

İshalli Hastalarda Norovirüs Sıklığının ve Farklı Tanı Yöntemlerinin Duyarlılıklarının Belirlenmesi

Determining the Prevalence of Norovirus Infection in Diarrheal Patients and Evaluation of Different Diagnostic Methods

Cihan YEŞİLOĞLU (ID), Betigül ÖNGEN (ID)

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

İstanbul University Istanbul Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Istanbul, Turkey

Makale Atfı: Yeşiloğlu C, Öngen B. İshalli hastalarda norovirüs sıklığının ve farklı tanı yöntemlerinin duyarlılıklarının belirlenmesi. Mikrobiyol Bul 2022;56(1):59-67.

ÖZ

Norovirüs insanlarda kusma ve/veya ishal semptomlarıyla tanımlanan gastroenterit tablosuna neden olan virüslerden biridir. Epidemik gastroenteritlerin en sık etkeni olduğu bilinen norovirüsün sporadik olgulardaki sıklığı da göz ardı edilemeyecek düzeydedir. Norovirüs enfeksiyonlarının tanısında kullanılan enzim immünoassay (EIA) ve immünokromatografi (İKG) gibi antijen tespitine dayalı, kolay uygulanabilen tanı yöntemleri genel olarak yüksek özgüllük oranları göstermelerine rağmen daha düşük ve koşullara göre değişebilen duyarlılık oranlarına sahiptir. Bu çalışmada ishallerde hastalarda norovirüs ve diğer gastroenterit etkeni virüslerin sıklığının belirlenmesi ve EIA, İKG yöntemlerinin altın standart yöntem olarak seçilen gerçek zamanlı revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (rRT-PCR) referans alınarak sporadik olgularda duyarlılık ve özgüllük oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya Ocak-Temmuz 2018 tarihleri arasında bakteriyolojik dışkı kültürü için İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen ve çalışma kriterlerini karşılayan 184 dışkı örneği dahil edilmiştir. Tüm örnekler rRT-PCR için BD MAX Enterik Viral Panel (Becton Dickinson, Kanada), EIA için RIDA SCREEN Norovirus 3rd Generation (C1401) (R-Biopharm, Almanya), İKG için RIDA QUICK Norovirus Test (N1402) (R-Biopharm, Almanya) tanı kitleriyle kullanım talimatlarına uygun şekilde değerlendirilmiştir. İncelenen 184 dışkı örneğinde norovirüs varlığı yönünden EIA yöntemiyle 7 (%3.8), İKG yöntemiyle 8 (%4.3), rRT-PCR yöntemiyle 14 (%7.6) pozitif sonuç elde edilmiştir. rRT-PCR yöntemi referans kabul edilerek EIA yöntemine ait duyarlılık ve özgüllük sırasıyla %50 ve %100 olarak, İKG yöntemine ait duyarlılık ve özgüllük ise sırasıyla, %57 ve %100 olarak tespit edilmiştir. Koenfeksiyonlar da dahil olmak üzere rotavirüs, sapovirüs, astrovirüs, ve adenovirüs için pozitiflik sayı ve yüzdeleri sırasıyla, 30 (%16.3), 5 (%2.7), 2 (%1), 1 (%0.5) olarak saptanmıştır. Bu çalışmada norovirüsün tek başına veya diğer viral etkenlerle birlikte ishallerde hastalarda sık tespit edilen bir etken olduğu, yaş grupları ve cinsiyetler arasında sıklık açısından fark olmadığı tespit edilmiştir. Ülkemizde rutin olarak araştırılmayan bu etkenin varlığı ishal ve/veya kusmanın görüldüğü hastalar değerlendirilirken göz önünde bulundurulmalıdır. Norovirüs tanısında EIA ve İKG gibi yöntemlerin kolay uygulanabilir, yüksek özgüllüğe sahip ancak sporadik olgularda duyarlılıklarının sınırlı yöntemler olduğu görülmektedir. Norovirüsün gerçek sıklığının tespiti ve yüksek duyarlılık oranlarının tanıda ancak rRT-PCR'nin tercih edilmesiyle sağlanabileceği düşünülmektedir. Laboratuvarların norovirüs tanısında kullanacağı yöntemi, olguların ve tanı yöntemlerinin özelliklerine göre seçmeleri yararlı olacaktır.

Anahtar kelimeler: Norovirüs; gastroenterit; elisa; immünokromatografi; rRT-PCR.

