaridaz enzimlerinde azalması, şekerlerin lümende osmatik basınç arttırması ile sıvı kaybında artış görülür. Hiperplazik kriptlerinden klor salınımında bu artış lümene sekresyonu arttırır. Enterik sinir sisteminin uyarılması ile su ve elektrolit sekresyonunda artış olmaktadır. NSP4 (viral enterotoksin), ER'dan Ca iyon mobilizasyonu ile hücre içi Ca miktarında artış ve klor sekresyonu uyarılır. Villusu kaplayan enterositler çoğalmayan olgun hücreler olup sindirim ve emilimde rol oynarlar. Rotavirüs bu olgun hücrelerin villus uçlarında çoğalır villus epitelinde kuboidal değişim villuslarda kısalma ve küntleşme görülür (Öztürk ve ark 2008, Ustaçelebi 1999, Kırdar 2014, <http://puader.org.tr>).

Rotavirüs tanısı akut dönemde alınan taze dışkı örneklerinden enzyeme-linked immunosorbent assay" (ELISA), lateks aglütinasyon (LA), immünokromatografi, elektron mikroskopisi ve polimeraz zincir tepkimesi (PCR) gibi yöntemlerle yapılabilmektedir. ELISA yöntemi (Grup A rotavirüs)'nin duyarlılığı %94-97, özgülüğü ise %93-97' dir. LA testi (Grup A rotavirüs)'nin duyarlılığı %85-90, özgülüğü %93-97' dir. Tripsin ile muamele veya besiyerine düşük düzeyde tripsin ilavesi ile hücre kültüründe üretilebilir. Virüs izolasyonunda Maymun böbrek hücre dizisi MA104 ve insan kolon karsinoma hücre dizisi CaCo-2 kullanılabilir (Berk ve Kayman 2011, Schildgen 2013, Alaşehir ve ark 2014, Kırdar 2014).

Akut dönemde dışkıda viral yükün yüksek ( $10^{9-11}$  viral partikül sayısı/ml) olması nedeniyle hastalığın ilk 2-5 gününde dışkı örnekleri alınmalıdır. Semptomların başlangıcından 8 gün sonra toplanan örnekler nadiren virüs içerir. Epidemiyolojik çalışmalarda grup A rotavirüslerin G serotiplerinin belirlenmesi için G1-G4 tip spesifik monoklonal antikoruna dayanan ticari ELISA testleri, G5, G8, G9 ve G10 tiplerinin belirlenmesi için genotipleme testleri kullanılır. Grup A rotavirüs subgrup I ve II için, VP6 antijeni üzerindeki iki farklı epitopa spesifik monoklonal antikor ELISA testi

geliştirilmiştir. Rotavirüs enfeksiyonunun tanısında, dot blot hibridizasyon, RT-PCR, Elektroforetizleme ve Grup A Rotavirüslerinin G ve P genotiplemesini içeren moleküler testler kullanılmaktadır. Serolojik tanısında Rotavirüse karşı oluşan spesifik antikorların; kompleman fiksasyon testi, immunflorasan test, nötralizasyon testi, hemaglutinasyon inhibisyon testi ve ELISA testi ile belirlenmesi mümkündür (Kırdar 2014).

Rotavirüs enfeksiyonu için antiviral tedaviye gerek yoktur. Hastalık genellikle kendiliğinden iyileşir. Dehidratasyon morbidite ve mortalitenin ana nedeni olduğundan sıvı elektrolit dengesinin sağlanması önemlidir. Bu nedenle ishale kaybedilen sıvı ve elektrolitler oral veya gerektiğinde parenteral yolla sağlanmalıdır (Özkasap ve ark 2004, Kurugöl ve Salman 2008).

### **1.2.2. Enterik Adenovirüsler**

*Adenoviridae* ailesinde yer alan zarfsız, 70-90 nm, lineer çift sarmallı DNA virüsüdür. En sık 0-2 yaş grubu çocuklarda gözlenir. Adenovirüsler; solunum yolu enfeksiyonları, faringokonjunktival ateş, epidemik keratokonjunktivit, hemorajik sistit ve merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarına da yol açarlar. Yeni doğan ve küçük çocuklarda diğer virüsler gibi akut gastroenterit etkenidir. Hekzon (cinse özgül antijen) ve fiber (hemaglutinin) antijenlere sahiptir. Hemaglutinasyon özelliklerine göre Adenovirüs' ler A-F aralığında 6 gruba ayrılırlar. F grubu içindeki serotipler 0-3 yaş grubu çocuklarda akut ve uzamış ishal nedeni olarak rotavirüslerden sonra ikinci sırada yer alırlar. İlk kez 1975 yılında insan dışkı örneklerinde tanımlanmıştır. Enterik adenovirüsler tip 40 ve 41, F grubuna aittirler. A grubundan serotip 31, 12, 18; B grubundan serotip 3 ve 7; C grubundan serotip 1, 2, 5 ve 6 daha az sıklıkta görülür (Sırmatel 2013, Kırdar 2014).

Adenovirüsler dünyanın bütün coğrafi bölgelerinde epidemik, endemik ve sporadik enfeksiyonlara neden olurlar. Gastrointestinal sistem enfeksiyonları en sık tip 40 ve 41 ile, tüm yıl boyunca görülür. Süt çocukluğu dönemindeki ishallerin rotavirüslerden sonra ikinci en sık rastlanan etkenidirler. Görülme sıklığı %5-15 arasında değişmektedir. Bulaş fekal-oral yolla olur (Baskın ve ark 1995, Boga ve ark 2004).

Adenovirüs enfeksiyonunun tanısında, elektron mikroskopi, ELISA, nötralizasyon testleri veya virüs izolasyonu için hücre kültürleri kullanılır. Elektron mikroskobisi ve hücre kültüründe virüs izolasyonu uygulaması güç, emek isteyen, zahmetli, zaman alıcı ve duyarlılığının düşük olması nedeniyle bu yöntemlerin kullanımı sınırlıdır. Tanıda antijen

belirleyen testler yaygın olarak kullanılmaktadır. Moleküler tanı testlerinden PCR ve tiplendirmede sekans analizi kullanılabilir (Kırdar 2014).

Enterik adenovirüs enfeksiyonlarının sıklığı, gelişmiş ülkelerde %1 ile %8 gibi görülürken, gelişmekte olan ülkelerde %2 ile %31 arasında değişebilmektedir. Enterik adenovirüsler, bebekler ve çocukların akut ishal salgınları ile yakından ilgilidir. Sporadik enfeksiyonların yanı sıra hastane, bakımevi ve okullarda salgınlar bildirilmiştir (Cruz ve ark 1990, Uhnou ve ark 1990, Wilhelmi ve ark 2003, Carvalho-Costa ve ark 2006, Shimizu ve ark 2007, Verma ve ark 2009).

Enterik adenovirüslere bağlı ishallerde tedavi RV enfeksiyonundakine benzer şekildedir (Stephen ve ark 2004, Cortese ve Parashar 2009, Öktem ve ark 2009).

### **1.2.3. Norovirüs**

İlk defa 1969 yılında Ohio, Norwalk şehrinde gastroenterit olgularında saptanmış, Norwalk Ajanı adı verilmiştir. Kapikian ve arkadaşları tarafından, 1972'de immün elektron mikroskopisinin kullanılmaya başlanmasıyla tanımlanmıştır (Bishop ve ark 1973). Yetişkinlerde ve çocuklarda yaygın bir şekilde gastroenteritlere neden olur. Tüm yaş gruplarında epidemik gastroenteritlerin başlıca nedenlerinden biridir. Özellikle kış mevsimlerinde akut salgınlara sebep olmaktadır. Gelişmiş ülkelerde özellikle küçük çocuklarda hastane başvurularının önde gelen sebeplerinden birini oluştururken, gelişmekte olan ülkelerde önemli bir mortalite sebebidir. Norovirüs tüm gastroenteritlerin ise yaklaşık %50'sinin nedeni olarak bildirilmektedir. En çok kontamine yiyecek ve su kaynaklı gastroenterite neden olur (Bozdayı 2014, Kırdar 2014).

Norovirüs, *Caliciviridae* ailesinde bulunan 30-38 nm büyüklüğünde, ~7,5 kb tek iplikli RNA genomu içeren, zarfsız, pozitif polariteli ve kübik simetrik bir virüsdür. Virüsün yüzeyinde 32 adet kupa(calix) şeklinde çöküntüler bulunur. Genomu üç adet ORF (Open reading frame) içerir. ORF1 yapısal olmayan proteinleri, ORF2 major kapsid proteini VP1, ORF3 minor kapsid proteini VP2' yi kodlar (Kırdar S 2014).

Norovirüsler VP1 gen analizi ile GI-V 5 genogruba ayrılır. GI ve GII çoğunlukla, GIV ise nadiren insanlarda hastalık oluşturur. GenogrupI en az 15, genogrup 2 en az 18 genotipten oluşur. Akut gastroenterit salgınlarından en sık izole edilen norovirüs genogrubları GI ve GII olmakla birlikte GII.4 genotipi dünyada ve ülkemizde norovirüs



salgınlarından ve akut gastroenteritli vakalardan tanımlanan en yaygın olan genotiptir (Siebenga ve ark 2009, Özkul ve ark 2011, Kırdar 2014).

Norovirüslerin tanısı ve epidemiyolojik çalışmalar için dışkı, kusmuk, serum, su ve gıdalar incelenebilmektedir. Örneklerin diyarenin başlangıcından itibaren yedi gün içinde toplanması gerekmekte olup duyarlılık daha sonra düşmektedir (Plantenga ve ark 2011).

Norovirüsler hücre kültüründe üretilmediği ve deney hayvanları modeli geliştirilemediği için tanıda elektron mikroskopisinin yanında RT-PCR ve ELISA yöntemleri de kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden RT-PCR en duyarlı tanı yöntemi olarak kabul edilmektedir (Ando ve ark 1995, De Bruin ve ark 2006).

#### **1.2.4. Astrovirüs**

Astrovirüs, *Astroviridae* ailesinde yer alır ve 1993 yılında tanımlanmıştır. Mamastrovirüs ve Avastrovirüs olarak 2 cinsi vardır. Astrovirüsler elektron mikroskopunda küçük 28-30 nm büyüklükte, 5 yada 6 köşeli yıldız şeklinde görülen virüslerdir. İsmi latince astron (yıldız) kelimesinden gelmektedir. Genellikle düzgün 20 kenarlı, ikozahedral yapıdadır. Eğer virüs yüksek pH'a maruz bırakılırsa tipik morfolojik görünümü olan yıldız şeklini alır (Guix ve ark 2002, Treanor ve ark 2004).

İnsan astrovirüsünün genomu, pozitif polariteli tek iplikli, zarfsız RNA virüsüdür. 3 açık okuma bölgesi (ORF)'nden oluşur. Viral proteazı kodlayan ORF1a, RNA polimerazı kodlayan ORF1b ve genomun 3' ucunda protein kapsidi kodlayan ORF2 mevcuttur (Guix ve ark 2002, Treanor ve ark 2004, Guix ve ark 2005, Bhattacharya ve ark 2006).

Virüsün protein yapısı tam olarak bilinmemekle birlikte, kapsit proteininin prekürsörü 87-kDa poliproteini, yapısal kapsit proteinleri VP32, VP29 ve VP26'yı oluşturmaktadır (Gaggero ve ark 1998, Wilhelmi ve ark 2003).

Astrovirüsler, kapsit proteinlerinin poliklonal ve monoklonal antikor reaksiyonlarına göre serotiplerine ve nükleotid sekansındaki ORF2 bölgesindeki dizilimler ile genotiplerine ayrılırlar. Bu genotipler, serotiplerle korelasyon gösterirler. Çoğu çalışmada serotip 1 baskın görülmekte onu 2, 3, 4, 5 izlemekte ve 6, 7, 8 nadir gözlenmektedir (Wilhelmi ve ark 2003, Guix ve ark 2005).

Kışın görülen gastroenterit salgınlarının bir diğer sorumlusu astrovirüslerdir. Astrovirüslerin tüm serotipleri bütün dünyaya yayılmıştır. Gelişmekte olan ülkeler başta olmak üzere tüm dünyada görülme sıklığı %2 ile %8-9 arasında olduğu belirtilmiştir. Bazı çalışmalarda görülme sıklığının %16'lara çıktığı bildirilmiştir. Semptomatik astrovirüs enfeksiyonları 2 yaş altı çocuklarda ve yaşlılarda görülebilmektedir (Bon ve ark 1999, Treanor ve ark 2004).

Astrovirüslerin tanısı için; hücre kültürleri, immün elektron mikroskop, immünfloresan yöntemler ve ELISA teknikleri kullanılmaktadır. Grup antijen saptanması epidemiyolojik çalışmalar için kullanılmaktadır. Nükleik asit hibridizasyon ve PCR çalışmaları yapılabilmektedir, bunlar antijen saptama tekniklerinden daha duyarlıdır (Bon ve ark 1999, Treanor ve ark 2004).

### **1.2.5. Diğer Gastroenterit Yapan Virüsler**

Etyolojik olarak bu virüslerin enterit nedeni olup olmadığı kesinlik kazanmamıştır. Ancak bazı çalışmalar, hayvanlarda ishal oluşturan Coronavirüs, Aichi virüs, Pikobirnavirüs, Pestivirüs ve Torovirüs' ün aynı zamanda insanlarda da viral gastroenteritlerin nedeni olarak ortaya çıktığını göstermiştir (Treanor ve ark 2004, Wilhelmi ve ark 2003).

### **1.2.6. Bocavirüs**

Human bocavirüs (HBoV) ilk kez 2005 yılında Allender ve ark. tarafından tanımlanmıştır. Human bocavirüs' ün ilk kez solunum yolu enfeksiyonlu hastaların nazofaringeal aspirat örneklerinde saptanması ile solunum yolu patojeni olduğu düşünülmüştür. Bu hipotez diğer solunum yolu virüslerinin belirlenmediği hastalarda sadece HBoV'ün varlığı ile desteklenmiştir. Çok sayıda çalışma ile virüsün varlığı solunum yolu örneklerinde araştırılmış ve tüm dünyada çocuklarda yaygın olarak görüldüğü bildirilmiştir. Son zamanlarda ise HBoV dışkı ve kan örneklerinde de gösterilmiştir (Schildgen 2013).

#### **1.2.6.1. Tarihçe**

İnsanlarda hastalık etkeni olarak gösterilebilen tek Parvovirüs çocuklarda '5. Hastalık (eritema enfeksiyozum)' etkeni olarak bilinen Parvovirüs B19' dur. HBoV, İsveç'li araştırmacılar tarafından randomize PCR yöntemi ile solunum yolu örneklerinde

saptanmıştır. Allender ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada 540 nazofarengal aspirat örneğinin 17'sinde (%3.1) PCR yöntemiyle HBoV pozitifliği saptanmış ve bu 17 hastanın 14'ünde bilinen başka bir viral etkenin bulunmaması ile HBoV' unun solunum yolu infeksiyonlarının olası bir sebebi olduğu sonucuna varılmıştır (Allander ve ark 2007).

Nükleotid düzeyinde bir benzerlik olmamasına karşılık aminoasit sekansları, Bovine parvovirüs ile Canine minute virüse anlamlı derecede uymaktadır. Bocavirüs cinsinden, daha önce karakterize edilmemiş ilk kez insanlarda infeksiyon etkeni olarak saptanan bir virüs olduğu sonucuna varılarak Human bocavirüs (HBoV) adı verilmiştir (Allander ve ark 2005, Allander ve ark 2007).

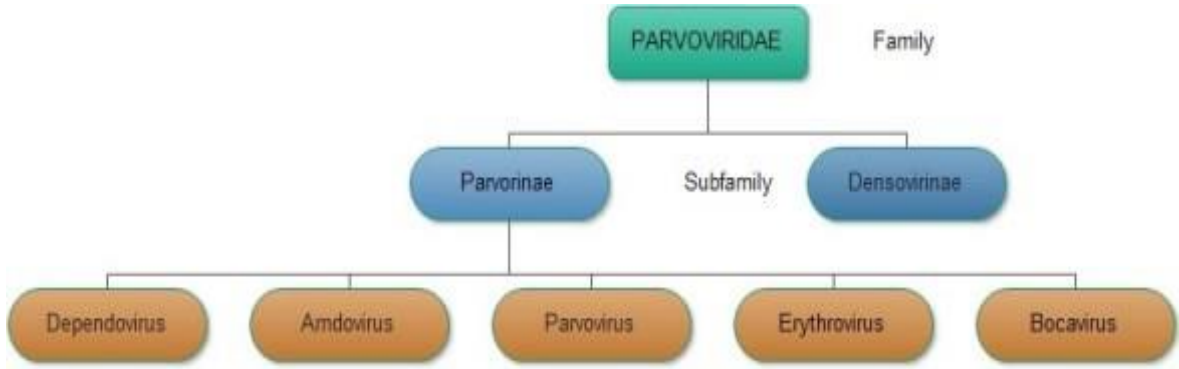
Hayvan Parvovirüsleri genellikle sistemik bir hastalığa neden olur. Hastalık solunum ve gastrointestinal sistem ile ilişkilidir. Bocavirüs cinsinde yer alan iki hayvan patojeni olan enterik virüsler; Bovine parvovirüs, ishali buzağuların gastrointestinal sisteminden izole edilmiş olup diyareye sebep olurken, Canine minute virüs yeni doğan solunum yolu hastalıkları ve embriyopatiye neden olmaktadır. Bocavirüs bovine (bo) parvovirüs ve canine (ca) minute virüs' ün ilk iki harfindan adını almaktadır (Demirci 2009, Lindner ve ark 2008).

HBoV' ün 2005 yılında keşfinden sonra, solunum yolu enfeksiyonu etkeni olarak bilinirken son zamanlarda akut gastroenteritlerde dışkı örneklerinde saptanmıştır. HBoV tip 1' in tanımından sonra, Human bocavirüs 2 (HBoV2) ve Human bocavirüs 3 (HBoV3) klinik örneklerde belirlenmiştir. Human bocavirüs 2 ilk kez Pakistan'da gevşek paralizli hastaların dışkı örneklerinden izole edilirken Avustralya'da HBoV2 yanı sıra HBoV3 izole edilmiştir (Chow ve ark 2010, Abdel-Moneim ve ark 2013). HBoV tip 1, en sık solunum yolunda olmak üzere dışkı örneklerinde, HBoV 2, HBoV 3 ve HBoV4 sıklıkla dışkı örneklerinde nadiren solunum yolunda görülmektedir (Schildgen 2013).

#### **1.2.6.2. Sınıflandırma**

Human bocavirüs, genetik organizasyonu ve sekans homolojisi ile *Parvoviridae* ailesi, *Parvovirinae* alt ailesi, *Bocavirüs* cinsinde sınıflandırılmaktadır (Allander ve ark 2005). Omurgalı hayvanlarda ve insanlarda hastalık yapan 5 ayrı virüs cinsi Amdovirüs, Bocavirüs, Dependovirüs, Erythrovirüs, Parvovirüs tanımlanmıştır. Son olarak altıncı virüs cinsi tanımlanmış ve Hokovirüs olarak adlandırılmıştır. Bocavirüs cinsinde; Human bocavirüs, Bovine parvovirüs, Canine minute virüs, Gorilla bocavirüs, Chimpanzee

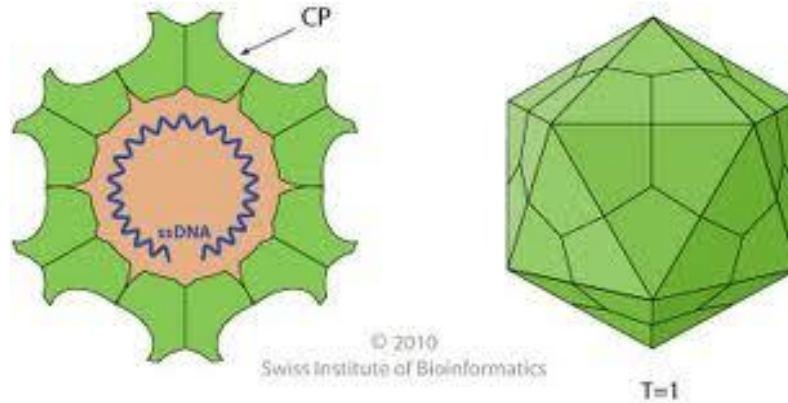
bocavirüs, Porcine bocavirüs yer almaktadır (Şekil 1.2) (Allander ve ark 2005, Allander ve ark 2007).



Şekil 1.2. Parvoviridae ailesinde yer alan cinsler

### 1.2.6.3. Morfolojik yapı

Human bocavirüs, küçük DNA (18-26 nm çapında) virüsüdür. Lineer tek sarmallı genom ~5 kb uzunluğundadır. İkozahedral kapsidli, zarfsız bir virüstür (Şekil 1.3) (Demirci 2009, Lindner ve ark 2007, Allander ve ark 2008).

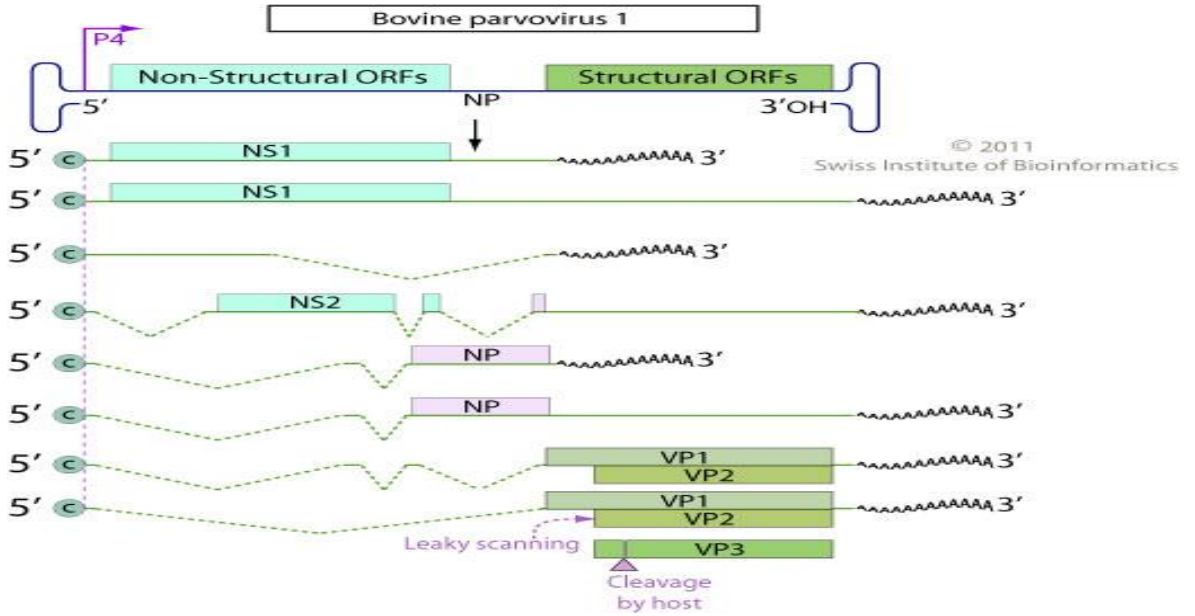


Şekil 1.3. HBoV'un şematik görünümü

### 1.2.6.4. Genom özellikleri

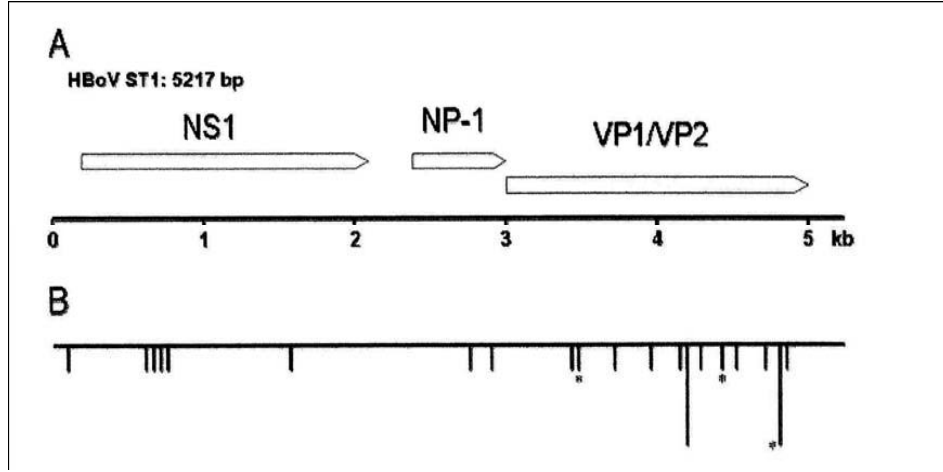
Human bocavirüs bir çok özelliğiyle Parvovirüse benzerlik göstermesine rağmen bazı özellikler açısından farklılıklara da rastlanmaktadır. Bu farklılıklardan birincisi HBoV genomunun 5.5 kb uzunluğunda olmasına karşın Parvovirüslerde genomun 5.6 kb

uzunluğunda olmasıdır. İkincisi; Parvovirüs genomunda aynı sarmal üzerinde bulunan 2 büyük open reading frame (ORF) bölgesinin yapısal olmayan bir protein (NS1) ile 2 kapsid proteini (VP1,VP2) olmak üzere 3 proteini bocavirüs genomunda yine aynı sarmal üzerinde bulunan 3 büyük ORF bölgesinin yapısal olmayan bir protein (NS1) ile 3 farklı kapsid proteininden (VP1/VP2) oluşan toplam 4 büyük proteini kodlamasıdır. Bovine parvovirüs ve canine minute virüsün ORF bölgesinden kodlanan yapısal olmayan bir proteinin fonksiyonu bilinmemektedir ve bu protein NP-1 olarak adlandırılır. HBoV'a ait NP-1 geni de %47 aminoasit düzeyinde benzerlik gösterir (Şekil 1.4) (Allander ve ark 2005, Lindner ve ark 2007, Allander ve ark 2008, Demirci 2009, <http://www.dpvweb.net>).



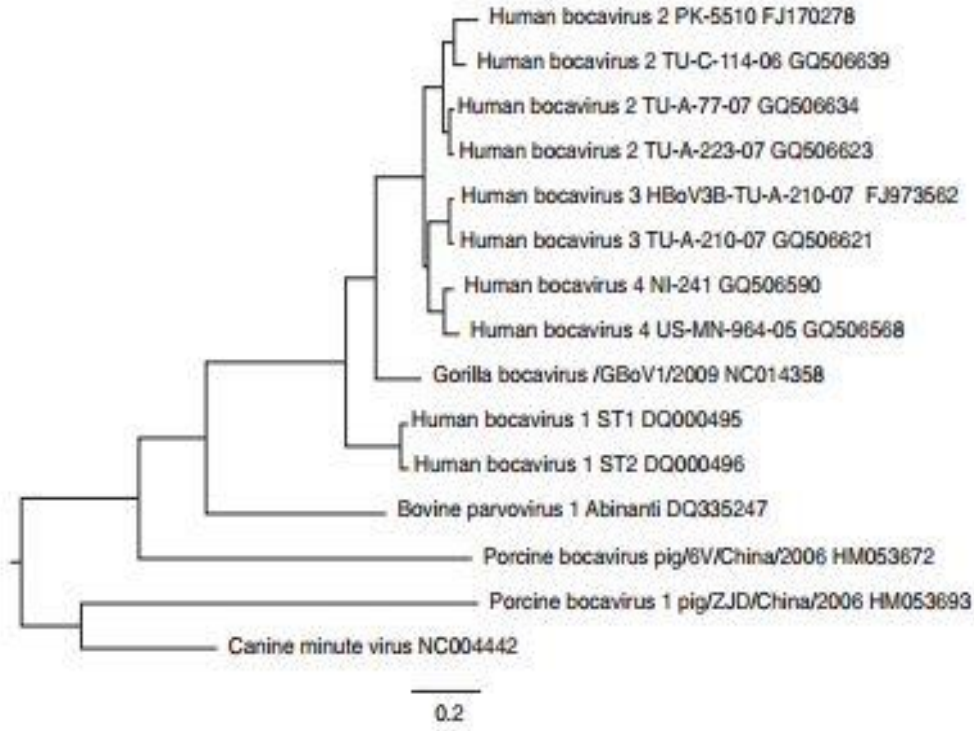
**Şekil 1.4.** HBoV' un ORF bölgesinden kodlanan proteinleri

HBoV' ün yapılan tüm genomik sekansı sonrasında 2 farklı izolatu bulunmuştur. Bu izolatlar Stockholm 1 (ST1; 5,217 nukleotid) ve Stockholm 2 (ST2; 5,299 nukleotid) olarak isimlendirilmişlerdir. HBoV' un ST1 izolatu, NS1, 1,920 nukleotid (183-2102), 639 aminoasit; NP1, 660 nukleotid (2340-2999),219 aminoasit; VP1/VP2, 2,016 nukleotid (2986- 5001), 671 aminoasit'den oluşur. ST2 izolatu ise ST1'den 26 nukleotid farklıdır (Şekil 1.5) (Demirci 2009).



**Şekil 1.5.** A; ST1 izolatu, B; ST2 izolatu

Human bocavirüsler, HBov1, HBov2 (2A ve 2B), HBov3 ve HBov4 olmak üzere 4 grupta toplanır. Genomik analizlerde HBov2, HBov ile karşılaştırıldığında %67 - %80 oranında nükleotid homolojisi göstermektedir. HBov3 genomunda, HBov'nun yapısal olmayan NS1 ve NP-1 proteinlerinde nükleotid benzerliği %87 oranında, HBov2'nin VP1/VP2 yapısal proteinleri arasındaki nükleotid benzerliği %77 dir. Bu da HBov3'ün HBov ve HBov2 arasındaki rekombinasyondan ortaya çıkabileceğini düşündürmektedir (Şekil 1.6).