İletişim (Correspondence): Uzm. Dr. Cihan Yeşiloğlu, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 (212) 414 2000, **E-posta (E-mail):** cihan.yesiloglu@istanbul.edu.tr

ABSTRACT

Norovirus is one of the viruses that cause gastroenteritis in humans, characterized by symptoms of vomiting and diarrhea. The prevalence of norovirus, known as the leading cause of epidemic gastroenteritis, is remarkable in sporadic cases. Easy-to-apply diagnostic methods based on antigen detection such as enzyme immunoassay (EIA) and immunochromatography (ICG) used to diagnose norovirus infections generally have high specificity rates but lower sensitivity rates that can change according to the conditions. In this study it was aimed to determine the prevalence of norovirus and other gastroenteritis causative viruses in diarrheal patients and determine the sensitivity and specificity rates of EIA and ICG methods in sporadic cases by the chosen gold standard molecular reference method real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction (rRT-PCR). In this study, 184 stool samples that met the study criteria and sent to İstanbul University İstanbul Faculty of Medicine Medical Microbiology Laboratory for routine bacteriological culture between January-July 2018 were included. All samples were evaluated with diagnostic kits BD MAX Enteric Viral Panel (Becton Dickinson, Canada) for rRT-PCR, RIDASCREEN Norovirus 3rd Generation (C1401) (R-Biopharm, Germany) for EIA, RIDAQUICK Norovirus Test (N1402) (R-Biopharm, Germany) for ICG, according to the manufacturer instructions. In terms of the presence of norovirus in 184 stool samples, 7 (3.8%) positive results were obtained by EIA method, 8 (4.3%) by ICG method, and 14 (7.6%) by rRT-PCR method. By accepting the rRT-PCR as a reference method, the sensitivity and specificity of the EIA method were determined as 50% and 100% and of the ICG method as 57% and 100%, respectively. The numbers and percentages of positivity for rotavirus, sapovirus, astrovirus and adenovirus, including coinfections were 30 (16.3%), 5 (2.7%), 2 (1%), 1 (0.5%), respectively. In this study, it was determined that norovirus, alone or together with other viral agents is frequently detected in patients with diarrhea and there was no difference in the frequency between age groups and genders. This causative agent which is not routinely investigated in our country should be considered when evaluating patients with diarrhea and/or vomiting. It seems that EIA and ICG methods are easy to apply, have high specificity but have limited sensitivity in sporadic cases in the diagnosis of norovirus. It is thought that the detection of the true frequency of norovirus and high sensitivity rates can only be achieved by preferring rRT-PCR in the diagnosis. It would be useful for the laboratories to choose the method to be used in the diagnosis of norovirus according to the characteristics of the cases and diagnostic methods.

Keywords: *Norovirus; gastroenteritis; elisa; immunochromatography; rRT-PCR.*

GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre ishaller hastalıklar 2019 yılında 1.5 milyon ölüme neden olmuş ve küresel ölüm nedenleri içerisinde sekizinci sırada yer almıştır¹. Norovirüs insanlarda kusma ve/veya ishal semptomlarıyla tanımlanan gastroenterit tablosuna neden olan etkenlerden biridir. Norovirüs enfeksiyonları için bulaş yolu öncelikle fekal-oral yol olup², gastroenterit etkeni diğer virüslerden farklı olarak her yaşta görülebildiği bildirilmiştir³. Enfeksiyonlar genellikle hafif seyirli ve kısa süreli olmakla birlikte kimi zaman kronik enfeksiyon şeklinde seyir gösterebilmektedir^{4,5}. Norovirüsler zarfsız, pozitif polariteli, tek zincirli RNA virüsleridir ve kapsit geni dizilimine göre genogruplara ayrılmıştır⁶. İnsanlarda hastalık yapan genogruplar, büyük oranda GI ve GII olup, az sayıda epidemik ve sporadik olguda GIV saptanmıştır⁷. Epidemik gastroenteritlerin en sık etkeni olduğu bilinen norovirüs sporadik olgularda da sıklığı gözardı edilemeyecek etkenlerden biridir³.