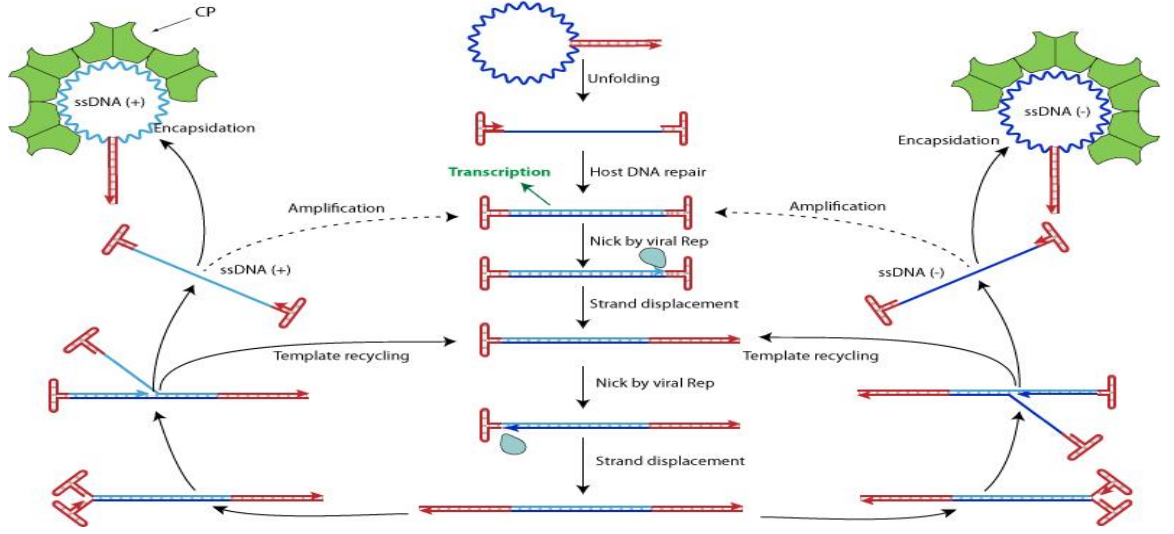


**Şekil 1.6.** Filogenetik analiz

### 1.2.6.5. Replikasyon

HBoV' ün replikasyonu hayvan parvovirüslerine benzer şekilde olup “rolling hairpin” mekanizması aracılığıyla gerçekleşmektedir (Şekil 1.7). “Rolling hairpin” mekanizması ile replike olan genomlar tek sarmallı DNA'dır. Uç kısımlarında saç tokası (hairpin) yapılar bulunur. Enfeksiyonda 3' hairpin, transkripsiyon ve replikasyon için konak enzimlerinin viral ssDNA'nın dsDNA'ya dönüşümünde primer olarak işlev görür. Sürekli hücre kültürleri NuLi ve CuFi hücreleri ile geliştirilen yeni hücre kültür sistemleri ile HBoV'ün replikasyonu ile ilgili çalışmalar devam etmektedir. Zhao ve arkadaşları HBoV 2' nin genomunun sirküler olduğunu göstermiştir (Zhao ve ark 2012). Bu da saç tokası yapısının HBoV tipleri arasında neden farklı olduğu sorusuna yol açmıştır (Schilgen 2013).

### Rolling hairpin Replication (AAV)



Şekil 1.7: Human Bocavirüs replikasyonu

#### 1.2.6.6. Patogenez

Üretilmeleri için uygun hücre kültürünün ve hayvan modellerinin olmaması nedeniyle HBoV enfeksiyonunun patogenezini tam olarak bilinmemektedir. HBoV tip 1 solunum yolu epitel hücre kültürlerinde üretilebilmiştir. Hücre kültüründe üretilen ve HBoV1 pozitif klinik örneklerin DNA'larının dizi analizi sonucunda, HBoV1'in parvovirüslerden farklı bir replikasyon mekanizmasına sahip olduğu hipotezi ileri sürülmüştür. Ancak bu hipotezin daha fazla araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır (Lüsebrink ve ark 2011).

Çok sayıda çalışma ile HBoV1' in temel olarak solunum patojeni olduğu ileri sürülmektedir. HBoV tip 1 enfeksiyonunun sistemik olarak oluşabileceği HBoV'ün DNA'sının serumda saptanması ile desteklenmektedir (Jarti ve ark 2011).

Human bocavirüs barsak epitelindeki replikasyonunun kanıtı olmaksızın dışkı örneklerinde saptanabilmiştir. Öte yandan, HBoV1 DNA'sının dışkıda düşük düzeylerde bulunması nedeniyle dışkı örneklerinde HBoV1'ün solunum yolundan barsağa pasif geçişi olabileceği düşünülmektedir. Gastrointestinal bulguları olan ya da bulunmayan bireyler arasında saptanma oranları benzer bulunmuştur. Ayrıca HBoV, diğer enterik virüsler ve bakteriler ile birlikte yüksek oranlarda saptanabilmektedir (Yu ve ark 2008, Campe ve ark



2008, Arthur ve ark 2009, Kapoor ve ark 2010, Chow ve ark 2010, Kantola ve ark 2010, Huang ve ark 2010, Lee ve ark 2007).

Son yıllarda HBoV'ün 4 tipinin keşfi ile özellikle HBoV2' nin HBoV1' den daha fazla oranda görülmesi nedeniyle gerçek enteropatojen olabileceği ileri sürülmektedir (Jartti ve ark 2011). HBoV2' nin değil de HBoV1' in solunum yolundan gastrointestinal sisteme yayılabileceği, Arthur ve ark. semptomatik hastalar ile kontrol grubunun dışkı örneklerinin karşılaştırıldığı ve sadece HBoV2' nin saptanma oranında farklılığın görüldüğü çalışmalarında ileri sürülmektedir (Arthur ve ark 2009).

### **1.2.6.7. Epidemiyoloji**

Dünyanın çeşitli bölgelerinde HBoV' ün varlığı ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır. HBoV 1 ile oluşan enfeksiyonun gerçek prevalansı 2007-2008 yıllarında serolojik testlerin geliştirilmesine kadar belirlenememiştir. HBoV 1, üst ya da alt solunum yolu enfeksiyonlu hastaların solunum yolu örneklerinde PCR yöntemi ile %2–19 oranlarında belirlenmiştir. Prevalansın değişik oranlarda olmasının nedenleri, çalışma gruplarının, örnek alma tekniklerinin ve kullanılan test yöntemlerinin farklı olmasından kaynaklanmaktadır (Manning ve ark 2006, Allender ve ark 2008).

HBoV1 DNA 'sı 6-24 aylık çocuklarda yıl boyunca özellikle kış ve ilkbaharda tanımlanabilmektedir. Erişkin hastalarda daha az oranlarda saptanır, yaşlı hastalarda virüsün varlığı ile ilgili bilgiler kısıtlıdır. HBoV' ün genetik değişkenliği düşüktür. HBoV'ler arasında yüksek frekansta gelişen rekombinasyonlar nedeniyle yeni varyantların daha sık meydana geldiği kabul edilmiştir (Schildgen 2013). Human bocavirüsler, HBoV tip 1, HBoV tip 2 (2A ve 2B), HBoV tip 3 ve HBoV tip 4 olmak üzere 4 grupta toplanır. HBoV 2 ilk kez Pakistan' da flask paralizili bir çocuk hastanın dışkısında (Kapoor ve ark 2009), HBoV3 Avustralya'da (Arthur ve ark 2009), HBoV4 Nijerya, Tunus ve Amerika'da tanımlanmıştır (Kapoor ve ark 2010).

HBoV tip 1, en sık solunum yolunda olmak üzere dışkı örneklerinde, HBoV 2 , HBoV 3 ve HBoV4 sıklıkla dışkı örneklerinde nadiren solunum yolunda görülmektedir.. Semptomatik hastalarda HBoV alt tiplerinin prevalansı, HBoV tip 1 için %1,5-16, HBoV tip 2 için %21-26, HBoV tip 3 için %1 ve HBoV tip 4 için ise %0,6' dır. Seroprevalans en düşük düzey ile HBoV4 (%0.8-5), bunu takiben HBoV3 (%10-38.7), HBoV2 (%34–

49.3) ve HBoV1 (%66.9–96) şeklinde görülmektedir (Arnold ve ark 2006, Schildgen 2013).

Diğer virüsler ile koenfeksiyon oranı %60 ile 90 arasında değiştiği birçok çalışma ile gösterilmiştir (Schildgen 2013).

Bocavirüsler diğer parvovirüsler gibi ısı ve deterjanlara dirençlidirler, bu nedenle dışkı örneklerinde uzun süre stabil kalırlar (Sauerbrei ve Wutzler 2009). Farklı çevresel faktörlere ve deterjanlara karşı dirençliliği nedeniyle fekal oral yoldan ve ayrıca aerosollerle bulaşmaktadır (Sauerbrei ve Wutzler 2009, Romani ve ark 2013).

### **1.2.6.8. Klinik**

#### **1.2.6.8.1 Solunum yolu hastalığı ve HBoV**

Diğer virüslerin aksine, şu ana kadar yapılan ilk klinik çalışmalar, HBoV' un başka solunum yolu virüslerine ek patojen olarak bulunduğunu göstermiştir (Arden ve ark 2006). Hücre kültürü ve hayvan modelleri henüz yoktur. İnsandan insana HBoV'un geçişide henüz belgelenememiştir. HBoV patogenezi hakkında yeterli bilgi henüz yoktur. HBoV viremi ye neden olabilir. Bu virüs, solunum yolu ile girer, kana ulaşır ve kan yoluyla gastrointestinal sisteme girer. Ağır enfeksiyonlar ve hastaneye yatış gerektiren enfeksiyonlarda öncelikle altta yatan bir hastalığı olan hastalarda meydana gelmesine rağmen tüm yaş gruplarının HBoV ile etkilenebileceği görünür. Ağır klinik durumlar çocuklar, kanser hastaları ve diğer risk grupları ile yetişkinlerde tarif edilmiştir (Schildgen 2013).

Birçok çalışmada, HBoV'ün solunum yolu bulguları olan hastalarda asemptomatik bireylere göre daha sık olarak saptandığı rapor edilmiştir (Kesebir ve ark 2006, Allander ve ark 2007, Fry ve ark 2007, Maggi ve ark 2007).

Asemptomatik hastalarda nadiren HBoV saptanabilir. HBoV, sıklıkla diğer patojenlerle birlikte belirlenebilmektedir. (Allender ve ark 2008) HBoV DNA'sının kanda da belirlenebildiği çalışmalarda gösterilmiştir (Allander ve ark 2007).

HBoV, yüksek oranlarda ko enfeksiyona neden olur (Jartti ve ark 2011). Solunum yolu enfeksiyonları ile ilgili son klinik çalışmalar kullanılan yeni multipleks deneylerle tek bir hastada altı farklı patojen ile ko infektif olduğunda daha şiddetli bir hal aldığı

göstermiştir. Koenfeksiyon oranlarının %60 ila 90 arasında değiştiği ortak çalışmalarla gösterilmiştir (Schildgen 2013).

#### **1.2.6.8.2. Gastroenterit ve HBoV**

Vicente ve ark. gastroenteritli çocukların dışkı örneklerinde HBoV' ü PCR ile araştırmışlar ve % 9.1 oranında pozitiflik saptamışlardır (Vicente ve ark 2007). Neske ve ark. solunum yollarında HBoV'ün pozitif bulunan çocuklardan alınan 31 dışkı örneğinin 14 (%45)' ünde pozitiflik belirlemiştirlerdir (Neske ve ark 2007). HBoV dışkı örneklerin de sık olarak saptanmasına rağmen virüsün gastroenteritdeki rolü tam olarak anlaşılamamıştır (Allender ve ark 2008).

#### **1.2.6.8.3. İmmün yetmezlikli hastalarda HBoV**

İmmün yetmezlikli hastalarda HBoV' ün prevalansı ve patojenitesi tam olarak bilinmemektedir. Çocuklardaki yüksek prevalans oranları ve koenfeksiyonlar viral persistans olabileceğini desteklemektedir. Hem çocuk hem de erişkin immün yetmezlikli hastalarda görülebilmektedir. Erişkin immün yetmezlikli hastalarda virüsün varlığı, reenfeksiyon, reaktivasyon ya da persistans olarak açıklanabilir. Bu durumun açıklığa kavuşturulabilmesi için ileri araştırmalara gereksinim duyulmaktadır (Allender ve ark 2008).

#### **1.2.6.9. Tanı**

Akut gastroenterite yol açan viral enterik patojenlerin laboratuvar tanısında elektron mikroskopisi, hücre kültürü, antijen ve antikör saptamaya yarayan serolojik testler kullanılmaktadır (Ji Wang ve ark 2014). Ancak bu yöntemlerin zaman alıcı ya da duyarlılık ve özgüllüklerinin düşük olması nedeniyle moleküler yöntemler tercih edilmektedir. Ayrıca Human bocavirus' ün hücre kültüründe üremesinin güç olması ve herhangi bir hayvan modelinin olmaması gibi nedenler ile HBoV enfeksiyonunun tanısında sıklıkla moleküler tanı yöntemleri kullanılmaktadır (Allender ve ark 2008, Jarti ve ark 2011, Schildgen 2013, Ji Wang ve ark 2014). Moleküler yöntemler arasında bulunan RT-PCR ticari olarak enterik patojenlerin tanısında yarar sağlamaktadır. Son birkaç yılda multipleks RT-PCR farklı enterik patojenleri aynı anda belirlemede başarılı olmaktadır. Ancak bu yöntemler, az sayıda patojeni belirlemesi ya da pahalı olması nedenleri ile çok sayıda dışkı örneğinin hızlı bir şekilde taranmasını sağlayamamaktadır (Ji Wang ve ark 2014). Bu nedenlerle multipleks RT PCR testleri ile akut gastroenterite neden olan viral ve

bakteriyal patojenlerin dışkı örneklerinde aynı anda belirlenmesini sağlayan PCR testleri geliştirilmiştir. Multipleks Lumineks testinde RV, NoV, AsV, EAV ve HBoV saptanabilmektedir (Liu ve ark 2012).

Günümüzde birçok laboratuarda in-house PCR, real time PCR ve multipleks RT-PCR testleri ile HBoV genomu solunum yolu, serum, dışkı ve idrar örneklerinde gösterilebilmektedir (Zaghloul 2011, Schildgen 2013).

Human bocavirüs'ün NP1, NS1 ve VP1, VP2 gibi viral genlerine yönelik hazırlanmış farklı primer setlerinin kullanıldığı çok sayıda farklı PCR teknikleri bulunmaktadır (Zaghloul 2011).

HBoV enfeksiyonunun solunum yolu ya da dışkı örneklerindeki tanısının doğrulaması, serum örneklerinde de HBoV DNA varlığının gösterilmesini gerektirir. Ancak düşük kopya sayılarındaki solunum ve gastrointestinal sistem örneklerinde uzamış pozitiflikler nedeniyle asemptomatik bireylerde HBoV yüksek oranlarda saptanabilmektedir (Schildgen 2013).

Solunum yolu enfeksiyonunda solunum yolu örnekleri yanı sıra serum örneklerinde HBoV 1 DNA belirlenir (Jartti ve ark 2011). Viremi sadece aktif enfeksiyon sırasında gözlemlendiği için serumda HBoV DNA'sının belirlenmesi viremiyi göstermesi açısından değerlidir (Shilgenden 2013). Ancak, Serum örneklerinde PCR yöntemi ile HBoV DNA'sının saptanma duyarlılığı ve primer enfeksiyonda vireminin süresi ile ilişkili çalışmalar sınırlıdır (Jartti ve ark 2011).

Hasta örneklerinde HBoV antijen ve özgül antikor saptanması ile ilgili çalışma sayısı azdır (Jartti ve ark 2011). Son zamanlarda, serum örneklerinde HBoV VP2 proteinine yönelik IgM ve IgG antikorlarının varlığı western blot (Kantola ve ark 2010) ya da immün fluoresan testleri ile çalışılabilmektedir (Mona Z Zaghloul 2011, Neske ve ark 2010). HBoV-spesifik antikorlarını kantitatif olarak belirleyebilen standardize bir ELISA testi geliştirilmiştir (Zaghloul 2011).

Hedman ve ark (2010), özgül IgG avidite testinin HBoV enfeksiyonunun serolojik tanısında enfeksiyonun primer ya da sekonder olduğunu belirlemede kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda diyareli dışkı örneklerinde HBoV' un moleküler yöntemlerle taranması ve tiplendirilmesi amaçlandı. Bu amaçla Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Çocuk Hastalıkları Polikliniği ve Acil Servisten Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına Eylül 2013 ile Ekim 2014 tarihleri arasında akut gastroenterit şüphesi ile gönderilen 96 dışkı örneği çalışmaya dahil edildi. Hastaların çoğunluğu çocuk yaş grubundan oluşmaktaydı. Hastalar rastgele seçildi ve çalışma prospektif olarak yürütüldü.

Çalışmaya başlamadan önce Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik kurulundan 11/09/2013 tarih ve 56989545/ 050.04- 198 sayılı etik kurul kararı ile onay alındı.

### 2.1. Gereç

#### 2.1.1. Hasta Örneklerinin Toplanması

Çalışmada akut gastroenterit şüphesi olan 96 hastaya ait dışkı örneği yer aldı. Hastalardan dışkı örnekleri kaşıklı dışkı kaplarına alınıp çalışmaya kadar -80°C de saklandı. Hastaların yaşları 0-79 yıl arasında değişmekteydi. Çalışmaya dahil edilen toplam 96 hastanın 44 (%46)' ü kadın, 52 (%54)' si erkek cinsinden oluşmaktaydı. Hastaların çoğunluğu çocuk yaş grubundaydı ve yaş ortalaması 4 yıl olarak belirlendi. Hastaların 17' si (%17,7 ) 0-12 ay, 16'sı (%16,7) 6-12 ay, 16'sı (%16,7) 13-24 ay, 14'ü (%14,6) 25-36 ay, 13'ü (%13,5) 37-48 ay, 9'u (%9,4) 49-60 ay, 7'si (%7,3) 61-72 ay, 4' ü (%4,1) 73 ay ve üstü yaş grubunda yer almaktaydı. Vakaların %51, 1' i (49 hasta) 0-24 ay grubunda yer aldığı tespit edildi (Çizelge 2.1).

**Çizelge 2.1.** Çalışmaya dahil edilen olguların yaş gruplarının dağılımı

Yaş Grupları	Sayı (n)	%
0	17	17,7
1	16	16,7
2	16	16,7
3	14	14,6
4	13	13,5
5	9	9,4
6	7	7,3
7 yaş ve üstü	4	4,1

### **2.1.2. Kullanılan Cihazlar**

Analizler sırasında Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim dalı laboratuvarlarında bulunan PCR kabini, Mikrodalga fırın (Altes), Elektroforez tankları (Biorad) ve güç kaynağı (Biorad), Lightcycler Nano Real Time PCR (Roche) cihazı, analitik terazi (Denver Instrument), distile su cihazı (Nüve), soğutmalı santrifüj (Nüve), mini santrifüj (VWR mini star silverline), manyetik karıştırıcı (Velp Scientifica), -80°C derin dondurucu (Nuaire), 4°C buzdolabı (Indesit), görüntüleme sistemi (UVP EC3 Imaging System Chemi HR 410), DNA izolasyonu için ısıtıcılı blok, otomatik pipetler ve çeşitli cam malzemeler kullanıldı.

### **2.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler**

Analizler sırasında kimyasal madde olarak; Glasiyel asetik asit (Merck, K41429056), agaroz (Sigma, A5093), tris base (Sigma, T1503), DNA izolasyon kiti viral genom ekstraksiyonu QIAamp<sup>R</sup> Fast DNA Stool Mini Kit (QIAGEN), RNA izolasyon kiti cDNA sentez kiti Seeplex<sup>®</sup> Diarrhea ACE Detection multiplex PCR system (Seeplex system; Seegene, Korea), PCR kiti (Fast Start Essential DNA Green Master kit, Roche, version 2, 06402712 001), DNA Ladder 100bp (Invitrogen, 15628-019), 6x Loading Dye

solution (Intron Biotechnology, 21161), SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen, S33102) kullanıldı.

## **2.2. Yöntem**

### **2.2.1. Viral Genomun Ekstraksiyonu**

Viral genom ekstraksiyonu, QIAamp<sup>R</sup> Fast DNA Stool Mini Kit (Qiagen) ile üretici firmanın önerdiği talimata göre yapıldı.

#### **İşlem:**

1-Her hasta örneğinden ekstraksiyon amacıyla 2 µl'lik ependorfa 180-220 mg dışkı örneği plastik öze yardımıyla konuldu. Üzerine 1 ml 'inhibit EX Buffer' eklendi ve her örnek homejenize olması için yaklaşık 1 dakika vortekslendi.

2-Ependorflar 70<sup>0</sup>C'de 5 dakika ısı bloğunda bekletildi. Bu süreçte her 15 saniyede bir vorteksleme işlemi yapıldı. Daha sonra 1 dk 14.000 rpm' de santrifüj edildi.

3-Santrifüj sonunda elde edilen karışımın supernatantından 200 µl' si ile 15 µl 'proteinaz K' ayrı bir ependorfta bir araya getirildi. Üzerine 200 µl 'Buffer AL' eklenip 15 sn vortekslendi.

4-Sonra 70<sup>0</sup>C' de 10 dk inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda 200 µl %96' lık etil alkol eklendi ve vortekslendi. Karışımın 600 µl' si silika membranlı kolona aktarıldı ve 1 dk santrifüjün sonunda kolon başka bir tübe aktarıldı.

5- Üzerine 500 µl 'AW1' tampon eklendi, 1 dk santrifüj işlemi yapıldı. Kolon başka bit tübe aktarılıp. 500 µl 'AW2' tampon eklenip 3 dk santrifüj edildi. Kolon 2 ml' lik ependorfa alındı ve 3 dk santrifüj işlemi uygulandı.

6-Kolon yeni 1,5 ml' lik ependorfa alındı ve 200 ml 'ATE tampon (elution buffer)' eklendi ve 1 dk oda sıcaklığında inkübe edildi.

7-İnkübasyon sonrası ependorflar 1 dk santrifüj edilerek DNA'lar elde edildi.

8-Elde edilen ekstraksiyon ürünleri -20<sup>0</sup>C' de saklandı.

## 2.2.2. Real-Time PCR

### 2.2.2.1. Primerler

Çalışmada HBoV varlığını ortaya koymak için pan primerler, genotiplendirme için tipe özgül HBoV Forward ve Reverse primerleri kullanıldı. Primer dizileri Nawaz ve ark (2012)'nin çalışması baz alınarak dizayn edilmiştir. Primer dizileri Çizelge 2.2'de gösterilmiştir.

**Çizelge 2.2.** HBoV primer dizileri (Nawaz ve ark 2012)

<b>Pan-HBoV-F</b> ATA AAG TTC CAA ACT CAT TTC CTC TTG
<b>Pan-HBoV-R</b> AGT GCA GWA TCC GTT TTC GTG (88 bp)
<b>HbovTypeF</b> ; TCTCCGGCGAGTGAACATC
<b>Hbov-RT1</b> ; CAT CCG GAT GAG GAG CGC (226 bp)
<b>HbovTypeF</b> ; TCTCCGGCGAGTGAACATC
<b>Hbov-RT2 primer</b> GCTCTTCCTCTTTCCAGTTTTC (149 bp)
<b>HbovTypeF</b> ; TCTCCGGCGAGTGAACATC
<b>Hbov-RT3</b> ; ACACAGTTTCTCAGCTGGATCATG (213 bp)
<b>HbovTypeF</b> ; TCTCCGGCGAGTGAACATC
<b>Hbov-RT4</b> ; GCCAATTTTCAGACTGGCAAAC (384 bp)

### 2.2.2.2. Amplifikasyon İşlemi

#### Primer ana stoklarının hazırlanması:

Öncelikle primerlere yanında gelen kullanım klavuzlarında yazan 100 µM için gerekli su miktarı eklenerek 100 µM'a (yani 100pmol/ µl'ye) sulandırıldı. Sonra her parametre için ara stoklar hazırlandı.

#### Amplifikasyon işlemi:

HBoV Forward ve HBoVReverse primerler kullanılarak 20µM (100µM'lık ana stoktan 20ul alınıp üzerine 80ul su eklenerek) ara stok hazırlandı. PCR karışımı hazırlanmasında aşağıdaki Çizelge 2.3' te yer alan reaksiyon karışımı hazırlandı.



LightCycler 480 (Roche, Almanya) cihazı ile Şekil 2.4' te belirtilen döngü koşullarında çalışıldı.

**Çizelge 2.3.** PCR karışımı içeriği

<b>Bileşenler</b>	<b>Tek reaksiyon (volüm)</b>
PCR grade su	0.6 µl
Forward Primer stok (20µM)	0.2µl
Revers Primer stok (20µM)	0.2µl
Polimeraz (2x) enzimi	5µl
DNA	4 µl
<b>Total Hacim</b>	<b>10µl</b>

Amplifikasyon için 200 µl'lik bir PCR tüpünde 0.6 µl distile su, 0.2 µl 'forward' primer (0.4 µM) 0.2 µl (0.4 µM) 'revers' primer ve 5 µl enzim karışımı (2x)'ından oluşan 6 µl PCR karışımı ve 4 µl DNA eklendi ve ısı döngü cihazına amplifikasyon işlemi için yerleştirildi (6 µl Mix + 4µl DNA = 10µl total reaksiyon hacmi).

**Çizelge 2.4.** Real Time PCR döngü koşulları

<b>Sıcaklık (°C)</b>	<b>Ramp Oranı( °C/s)</b>	<b>Süre(s)</b>
<b>Denatürasyon</b>		
95	4	600
<b>Amplifikasyon</b>		
95	5	20
60	4	20
72	4	10
<b>Erime</b>		
65	4	60
95	0,1	1

Pan primerler ile gerçekleştirilen PCR sonucunda HBoV varlığı kalitatif olarak pozitif ve negative olarak değerlendirildi. Pozitif örneklerin kantitatif sonuçları "absolute

quantitation second derivative” analizi kullanılarak ct değerleri ile cihaz tarafından otomatik olarak hesaplandı. Genotiplendirme için özgül HBoV primerleri ile çalışılan real time PCR işlemi sonucunda melting analizi ile pozitif örneklerin verdiği melting pikleri değerlendirildi.

### 2.2.3. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi ile Doğrulması

Jel elektroforezi için % 2’lik agaroz jeli hazırlandı. Bu amaçla 1,5 gr agaroz ve 75 ml 1x Tris-Asetik asit-EDTA (TAE) tamponu ile karıştırılıp oluşan süspansiyon mikrodalga fırında kaynatıldı ve PCR ürünlerine ait bandların görüntülenmesi için 1 µl SYBR safe DNA jel boyası (10 mg/ml) agar soğduktan sonra eklendi. Jel boyası eklenmiş agar, içerisine tarak yerleştirilmiş olan jel tepsisine aktarıldı. Agaroz tamamen donduktan sonra tarak çıkarılarak örnekler kuyucuklara eklendi. DNA işaretleyiciden 5 µL ilk kuyucuğa yüklendi. Her bir örneğe ait 8 µl PCR ürününe 2 µl yükleme boya solüsyonu eklenerek kuyucuklara pipetlendi. Elektrik akımı 100V’da 90 dakika uygulandı. UV görüntüleme sistemi kullanarak jel görüntülendi.

### 10x TAE (tris-asetat-EDTA) Tampon Hazırlanışı:

24,2 g Tris base	}	1 litre saf suda çözülr.
5,7 ml asetik asit		
1,85 g EDTA		

### 2.2.4. Multipleks RT- PCR

Akut gastroenterit şüphesi ile çalışmaya dahil edilen 96 hasta örneğinde gastroenterit etkeni virüslerin varlığı Seeplex® Diarrhea ACE Detection multiplex PCR system (Seeplex system; Seegene, Korea) kit ile araştırıldı. Burada tanımlanabilecek olan diğer viral etkenler EAV, AsV, RV grup A ve NoV gengrup I ve II’ dir.

#### İşlem:

1-Dışkı örneklerinden RNA izolasyonu, Seeplex® Diarrhea ACE Detection multiplex PCR system (Seeplex system; Seegene, Korea) kiti içerisinde bulunan izolasyon kiti ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapıldı.

2-İzole edilen RNA peleti 40 µl RNaz içermeyen su ile sulandırıldı ve -70°C'de saklandı.

3-Komplementer DNA, cDNA sentez kiti (Fermentas, ABD) kullanılarak elde edildi. Toplam hacim 12 µl olacak şekilde 0.5 µg izole edilen RNA'ya 10 mM random heksamer primerinden 1 µl eklendi, 65°C'de 5 dakika bekletildikten sonra buza alındı. 4 µl 5X RT tamponu, 2 µl 10 mM dNTP, 1 µl RNaz inhibitörü ve son olarak ters transkriptaz enzimi eklendikten sonra 42°C'de 1 saat inkübe edildi.

4- Komplementer DNA sonrası son hacim 50 µl olacak şekilde PCR karışımı; 48 µl PCR bileşenlerinin (5X tampondan 5 µl, 50 mM MgCl<sub>2</sub>'den 1 µl, 2.5 mM dNTP'den 1 µl, 10 pmol primer çiftlerinden 1'er µl, 5U taq polimerazdan 0.5 µl) içine 2 µl cDNA'nın eklenmesi ile hazırlandı.

5-Amplikasyon, 94°C'de 2 dakika ön denatürasyon sonunda, 30 döngü 94°C'de 45 saniye denatürasyon, 58°C'de 45 saniye bağlanma, 72°C'de uzama şeklinde tekrarlandı ve 72°C'de 10 dakika bekledikten sonra reaksiyon tamamlandı.

6- PCR ürünleri ve AsV için 650 bç, EAV için 411 bç., grup A RV için 541bç ve NoV gengrup I ve II için sırasıyla 304 ve 214 bç'de pozitif sonuç veren DNA belirteçleri %1.5 SYBR Safe içeren jelde yürütüldükten sonra UV ışıkta görüntülendi.

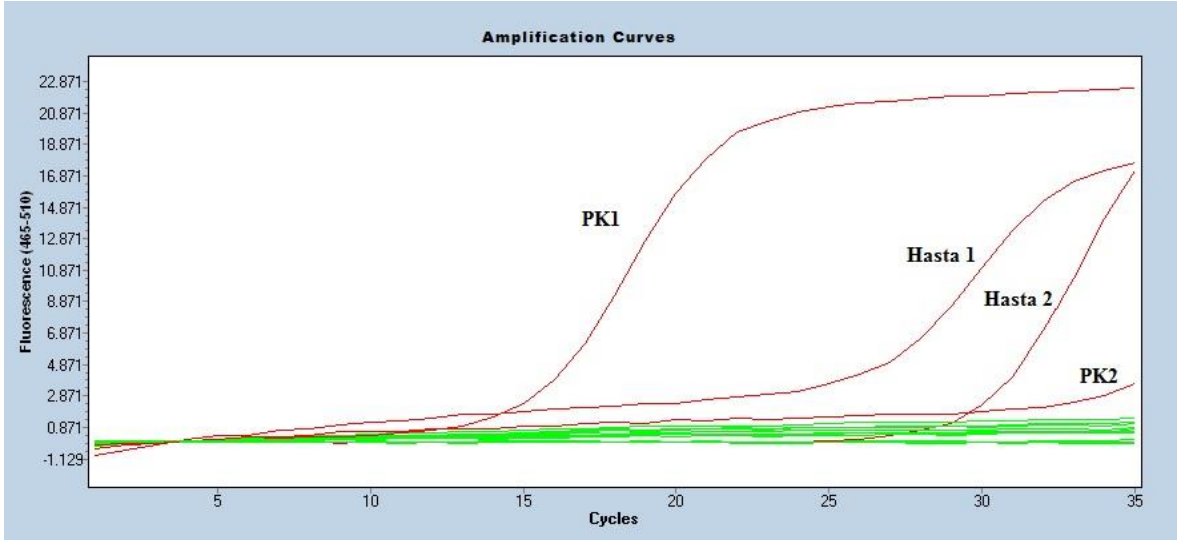
### 3. BULGULAR

Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Çocuk Hastalıkları Polikliniği ve Acil Servisten Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına akut gastroenterit şüphesi ile gönderilen çoğunluğunu çocuk yaş grubunun oluşturduğu 96 dışkı örneği bu çalışmaya dahil edilerek HBoV varlığı real time PCR yöntemi, miks enfeksiyon varlığı ise multipleks RT- PCR ile araştırılmıştır.

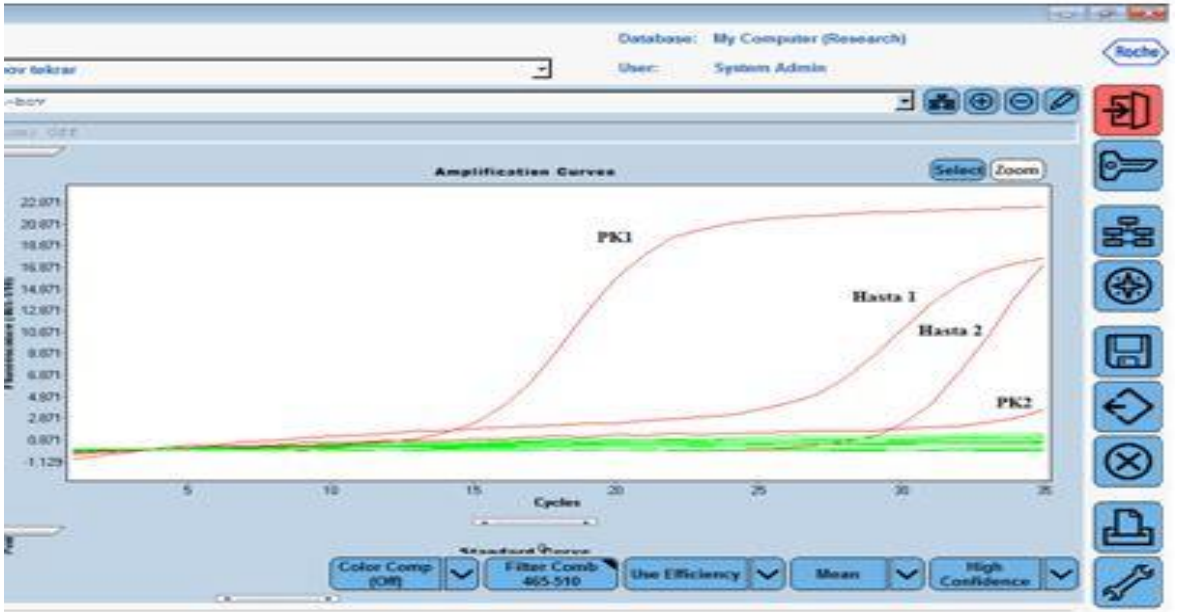
Pan primerler kullanılarak human bocavirüs varlığının araştırıldığı bu çalışmada 2 (%2) dışkı örneğinde HBoV pozitif saptanmıştır. Pozitiflik saptanan iki örnekte tipe özgül real time PCR yöntemi ile HBoV tip 1 belirlenmiştir. HBoV tip 1 saptanan örnekler için amplifikasyon eğrileri Şekil 3.1 ve 3.2’ de, melting eğrileri 3.3’ de gösterilmiştir. Doğrulama amacıyla yapılan elektroforez sonucu HBoV pozitif saptanan hastalara ait jel görüntüsü Şekil 3.4’ de ve HBoV Tip 1 saptanan hastalara ait jel görüntüsü ise 3.5’de gösterilmiştir.

HBoV tip 1 saptanan 2 hastanın yaklaşık viral yükleri birinci hastada  $6.10^3$  kopya/ml, ikinci hastada  $4.10^2$  kopya/ml olarak belirlenmiştir. Referans köken olmadığı için pozitif kontrol olarak viral yükleri sırasıyla  $4.10^6$  (PK1) ve  $4.10^2$  (PK2) kopya/ml olan klinik örnekler kullanılmıştır.

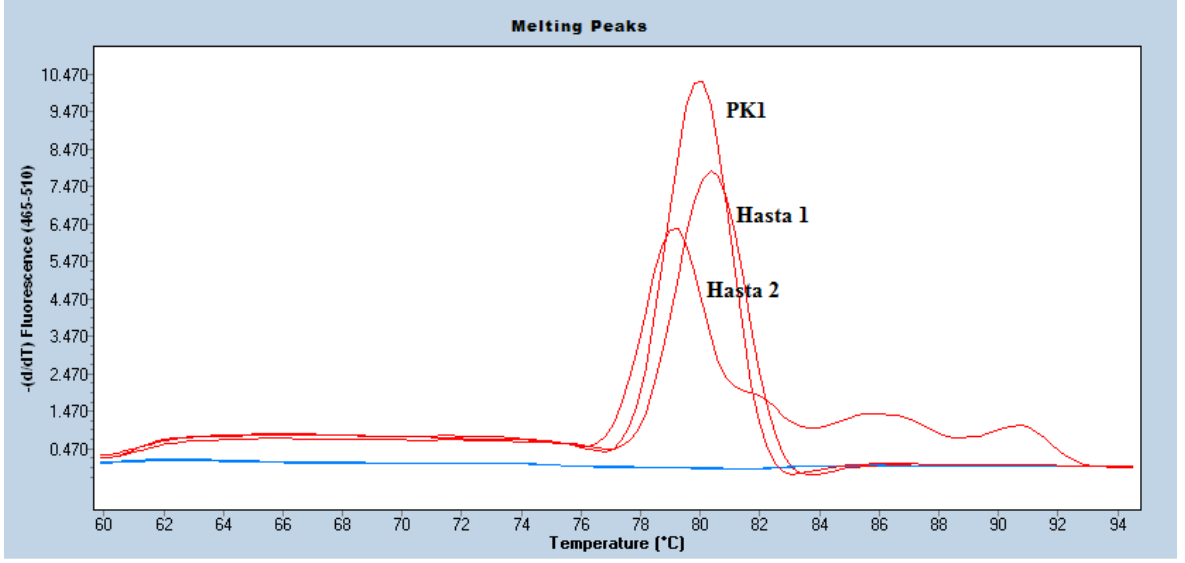
Çalışmaya alınan 96 dışkı örneğinde bulunabilecek diğer viral patojenlerin varlığını saptamak amacıyla multipleks RT- PCR uygulanmıştır. PCR sonrası 40 örnekte (%41.6) Rotavirüs, 6 (%6.2) örnekte Norovirüs saptanmıştır. HBoV tip 1 saptanan 2 hastada Rotavirüs ile miks enfeksiyon belirlenmiştir. Rotavirüs pozitif saptanan hastalara ait jel görüntüsü Şekil 3.6’ da gösterilmiştir.



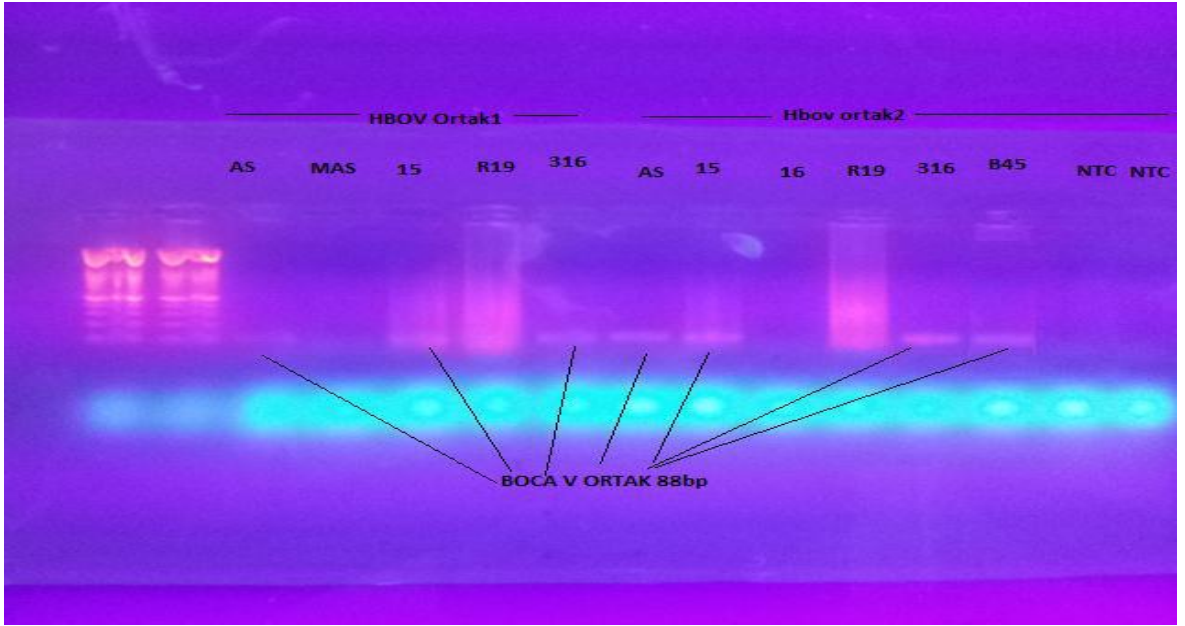
Şekil 3.1. HBoV pozitif saptanan hastaların amplifikasyon eğrileri



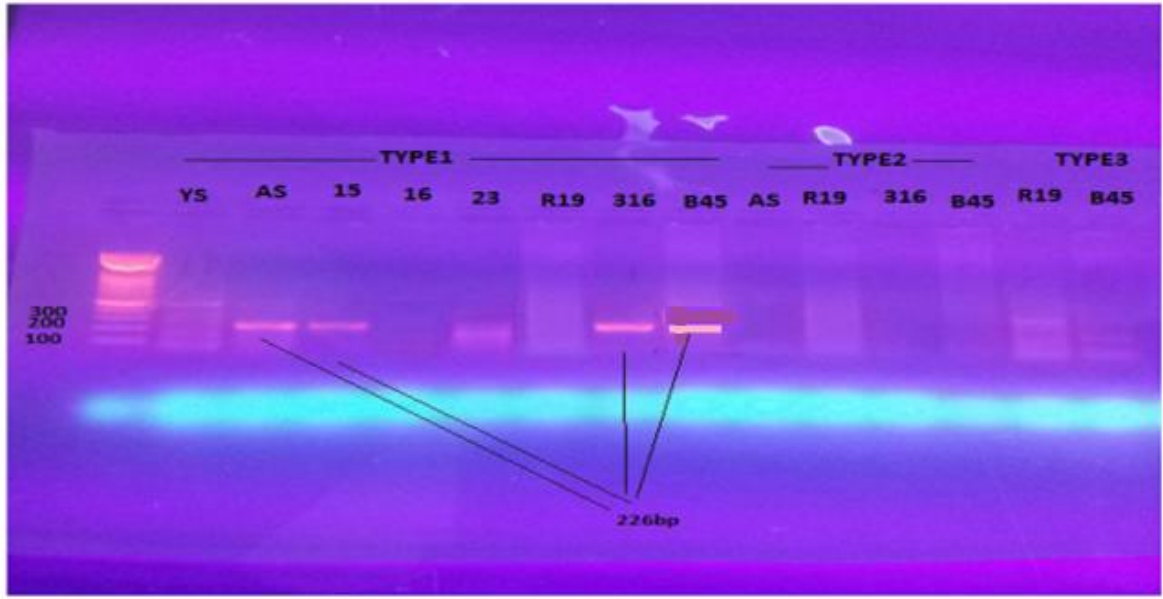
Şekil 3.2. HBoV tip 1'e ait amplifikasyon eğrileri



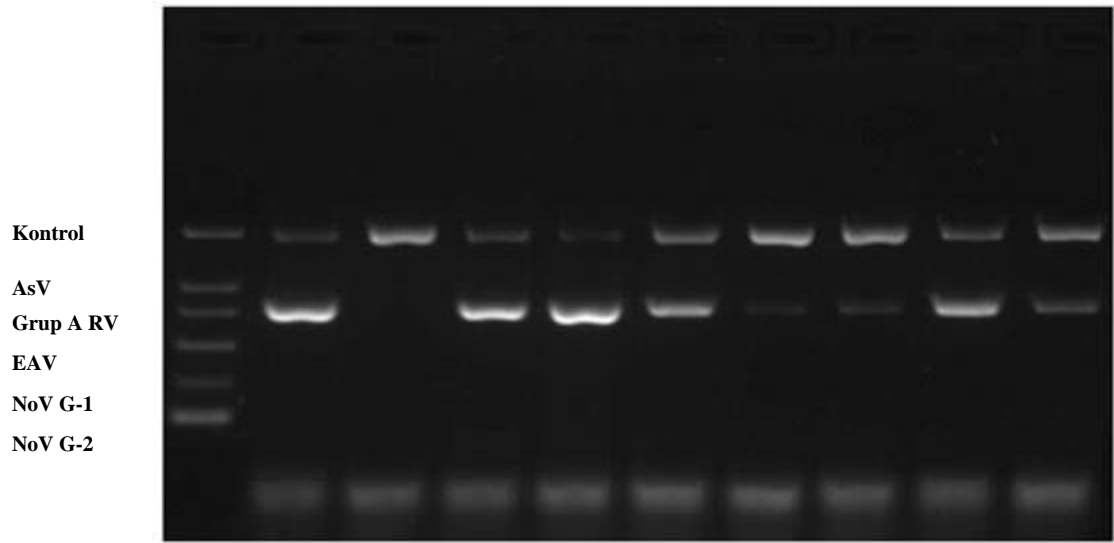
Şekil 3.3. HBoV tip 1'e ve pozitif kontrole ait melting eğrileri



Şekil 3.4. HBoV pozitif saptanan hastalara ait jel görüntüsü (AS, 15 Hasta; 316, B45 PK)



Şekil 3.5. HBoV Tip 1 saptanan hastalara ait jel görüntüsü (AS,15 Hastalar; 316, B45 PK)



Şekil 3.6. Multipleks RT-PCR pozitif Rotavirus örneklerin jel görüntüsü

## 4. TARTIŞMA

Akut gastroenterit olgularında hastaneye başvuru oranları her yıl kış aylarında en yüksektir ve hastanelere yapılan tüm başvuruların %15-22'sini oluşturmaktadır. Hastalığın en fazla görülme devreleri sıklıkla anne sütünden kesilme, transplasental antikorların azaldığı ve koruyucu bağışıklığın gelişmesinden önceki 3-24 aylık dönemdir (Simpson ve ark 2003). Enfeksiyöz diyarelerde etkenler göz önüne alındığında ise virüsler %50-70 oranda sorumludur. Akut viral diyareler özellikle yeni doğanlarda ve çocuklarda morbidite ve mortalitenin önemi nedenleri arasındadır. Mortalite 5 yaş altı çocuklarda her yıl 2 milyon olup %85'i gelişmekte olan ülkelerdedir (Kırdar 2014).

Akut gastroenterite en sık neden olan virüsler arasında RV, Calicivirüsler (Norovirüs (NoV) ve Sapovirüs (SaV)), Enterik adenovirüsler (EAV, Adenovirüs 40,41), Astrovirüsler (AstV) bulunmaktadır. Etiyolojik açıdan rolleri tam olarak bilinmeyen Torovirüs, Coronavirüs, Aichi virüs, Picobirnavirüs, Enterovirüs, Parechovirüs diğer gastroenterit virüsleridir. Bocavirüs ise Allender ve ark. (2005) tarafından tanımlanmış olan yeni bir gastroenterit etkeni virüsüdür (Kırdar 2014, Zhang ve ark 2014, Simpson ve ark 2003, Levidiotou ve ark 2009, Tran ve ark 2010).

Bocavirüs ilk kez 2005 yılında solunum yolu enfeksiyonlu çocukların nazofaringeal aspirat örneklerinde gösterilmiştir Bocavirüsün solunum yolu enfeksiyonlu hastaların nazofaringeal aspirat örneklerinde saptanması ile solunum yolu patojeni olduğu düşünülmüştür. (Allender ve ark 2005). Ancak bir çok çalışmada HBoV, gastroenteritli hastaların dışkı örneklerinde de saptanmıştır (Allender ve ark 2008, Yu ve ark 2008, Chieochansin ve ark 2008, Han ve ark 2009, Huang ve ark 2010, Jarti ve ark 2011, Jin ve ark 2011, Pham ve ark 2011, Wang ve ark 2014). HBoV dışkı örneklerinde sık olarak saptanmasına rağmen virüsün gastroenteritdeki rolü tam olarak anlaşılamamıştır. Ülkemizde dışkı örneklerinde HBoV varlığı ve tiplendirmesi konusunda Mitui ve ark'larının araştırması dışında çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Çocuk Hastalıkları ve Acil Servis'e akut gastroenterit şüphesi ile başvuran 96 hastaya ait dışkı örneğinde HBoV varlığı ve tiplendirmesi real time PCR yöntemiyle araştırılmıştır.



Birçok çalışma ile ülkemizde akut gastroenteritlerde saptanan viral etkenler arasında RV, EAV, NoV ve AsV gösterilmiştir (Altındış ve ark 2008, İnci ve ark 2009, Balcı ve ark 2010, Tekin 2010, Yüksel ve ark 2011, Rad ve ark 2011, Yazıcı ve ark 2013, Kırdar 2014). Ülkemizde çocuk yaş grubunda Altındış ve ark. yaptıkları çalışmada, RV %12.5, AdV %4.5, RV- AdV birlikteliğini %0.9 olarak belirtilmiştir. Balcı ve ark., RV %26.5, AdV %4.3, ikisinin beraber görülme oranını ise % 0.86 ve Tekin %16.7 RV, %1 AdV, RV- AdV birlikteliğini %0.4 olarak bildirmişlerdir. Görüldüğü gibi ülkemizde yapılan çalışmalarda, RV sıklığı %12.5 ile %27.8, AdV sıklığı %1 ile %4.5, RV- AdV birlikteliği ise %0.4 ile %0.9 arasında değişmektedir (Bulut ve ark 2003, Altındış 2008, İnci 2009, Tekin 2010, Balcı 2010, Berk 2011, Yüksel 2011). Bu çalışmalardaki viral etkenlerin sıklıklarındaki değişkenlik çalışmalardaki yaş aralığı, coğrafik bölge ve mevsimsel farklılıklara bağlıdır.

HBoV' ün solunum yolu patojeni olmasının yanı sıra gastroenterit etkeni olma hipotezi ülkemizde ve dünyada birçok araştırmaya konu olmuştur. Ülkemizde HBoV ile ilgili araştırma sayısı az olup çalışmamızın dışında Mitui ve ark' larının çalışması bulunmaktadır. Mitui ve ark., Bangaldeş ve ülkemizde akut gastroenteritli <5 yaş çocuklarda viral etkenlerin sıklığının ve moleküler özelliklerinin araştırmışlardır. Bu çalışmada ülkemizden 150 dışkı örneği değerlendirilmiştir. Dışkı örneklerinin %79.3'ünde tek virüs, %20, 7' sinde çoklu virüs belirlenmiştir. Adenovirüs en sık olup onu HBoV izlemiştir. HBoV tiplerinin dağılımında HBoV1 %7.7, HBoV 2A %53.8, HBoV3 %30.8 ve HBoV4 %7.7 bulunmuştur. HBoV2A en yüksek oranda saptanmıştır (Mitui ve ark 2014).

Çalışmamızda akut gastroenterit şüphesi ile gelen 96 olguya ait dışkı örneğinden 2'sinde (%2) HBoV pozitif bulunmuştur. Çalışmamızda akut gastroenterit şüphesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen 96 dışkı örneğinden 2'sinde (%2) HBoV pozitif bulunmuştur. HBoV tip 1 saptanan 2 hastanın yaklaşık viral yükleri birinci hastada  $6.10^3$  kopya/ml, ikinci hastada  $4.10^2$  kopya/ml olarak belirlenmiştir. Referans köken olmadığı için pozitif kontrol olarak viral yükleri sırasıyla  $4.10^6$  (PK1) ve  $4.10^2$  (PK2) kopya/ml. olan klinik örnekler kullanılmıştır.

Akut gastroenterit olgularında dışkı örneklerinde HBoV prevalansı %0.5 ile %20 arasında değişmektedir (Kim 2014, Cheng ve ark 2008, Albuquerque ve ark 2007, Chow ve ark 2010, Arthur ve ark 2009, Jin ve ark 2011, Wang ve ark 2011, Monavari ve ark 2013, Proenca ve ark 2014, Romani ve ark 2013, Risku ve ark 2012, Khamrin ve ark

2012). Çalışmamızda bulunan %2'lik oran Albuquerque ve ark, Cheng ve ark ile Chow ve ark'nın buldukları oranlara benzer bulunmuştur. Bazı çalışmalarda HBoV prevalansı %20'den fazla oranlarda saptanabilmektedir (Nawaz ve ark 2012).

Dünyada yapılan çalışmalarda tiplendirme çalışmalarının çoğunda HBoV2 en fazla oranda belirlenmiştir (Arthur ve ark 2009, Chow ve ark 2010, Kapoor ve ark 2007, Normasantos ve ark 2010, Wang ve ark 2011). Bazı çalışmalarda ise AGE örneklerinde HBoV1 diğer tiplerden daha fazla oranlarda saptandığı bildirilmektedir (Chow ve ark 2010, Kim 2014, Xiang ve ark 2014, Risku ve ark 2012). HBoV 3 ve HBoV 4, HBoV2 ve HBoV1'den daha az oranlarda saptanmaktadır. Semptomatik hastalarda HBoV tiplerinin prevalansı, HBoV tip 1 için %1.5-16, HBoV tip 2 için %21-26 arasında değişirken, HBoV tip 3 %1 ve HBoV tip 4 için %0.6'dır ( Shilgenden 2013, Chow ve ark 2010, Wang ve ark 2011, Kapoor ve ark 2010, Kantole ve ark 2010, Kim 2014, Santos ve ark 2010).

Tipe özgül real time PCR ile 2 HBoV pozitif örnek te HBoV tip 1 (%2) olarak belirlenmiştir. HBoV'ün diğer üç tipi saptanamamıştır. Bu sonucumuz Chow ve ark'ın ABD' de ile Wang ve ark'ın Çin' de yaptıkları çalışmalar ile benzer bulunmuştur (Chow ve ark 2010, Wang ve ark 2011). HBoV tip 1, Chow ve ark'ın yanısıra Kim ve ark. (%12.5), Khamrin ve ark (%5.6) ve Xiang ve ark (%26)'larının yaptıkları çalışmalarda da diğer HBoV tiplerine göre en yüksek oranlarda rapor edilmiştir (Chow ve ark.2012, Kim ve ark. 2014, Khamrin ve ark 2012, Xiang ve ark 2014).

HBoV tiplendirilmesi ile ilgili dünyada çok sayıda çalışma yapılmıştır. Han ve ark (2009) 358 dışkı örneğinde sadece HBoV2'yi %3.6 (13:358) oranında pozitif olarak bulmuşlardır. Chow ve ark (2010) 479 dışkı örneğinde; HBoV tip 1'i %2.1, HBoV tip2'yi %1.3 olarak belirlemişlerdir ancak çalışmada hiç HBoV tip 3 pozitif olguya rastlanılmamıştır. Kapoor ve ark (2009) Pakistan ve İngiltere'de yaptıkları çalışmalarında Pakistan'da %5, İngiltere'de %0.4 oranında HBoV tip 2 saptamışlardır. Yine aynı araştırmacılar 2010 yılında Nepal, Nijerya, Tunus ve ABD'den toplam 641 dışkı örneğinde HBoV 2A'yı 4 örnekte (%1), 2B'yi 76 örnekte (%12), tip 3'ü 11 örnekte (%2) ve tip 4'ü 6 örnekte pozitif (%1) olarak belirlemişlerdir. Chow ve ark ABD'de 2007 ile 2008 yılları arasında 479 dışkı örneğinde HBoV tip 2'yi 6 örnekte pozitif (%1) saptamışlardır. Çalışmada HBoV tip 3'e rastlanılmamıştır. Kantole ve ark (2010) Finlandiya'da yaptıkları çalışmalarında, 250 dışkı örneğinde HBoV tip 2'yi %2 ve HBoV tip 3'ü %0.4 oranlarında rapor etmişlerdir. Güney Kore' de 2008- 2010 yılları arasında yapılan bir çalışmada ise 320 dışkı örneğinden 40 örnekte sadece HBoV tip 1 %12.5 oranında belirlenmiştir (Kim

2014). Wang ve ark (2011) Çin’de yapılan iki ayrı çalışmadan birincisinde, 366 AGE’ li çocuk hastadan alınan dışkı örneklerinde HBoV tip 1 %2.5, HBoV tip 2 %9 ve HBoV tip 3 %0.5 oranlarında bulunmuştur (Wang ve ark 2011). İkinci çalışmada, 331 dışkı örneğinde HBoV1 %7.8, HBoV2 %4.5, HBoV3 %2.1 ve HBoV4 %0.3 oranlarında rapor edilmiştir (Xiang ve ark 2014).

Santos ve ark (2010) 807 dışkı örneğinden oluşan çalışmalarında HBoV3’ü %0.6, HBoV2’yi %20.8 olarak belirlemişlerdir. Tip 3 pozitif saptanan olgulardan 3 hasta ve HBoV tip 2 pozitif olgulardan ise 11 hasta AIDS’ tir. Bu çalışmaya göre immün sistemi baskılanmış olan bireylerin HBoV ile enfekte olması yüksek insidans göstermektedir. Sousa ve ark (2012) yaptıkları çalışmada 762 dışkı örneğinde HBoV1 ve HBoV3’ü saptamışlardır. Risku ve ark (2012) araştırdıkları 878 dışkı örneğinden. HBoV1’i 49 (%5.6) örnekte, HBoV tip 2 29 (%3.3) örnekte, HBoV tip 3 ise 8 (%0.9) örnekte göstermişlerdir. Khamrin ve ark (2012) Japonya’da 177 dışkı örneğinde belirledikleri HBoV’ün tiplendirilmesi sonucunda HBoV1 %3.9 ve HBoV2A’yı %2.2 oranlarında rapor etmişlerdir. Tüm bu çalışmalar değerlendirildiklerinde HBoV2’nin en fazla oranda belirlendiği görülmektedir.

Koenfeksiyon aralığının ise % 60 ile % 90 arasında değiştiği ortak çalışmalarla gösterilmiştir (Schildgen 2013). Koenfeksiyon varlığını araştırmak amacıyla 96 dışkı örneğinde Rotavirüs, Norovirüs, Astrovirüs ve Enterik adenovirüs multipleks RT-PCR tekniği ile çalışılmış ve 40 (%41.6) örnekte Rotavirüs ve 6 (%6.2) örnekte Norovirüs pozitif bulunmuştur. Örneklerin hiç birinde Enterik adenovirüs ve Astrovirüs saptanmamıştır. HBoV1 pozitif 2 örnekte RV ile koenfeksiyon görülmüştür. Bu da diğer çalışmalar ile benzerlik göstermektedir.

Sousa ve ark (2012) yaptıkları çalışmada 762 dışkı örneğinde toplam 44 (%5.8) kişi HBoV pozitifliği yanında 14 (%31.8) olguda koenfeksiyon görülmüştür. Koenfeksiyon görülen hastalardan 9’unda RV ile 5 hastada Aichi virüs saptanmıştır. Proenca ve ark (2014) 349 dışkı örneğinden 22’sinde sadece HBoV pozitif iken, 8 olguda RV ile 7 olguda ise NoV ile koenfeksiyon görülmüştür. Xiang ve ark (2014) Çin’ de 331 dışkı örneğini dahil ettikleri çalışmalarında ko enfeksiyonlarda RV baskın viral ajan olarak gösterilmiştir. Albuquerque ve ark (2007) 705 dışkı örneğinde HBoV pozitifliği yanısıra RV, AdV ve NoV ile koenfeksiyon gözlenmiştir. Cheng ve ark (2008) 397 dışkı örneğinden 14(%3.5)’ ünde HBoV pozitifliği saptamışlardır. Bunlardan 7 olgu RV, 2 olgu Calicivürüs ile ko enfeksiyon göstermektedir. Mitui ve ark (2014) 150 dışkı örneği değerlendirmiş ve dışkı örneklerinin %79.3’ünde tek virüs, %20.7’sinde çoklu virüs belirlenmiştir.

AGE vakalar çocuk yaş grubunda en fazla görülmelerine ve hastaneye yatış gerektiren enfeksiyonlarda öncelikle altta yatan bir hastalığı olan hastalarda ortaya çıkmalarına karşın HBoV ile tüm yaş gruplarının etkilenebileceği bildirilmektedir. Ağır klinik tablo, çocuklar, kanser hastaları ve diğer risk gruplarındaki erişkinlerde saptanabilmektedir (Schildgen 2013). Çalışmamızda pozitif saptanan 2 olgu, literatürde yer alan çalışmalara benzer şekilde 0-24 ay grubunda bulunmaktaydı. Ayrıca çalışma grubumuzdaki olguların %51.1' i (49 hasta) çocuk yaş grubunda yer almaktadır (Monavari ve ark 2013, Xiang ve ark 2014, Han ve ark 2009, Mitui ve ark 2014, Jin ve ark 2011, Arthur ve ark 2009).

HBoV enfeksiyonu, sonbahar ve kış mevsiminde daha yüksek oranlarda görülmektedir (Romani ve ark 2013, Lau ve ark, 2007, Jin ve ark 2011, Kim 2014). Ancak, mevsimsel bir profil olmadığını belirten çalışmalarda bulunmaktadır (Bastien ve ark 2006, Nadji ve ark, 2010). Çalışmamızda HBoV tip 1 olarak saptanan olgular sonbahar ayında AGE şüphesi ile başvurmuşlardır. HBoV pozitif bulunan olguların mevsimsel profili dünyadaki diğer çalışmalar ile benzerlik göstermektedir.

## 5. SONUÇ

Çocuk yaş grubunda akut gastroenteritlerde en sık saptanan etkenler virüslerdir. Viral gastroenteritlerin etkenleri arasında en sık Rotavirüs, Norovirüs, Adenovirüs tip 40/41, Astrovirüs ve Sapovirüs gibi virüslerin yanı sıra moleküler yöntemlerdeki gelişmelere bağlı olarak son yıllarda tanımlanan Bocavirüs' de bir etken olarak karşımıza çıkmaktadır.

Bu çalışmada Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Çocuk Hastalıkları ve Acil Servis'e akut gastroenterit şüphesi ile başvuran 96 hastaya ait dışkı örnekleri Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında çalışılmıştır. Bu dışkı örneklerinden DNA izolasyonu sonrasında real time PCR yöntemi ile HBoV varlığı ve HBoV tipleri tipe özgül real time PCR ile araştırılmıştır. Çalışmamızın sonucunda;

1-Rotavirüs, Norovirüs, Astrovirüs ve Enterik adenovirüsün birlikte belirlenebildiği multipleks RT-PCR ile 96 dışkı örneğinden 40(%41.6)' ında Rotavirüs, 6(%6.2) örnekte Norovirüs pozitif bulundu. Örneklerin hiçbirinde Enterik adenovirüs ve Astrovirüs saptanmadı.

2- Real time PCR yöntemi 2 (%2) örnekte HBoV varlığı saptandı.

3- Tiplendirme sonucunda pozitif olguların HBoV tip 1 olduğu belirlendi. HBoV tip 2, 3 ve 4 saptanmadı.

4- Miks infeksiyon 2 (%100) vakada RV ile birlikte görüldü.

Bu çalışma ile akut gastroenteritlerde etiyolojik ajan olarak Rotavirüs, Norovirüs, Adenovirüs tip 40/41, Astrovirüs ile birlikte Bocavirüs' ün de gastroenterite neden olabileceği belirlenmiştir. Gastroenteritlerde viral etkenlerin belirlenmesi, gereksiz antibiyotik kullanımının önlenmesini hem maliyeti hem de patojenlerde antibiyotiklere karşı direnç gelişimini azaltacaktır.

## ÖZET

### **Gastroenteritli Hastaların Dışkı Örneklerinde Human bocavirüs (HBoV)' ün Moleküler Yöntemle Araştırılması**

Akut viral gastroenteritler, dünya çapında insanlarda morbidite ve mortalitenin en önemli bir nedeni olup, tüm yaş gruplarında görülmektedir. Akut gastroenterite neden olan viral patojenler Rotavirüs (RV), Norovirüs (NoV), Sapovirüs (SaV), Adenovirüs (HAdV), Astrovirüs (HAstV) ve Bocavirüs (BoV)' tür. Bu çalışmanın amacı Aydın ilinde akut gastroenteritli hastalarda HBoV'u varlığını ve tiplerini real time PCR yöntemini kullanarak araştırılmasıdır.

Çalışmaya Eylül 2013 ile Ekim 2014 tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Çocuk Hastalıkları Polikliniği ve Acil Servisten Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına akut gastroenterit tanısı ile gönderilen 96 dışkı örneği dahil edildi. Hastalardan alınan dışkı örneklerinde gastroenterit etkeni virüsler multipleks PCR, HBoV'un varlığı ve tiplendirilmesi tiplere özgül real time PCR yöntemiyle belirlendi.

Multipleks RT-PCR ile 96 dışkı örneğinden 40 (%41,6)' nda Rotavirüs, 6 (%6,2) örnekte Norovirüs pozitif bulundu. Örneklerin hiçbirinde Enterik adenovirüs ve Astrovirüs saptanmadı. Real time PCR yöntemi 2 (%2) örnekte HBoV varlığı saptandı. Tiplendirme sonucunda pozitif olguların HBoV tip 1 olduğu belirlendi. HBoV 2,3 ve 4 saptanmadı. Miks infeksiyon 2 (%100) vakada RV ile birlikte görüldü.

Sonuç olarak, akut gastroenterit şüphesi ile gelen çoğunluğunu çocuk yaş grubunun oluşturduğu çalışmamızda %2 oranında HBoV tip 1 saptanmıştır. Etiyolojik ajan olarak tüm dışkı örneklerinde %41.6 oranında Rotavirus, %6.2 oranında Norovirüs pozitif bulunmuştur. Gastroenteritlerde viral etkenlerin belirlenmesi, gereksiz antibiyotik kullanımının önlenmesini hem maliyeti hem de patojenlerde antibiyotiklere karşı direnç gelişimini azaltacaktır.

**Anahtar sözcükler:** Gastroenterit, Rotavirüs, HBoV, HBoV tip, Real Time PCR

## SUMMARY

### **Molecular Detection of Human bocavirus (HBoV) in Stool Samples in Patients with Acute Gastroenteritis**

Acute viral gastroenteritis in human beings is the most important cause of morbidity and mortality seen in all age groups in worldwide. Viral pathogens that cause acute gastroenteritis are rotavirus (RV), norovirus (NoV), sapovirus (SaV), adenovirus (HAdV), astrovirus (HastV) and bocavirus (HBoV). The purpose of this study is to investigate the presence of HBoV and its types in patients acute gastroenteritis by using real time PCR.

A total of 96 patients who were admitted to the Adnan Menderes University Training and Research Hospital Pediatrics Clinic and Emergency Department of Medical Microbiology Laboratory between November 2013 and October 2014 were included in the study. Cause of gastroenteritis viruses in stool samples from patients with acute gastroenteritis were examined using multipleks PCR. Determining presence of HBoV and its types were examined using real time PCR.

It was detected that 40 (41.1%) and 6 (6.2%) samples were positive in all samples rotavirus and norovirus, respectively by multiplex RT-PCR. Neither enteric adenovirus nor astrovirus were detected in the examples. Presence of HBoV was detected in 2 (2%) samples. According to results of typing HBoV, it was determined that positive cases were HBoV type 1. HBoV 2, 3 and 4 were not detected. Mixed infections with RV were observed in 2 (100%) patients.

As a result, in patients with acute gastroenteritis as child age mostly it was determined that HBoV type 1 was 2% in our study. 41.6% and 6.2% of all stool samples were Rotavirus pozitivitiy and Norovirus pozitivitiy, respectively as etiologic agents. Determination of viral factor in gastroenteritis will reduce the cost of antibiotics by preventing the usage of them unnecessarily and will reduce development of resistance to antibiotics in pathogen.

**Key words:** Gastroenteritis, Rotavirus, HBoV, HBoV type, Real Time PCR

## KAYNAKLAR

Abdel-Moneim AS, Kamel MM, Al-Ghamdi AS, Al-Malky MIR. Detection of bocavirus in children suffering from acute respiratory tract infections in Saudi Arabia. *PLoS One* 2013; 8(1):e55500.

Alaşehir E, Balıkçı A, Topkaya A. Akut gastroenteritli çocuk hastalarda rotavirüs antijen pozitifliği ve pozitifliğin demografik verilerle ilişkisi. *Ankem Dergisi* 2014;28(2):41-43.

Albayrak N, Çağlayık D, Altaş AB, Korukluoğlu G, Ertek M, Refik. Saydam Hızlı Sıhha Merkezi Başkanlığı, Viroloji Referans ve Araştırma Laboratuvarı, 2009 yılı akut viral gastroenterit verilerinin değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 2011;68 (1): 9 –15.

Albuquerque MC<sup>1</sup>, Rocha LN, Benati FJ, Soares CC, Maranhão AG, Ramírez ML, Erdman D, Santos N. Human bocavirus infection in children with gastroenteritis, Brazil. *Emerging Infectious Disease* 2007;13(11):1756-8.

Allander T, Tammi MT, Eriksson M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A, Andersson B. Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 2005;102:12891–6.

Allander T, Jartti T, Gupta S, Niesters HG, Lehtinen P, Osterback R, Vuorinen T, Waris M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A, van den Hoogen BG, Hyypiä T, Ruuskanen O. Human bocavirus and acute wheezing in children. *Clinical Infectious Diseases* 2007; 44(7):904-10.

Allender T, Human bocavirus. *Journal of Clinical Virology* 2008;41(1):29–33

Arden KE, McErlean P, Nissen MD, Sloots TP, Mackay IM. Frequent detection of human rhinoviruses, paramyxoviruses, coronaviruses, and bocavirus during acute respiratory tract infections. *Journal of Medical Virology*. 2006 ;78(9):1232-40.

Arnold JC, Singh KK, Spector SA, Sawyer MH. Human bocavirus: prevalence and clinical spectrum at a children's hospital. *Clinical Infectious Diseases* 2006;43:283–288.

Arthur Higgins GD, Davidson GP, Givney RC, Ratcliff RM. A novel bocavirus associated with acute gastroenteritis in Australian children. *PLoS Pathogens* 2009;5: e1000391.



- Balcı IY, Polat Y, Cövüt İE, Canural R, Görüşen İ, Sarı F. Denizli’de 0-5 yaş arası gastroenteritli çocuklarda rotavirüs ve adenovirüs Tıp 40/41 Sıklığı, Yeni Tıp Dergisi 2010; 27: 15-17.
- Baskın E, Türkay S, Gökalp AS. Adenovirus gastroenteritleri. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri 1995;15:121-125.
- Bastien N, Brandt K, Dust K, Ward D, Li Y. Human bocavirus infection, Canada. Emerging Infectious Diseases 2006;12, 848–850.
- Berk E, Kayman T. Akut gastroenteritli çocuk hastalarda rotavirüs sıklığı, ANKEM Dergisi 2011;25(2): 103-6.
- Bhattacharya R, Sahoo GC, Nayak MK, Ghosh S, Dutta P, Bhattacharya MK, Mitra U, Gangopadhyay D, Dutta S, Niyogi SK, Saha DR, Naik TN, Bhattacharya SK, Krishnan T. Molecular epidemiology of human astrovirus infections in Kolkata, India. Infection, Genetics and Evolution 2006;6: 425-435.
- Bishop RF, Davidson GP, Holmes IH, Ruck BJ. Evidence for viral gastroenteritis. New England Journal of Medicine 1973; 289:1096-1097.
- Boga JA, Melon S, Nicieza I, Diego İ, Villar M, Parra F, Ona M. Etiology of sporadic cases of pediatric acute gastroenteritis in Asturias, Spain, and genotyping and characterization of Norovirus strains involved. Journal of Clinical Microbiology 2004; 2668-2674.
- Bon F, Fascia P, Dauvergne M et al. Prevalence of group A rotavirus, human calicivirus, astrovirus, and adenovirus type 40 and 41 infections among children with acute gastroenteritis in Dijon, France. Journal of Clinical Microbiology 1999; 37(9):3055-3058.
- Bozdayı G. Viral Gastroenteritlerin Laboratuvar Tanısında Güncel Durum 8. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi. Ankara. 4-7 Haziran 2014.
- Bulut Y, İşeri L, Agel E, Durmaz B. Akut gastroenterit ön tanılı çocuklarda rotavirüs pozitifliği, İnönü Üniversitesi Tıp Bülteni 2003;10(3):143-5.
- Campe H, Hartberger C, Sing A. Role of human bocavirus infections in outbreaks of gastroenteritis. Journal of Clinical Virology 2008; 43: 340–342.

Cheng WX, Jin Y, Duan ZJ, Xu ZQ, Qi HM, Zhang Q, Yu JM, Zhu L, Jin M, Liu N, Cui SX, Li HY, Fang ZY. Human bocavirus in children hospitalized for acute gastroenteritis: a case-control study. *Clinical Infectious Disease*. 2008;15;47(2):161-7.

Chieochansin T, Thongmee C, Vimolket L, Theamboonlers A, Poovorawan Y. Human bocavirus infection in children with acute gastroenteritis and healthy controls. *Japanese Journal of Infectious Disease* 2008; 61, 479–481.

Chow BDW, Ou Z, Esper FP. Newly recognized bocaviruses (HBoV, HBoV2) in children and adults with gastrointestinal illness in the United States. *Journal of Clinical Virology* 2010; 47: 143–147.

Cortese MM, Parashar UD. Prevention of rotavirus gastroenteritis among infants and children: recommendations of the advisory committee on immunization practices (ACIP). centers for disease control and prevention (CDC). *MMWR Recommendations and Reports* 2009; 6;58(RR-2):1-25.

Cruz JR, Cáceres P, Cano F et al. Adenovirus types 40 and 41 and rotaviruses associated with diarrhea in children from Guatemala. *Journal of Clinical Microbiology* 1990;28(8):1780–1784.

De Bruin E, Duizer E, Vennema H, Koopmans MP. Diagnosis of norovirus outbreaks by commercial ELISA or RT-PCR. *Journal of Virological Methods* 2006;137:259-264.

Demirci P. Akut alt solunum yolu enfeksiyonu tanısı ile izlenen 5 yaş altı çocuklarda Human Bocavirus (HBoV) prevalansı. Uzmanlık Tezi. T.C. Sağlık Bakanlığı Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi 1. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği. İstanbul-2009.

Fry AM, Lu X, Chittaganpitch M, Peret T, Fischer J, Dowell SF. Human bocavirus: a novel parvovirus epidemiologically associated with pneumonia requiring hospitalization in Thailand. *Journal of Infectious Disease* 2007;195:1038–1045.

Gaggero A, O'ryan M, Noel JS, Glass RI, Monroe SS, Mamani N. Prevalence of astrovirus infection among Chilean children with acute gastroenteritis. *Journal of Clinical Microbiology* 1998;36(12):3691-3693.

Guix S, Bosch A, Pintó RM. Human astrovirus diagnosis and typing: current and future prospects. *Letters in Applied Microbiology* 2005; 41:103-105.

Guix S, Caballero S, Villena C et al. Molecular epidemiology of astrovirus infection in Barcelona, Spain. *Journal of Clinical Microbiology* 2002;40(1):133- 139.

Gür E, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Rotavirus Epidemiyolojisi ve Rotavirus Aşısı 'AŞILARA GÜNCEL YAKLAŞIM' Sempozyum Dizisi No:59 Aralık 2007; s.17-19

Han TH, Chung JY, Hwang ES. Human bocavirus 2 in children, South Korea. *Emerging Infectious Diseases* 2009;15:1698–1699.

Han TH, Kim CH, Park SH, Kim EJ, Chung JY, Hwang ES. Detection of human bocavirus-2 in children with acute gastroenteritis in South Korea. *Archives of Virology* 2009;154, 1923–1927.

Hedman L, Söderlund-Venermo M, Jartti T, Ruuskanen O, Hedman K. Dating of human bocavirus infection with proteindenaturing IgG-avidity assays-secondary immune activations are ubiquitous in immunocompetent adults. *Journal of Clinical Virology* 2010;48: 44–48.

<http://www.dpvweb.net/notes/showgenusmembers.php?genus=Bocavirus>. 01.10.2014

Huang Y, Mao P, Wang H.. Detection of, and frequent co-infection with, human bocavirus in faecal specimens from children in Wuhan, China. *Clinical Microbiology and Infection*. 2010;16, 490–492.

Jartti T, Hedman K, Jartti L, Ruuskanen O, Allander T, Söderlund-Venermo M. Human bocavirus-the first 5 years. *Reviews in Medical Virology* 2011;22, 46–64.

Jin Y, Cheng WX, Xu ZQ, Liu N, Yu JM, Li HY, Jin M, Li DD, Zhang Q, Duan ZJ. High prevalence of human bocavirus 2 and its role in childhood acutegastroenteritis in China. *Journal of Clinical Virology* 2011;52, 251–253

Lindner J, Karalar L, Schimanski S, Pfister H, Struff W, Modrow S. Clinical and epidemiological aspects of human bocavirus infection. *Journal of Clinical Virology* 2008;(43)391–395

Kantola K, Sadeghi M, Antikainen J, Kirveskari J, Delwart E, Hedman K, Söderlund-Venermo Maria. Real-time quantitative PCR detection of four human bocaviruses. *Journal of Clinical Microbiology* 2010;48: 4044–4050.

Kapoor A, Slikas E, Simmonds P, Chieochansin T, Naeem A, Shaukat S, et al. A newly identified bocavirus species in human stool. *Journal of Infectious Diseases* 2009;199:196–200.

Kapoor A, Simmonds P, Slikas B, Li L, Bodhidatta L, Sethabutr O, Triki H, Bahri O, Oderinde B, Baba M, Bukbuk D, Besser J, Bartkus J, Delwart E. Human bocaviruses are highly diverse, dispersed, recombination prone, and prevalent enteric infections. *Journal of Infectious Diseases* 2010;1; 201(11): 1633–1643.

Kesebir D, Vazquez M, Weibel C, Shapiro ED, Ferguson D, Landry ML, Kahn JS. Human bocavirus infection in young children in the United States: molecular epidemiological profile and clinical characteristics of a newly emerging respiratory virus. *Journal of Infectious Diseases* 2006; 194(9):1276-82.

Kırdar S. Viral diyare etkenleri ve tanıları uluslararası katılımlı diyare günleri kitapçığı. 15-16 May 2014 62-73.

Kim S. Prevalence of human bocavirus 1 among people without gastroenteritis symptoms in South Korea between 2008 and 2010. *Archives of Virology* 2014; 159:2741–2744.

Kurugöl Z, Salman N. Rotavirus infeksiyonları ve aşıları. *ANKEM Dergisi* 2008; 22:160-170.

Lau SK, Yip CC, Que TL, Lee RA, Au-Yeung RK, Zhou B, So LY, Lau YL, Chan KH, Woo PC, Yuen KY. Clinical and molecular epidemiology of human bocavirus in respiratory and fecal samples from children in Hong Kong. *Journal of Infectious Diseases* 2007; 196: 986-93.

Lee JI, Chung JY, Han TH, Song MO, Hwang ES. Detection of human bocavirus in children hospitalized because of acute gastroenteritis. *Journal of Infectious Diseases* 2007;196:994–997.

Levidiotou S, Gartzonika C, Papaventsis D, Christaki C, Priavali E, Zotos N, et al. Viral agents of acute gastroenteritis in hospitalized children in Greece. *Clinical Microbiology and Infection* 2009;15(5):596-8.

Lüsebrink J, Schildgen V, Tillmann RL, et al. Detection of head-to-tail DNA sequences of human bocavirus in clinical samples. *PLoS One* 2011;6: e19457.

Maggi F, Andreoli E, Pifferi M, Meschi S, Rocchi J, Bendinelli M. Human bocavirus in Italian patients with respiratory diseases. *Journal of Clinical Virology* 2007; 38(4):321-5.

Manning A, Russell V, Eastick K, Leadbetter GH, Hallam N, Templeton K, Simmonds P. Epidemiological profile and clinical associations of human bocavirus and other human parvoviruses. *Journal of Infectious Diseases* 2006; 194(9):1283-90.

Meral M, Bozdayı G, Özkan S, Dalgıç B, Alp G, Ahmed K. Akut gastroenteritli çocuklarda rotavirus prevalansı, serotip ve elektroferotip dağılımı. *Mikrobiyoloji Bülteni* 2011; 45(1): 104-112.

Monavari SH, Noorbakhsh S, Mollaie H, Fazlalipour M, Abedi Kiasari B. Human Bocavirus in Iranian children with acute gastroenteritis. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran*. 2013;27(3):127-31.

Nadji SA, Poos-Ashkan L, Khalilzadeh S, Baghaie N, Shiraghaei MJ, Hassanzad M, Bolursaz MR. Phylogenetic analysis of human bocavirus isolated from children with acute respiratory illnesses and gastroenteritis in Iran. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 2010; 42: 598-603.

Nawaz S, Allen DJ, Aladin F, Gallimore C, Iturriza-Go'mara M. Human bocaviruses are not significantly associated with gastroenteritis: results of retesting archive DNA from a case control study in the UK. *PLoS One* 2012;7:e41346.

Neske F, Blessing K, Tollmann F, Schubert J, Rethwilm A, Kreth HW, Weissbrich B. Real-time PCR for diagnosis of human bocavirus infections and phylogenetic analysis. *Journal of Clinical Microbiology* 2007;45(7):2116-22.

Nyugen V, Le Van P, Le Huy C, Nyugen GK, Weintraub A. Etiology and epidemiology of diarrhea in children in Hanoi, Vietnam. *International Journal of Infectious Diseases* 2006;10: 298-308.

Öktem MA. Rotavirüsler, Kalisivirüsler, Astrovirüsler, Enterik Adenovirüsler ve diğer ishal yapan virüsler. İn: Başustaoğlu A, Kubar A, Yıldırım ŞT, Tanyüksel M (eds). *Klinik Mikrobiyoloji*. 9.baskı. Ankara:Atlas Kitapçılık Ltd. Şti. 2009:1453-1500.

Özkan A, Çocukluk çağı akut gastroenterit olgularında etiyolojik ajanların belirlenmesi. Uzmanlık tezi. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Adana, Türkiye-2005.

Özkasap S, Yıldırım A, Yüksel S. Akut gastroenterit ve tedavisi. *Klinik Pediatri*. 2004; 3:12-18.

Özkul AA, Kocazeybek BS, Turan N, Reuter G, Bostan K, Yılmaz A, Altan E, Uyunmaz G, Karaköse AR, Muratoğlu K, Eevli M, Helps CR, Yılmaz H. Frequency and phylogeny of norovirus in diarrheic children in İstanbul, Turkey. *Journal of Clinical Virology* 2011;51:160-164.

Öztürk R, Norovirüs ve diğer Calicivirüsler. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Wilke A, Söyletir G, Doğanay M. 3. Baskı. Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri.2008;s.:1832-1837.

Pham NT, Trinh QD, Chan-It W, Khamrin P, Nishimura S, Sugita K, Maneekarn N, Okitsu S, Mizuguchi M, Ushijima H. Human bocavirus infection in children with acute gastroenteritis in Japan and Thailand. *Journal of Medical Virology* 2011;83,286–290.

Plantenga MS, Shiferaw B, Keene WE, Biggs C, Tery JM, Grenz L, Cieslak PR. *Emerging Infectious Diseases* 2011;17(8):1553-1555.

Proenca-Modena JL, Paula FE, Buzatto GP, Carezzi LR, Saturno TH, Prates MC, Silva ML, Delcaro LS, Valera FCP, Tamashiro E, Anselmo-Lima WT, Arruda E. Hypertrophic adenoid is a major infection site of Human Bocavirus 1. *Journal of Clinical Microbiology* 2014;52(8):3030–3037.

Risku M, Kätkä M, Lappalainen S, Räsänen S, Vesikari T. Human bocavirus types 1, 2 and 3 in acute gastroenteritis of childhood. *Acta Paediatrica* 2012;101(9):e405-10.

[http://puader.org.tr/files/file/pdf/puader\\_kongre\\_2/56.pdf](http://puader.org.tr/files/file/pdf/puader_kongre_2/56.pdf).22.05.2014

Nawaz S, David J. Allen, Farah Aladin, Christopher Gallimore, and Miren Iturriza. Gómara Human Bocaviruses are not significantly associated with gastroenteritis: Results of retesting archive DNA from a case control study in the UK. *Plos One* 2012;7(7).

Romani S, Mohebbi SR, Khanyaghma M, Azimzadeh P, Bozorgi SM, Damavand B, Jadali F. Detection of human bocavirus 1, 2 and 3 from patients with acute gastroenteritis. *Gastroenterology and Hepatology from Bed to Bench* 2013;6:S77–S81.

Santos N, Peret TC, Humphrey CD, Albuquerque MC, Silva RC, Benati FJ, Lu X, Erdman DD. Human bocavirus species 2 and 3 in Brazil. *Journal of Clinical Virology* 2010;48(2):127-30.

Sauerbrei A, Wutzler P. Testing thermal resistance of viruses. *Archives Virology* 2009; 154(1): 1159.

- Schildgen O, Human Bocavirus: Lessons learned to date; Pathogens 2013;2,1-12.
- Shimizu H, Phan TG, Nishimura S, Okitsu S, Maneekarn N, Ushijima H. An outbreak of adenovirus serotype 41 infection in infants and children with acute gastroenteritis in Maizuru City, Japan. Infection, Genetics and Evolution 2007;7(2):279-284.
- Sırmatel F. Viral gastroenteritler. “ Nasıl tanırım? Nasıl tedavi ederim?” Simpozyumu. 30 Ocak 2013. Ankara.
- Siebenga JJ, Vennema H, Zheng DP, Vinje J, Lee BE, Pang XL, Ho ECM, Lim W, Choudekar A, Broor S, Halperin T, Rasool NGB, Hewitt J, Greening GE, Jin M, Duan ZJ, Lucero Y, O’ryan M, Hoehne M, Schreier E, Ratcliff RR, White PA, Iritani N, Reuter G, Koopmans M, Norovirus illness is a global problem: emergence and spread of norovirus GII.4 variants, 2001-2007. Journal of Infectious Diseases 2009;200:802-12.
- Simpson R, Aliyu S, Iturriza-Gomara M, Desselberger U, Gray J. Infantile viral gastroenteritis: On the way to closing the diagnostic gap. Journal of Medical Virology 2003;70: 258–262.
- Stephen GB. Adenovirus. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. 6th ed. Livingstone: Elsevier Inc. 2004;1835-1841.
- Tekin A. Mardin’deki akut gastroenteritli çocuklarda Rotavirüs ve Enterik Adenovirüs sıklığı, Klinik Denel Araştırma Dergisi 2010; 1(1):41-45.
- Tran DN, Nguyen TQN, Nguyen TA, Hayakawa S, Mizuguchi M, Ushijima H. Human bocavirus in children with acute respiratory infections in Vietnam, Journal of Medical Virology 86:988–994 (2014)
- Treanor JT, Dolin R. Astroviruses and Picobirnaviruses. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. (eds). Principles and practice of infectious diseases. 6th ed. Livingstone: Elsevier Inc. 2004;2201-2203.
- Tümgör A. Çocuk yaş grubunda görülen gastroenteritlerde viral ve bakteriyel etkenlerin klasik ve moleküler yöntemlerle araştırılması. Uzmanlık tezi. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye-2010.
- Uhnöo I, Svensson L, Wadell G. Enteric adenoviruses. Baillieres Clinical Gastroenterology 1990;4(3):627-642

- Ustaçelebi Ş. Rotaviruslar. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara, Güneş Kitabevi, 1999;973-975.
- Verma H, Chitambar SD, Varanasi G. Identification and characterization of enteric adenoviruses in infants and children hospitalized for acute gastroenteritis. *Journal of Medical Virology* 2009;81(1):60-64.
- Vicente D, Cilla G, Montes M, Pérez-Yarza EG, Pérez-Trallero E. Human bocavirus, a respiratory and enteric virus. *Emerging Infectious Diseases* 2007;13(4):636-7.
- Wang Y, Gonzalez R, Zhou H, Li J, Li Y, Paranhos-Baccalà G, Vernet G, Guo L, Wang J. Detection of human bocavirus 3 in China. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 2011;30,799–805.
- Xiang JY, Li DD, Ma X, Guo YQ, Duan ZJ, Li YN. Etiological study of human bocavirus 1-4 in children with acute diarrhea in Lanzhou, China. *Chinese Journal of Virology* 2014;30(4):402-7.
- Wang J, Xu Z, Niu P, Zhang C, Zhang J, Guan L, Kan B, Duan Z, Ma X. A two-tube multiplex reverse transcription PCR assay for simultaneous detection of viral and bacterial pathogens of infectious diarrhea. *BioMed Research International* 2014;1-9.
- Wilhelmi I, Roman E, Sánchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. *Clinical Microbiology and Infection* 2003;9(4):247-262.
- Y. Liu, Z. Q. Xu, Q. Zhang. Simultaneous detection of seven enteric viruses associated with acute gastroenteritis by a multiplexed Luminex-based assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 2012; 50(7): 2384–2389.
- Yasa O, Ergüven M, Karacaatakan S ve ark. Yatarak izlenen rotavirus vakalarımızın epidemiyolojik özellikleri ve nazokomiyal İnfeksiyon. *Çocuk Dergisi* 2009;9(3):127-130.
- Yazıcı V, Manzur Y, Akbulut A. Akut gastroenteritli olgularda rotavirus ve enterik adenovirus infeksiyonlarının sıklığının araştırılması. *Klinik Dergisi* 2013; 26(1): 13-6.
- Yu JM, Li DD, Xu ZQ, Cheng WX, Zhang Q, Li HY, Cui SX, Miao-Jin Yang SH, Fang ZY, Duan ZJ. Human bocavirus infection in children hospitalized with acute gastroenteritis in China. *Journal of Clinical Virology* 2008;42,280–285.



Yüksel P, Çelik DG, Güngördü Z, Ziver T, İzmirli S, Yakar H, Sarıbaş S, Aslan M, Kocazeybek B. Çocukluk yaş grubu gastroenteritlerinde rotavirus antijen pozitifliğinin değerlendirilmesi, *Klinik Dergisi* 2011; 24(1): 48-51.

Zaghloul M Z. Human bocavirus (HBoV) in children with respiratory tract infection by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and qualitative polymerase chain reaction (PCR). *Virology Journal* 2011, 8:239.

Zhang DM, Ma MM, Wen WT, Zhu X, Xu L, He ZJ, He X, Wu JH, Hu YW, Zheng Y, Deng Y, Lin CJ, Lu JH, Li MF, Cao KY. Clinical epidemiology and molecular profiling of human bocavirus in faecal samples from children with diarrhoea in Guangzhou, China. *Epidemiology & Infection* 2014;3:1-15.

## ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Amasya’da doğdu. Eğitimini sırasıyla Amasya Cumhuriyet İlköğretim Okulu, Sevincer Köyü İlkokulu, Serdar Zeren İlköğretim Okulu ve Amasya Lisesi’nde tamamladı. Yüksek öğrenimini 2012 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde tamamladı. Aynı sene Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Viroloji Anabilim Dalı yüksek lisans eğitimine başladı. 2013 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında diğer yüksek lisans eğitimine başladı. Şu anda Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Kan Merkezi ünitesinde çalışmaktadır.

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince mesleki bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan her türlü yardımı ve desteğini esirgemeyen değerli hocam ADÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Sevin KIRDAR'a, ADÜ Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof.Dr. Tolga TAN'a, Yrd. Doç. Dr. Nural EROL' a, tez savunmam sırasında katkılarından dolayı Doç. Dr. Murat TELLİ' ye, ADÜ Uygulama ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji çalışanlarına ve özellikle deneylerim sırasında her türlü yardımı canı gönülden sağlayan Dilek ERDEM'e sonsuz teşekkür ederim.

Ayrıca her zaman yanımda olan ve beni destekleyen sevgili aileme ve arkadaşlarıma bilhassa kardeşim Merve CENGİZ' e teşekkürü bir borç bilirim.