Norovirüs enfeksiyonlarının tanısı virüsün klinik ve epidemiyolojik özelliklerinden faydalanılarak, elektron mikroskopisi, antijen-antikor ilişkisine dayalı ve moleküler yöntemlerle yapılmaktadır. EIA ve ICG yöntemleri antijen tespitine dayalı, kolay uygulanabilen tanı yöntemleri olup dışkıda Norovirüs GI ve GII antijenlerinin tespiti için birçok ticari kit kullanılmaktadır⁷. Bu yöntemlerin genel olarak yüksek özgüllük oranlarına karşın daha düşük ve

koşullara göre değişebilen duyarlılık oranlarına sahip olduğu bildirilmiştir⁷. Norovirüs genomunda primer seçimi için hedef olabilecek iyi korunmuş bölgenin belirlenmesi⁸ ve PCR tekniklerinde yaşanan gelişmeler gerçek zamanlı rRT-PCR yöntemini norovirüs tanısında altın standart haline getirmiştir⁷. Bu gelişmeleri takiben farklı menşeli RT-PCR temelli ticari kitler de norovirüs tanısında yerini almıştır.

Türkiye’de norovirüs rutin olarak araştırılan etkenlerden biri olmayıp mevcut bir süreyans sistemi bulunmamaktadır. Ülkemizde sporadik olgularda norovirüs sıklığının belirlenmesine yönelik farklı yaş gruplarının dahil edildiği ve farklı tanı yöntemlerinin kullanıldığı sınırlı sayıda bilimsel araştırma mevcuttur.

Çalışmamızda ishalleri hastalarda norovirüs ve diğer gastroenterit etkeni virüslerin sıklığının belirlenerek Türkiye ve dünya epidemiyolojik verilerine katkı sağlamak ve norovirüs tanısında kullanılan EIA, İKG yöntemlerinin altın standart yöntem olan rRT-PCR yöntemi referans alınarak sporadik olgular için duyarlılık ve özgüllük oranlarının hesaplanması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirildi (Tarih: 26.01.2018 ve Karar No: 02).

Çalışmamıza Ocak-Temmuz 2018 tarihleri arasında bakteriyolojik dışkı kültürü için laboratuvarımıza gönderilen ve aşağıda belirtilen kriterleri karşılayan 184 dışkı örneği dahil edildi. Hasta ve örneklerin çalışmaya dahil edilme kriterleri, *i*) Gönüllü bilgilendirme formuyla ve sözel olarak bilgi verilen hastaların çalışmaya katılmayı kabul etmesi, *ii*) Hastaların rutin bakteriyolojik kültürlerinin negatif olarak sonuçlanmış olması, *iii*) Her hastadan tek bir örneğin çalışılması şeklinde uygulandı.

Tüm örnekler RT-PCR için BD MAX Enterik Viral Panel (Becton Dickinson; Kanada), EIA için RIDA SCREEN Norovirüs 3rd Generation (C1401) (R-Biopharm; Almanya), İKG için RIDA QUICK Norovirüs Test (N1402) (R-Biopharm; Almanya) tanı kitleriyle kullanım talimatlarına uygun şekilde değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz

Örneklem hesaplaması, çalışmanın gücü: %80; güven aralığı: %95 olacak şekilde $n = t_{2pq/d^2}$ formülü ($p = 18$, $d = 8$) ile hesaplandı.

Tanımlayıcı istatistikler sayımla belirlenen veriler için yüzde oranlarla birlikte sunuldu. Çalışmada kategorik veriler ki-kare testi ile istatistiksel olarak analiz edildi. Sürekli verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testiyle değerlendirildi. %95 güven aralığında $p < 0.05$ saptanan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analizler, İstanbul Üniversitesi tarafından lisanslı olan “Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)” programı, 21.0 sürümü kullanılarak gerçekleştirildi.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen hastaların yaş ve cinsiyet dağılımları Tablo 1’de verilmiştir.

İncelenen 184 dışkı örneğinde norovirüs varlığı yönünden EIA yöntemiyle yedi, İKG yöntemiyle sekiz, rRT-PCR yöntemiyle 14 pozitif sonuç elde edilmiştir. EIA ve İKG yöntemleriyle pozitif sonuç alınan hastaların tümü rRT-PCR ile de pozitif bulunmuş olup İKG ile pozitif bulunan hastalardan biri EIA ile negatif bulunmuştur. Norovirüs varlığı açısından pozitif tespit edilen hastaların yaş, cinsiyet, kusma belirtisi ve belirtilerin devam etme sürelerine ait özellikler Tablo II'de verilmiştir.

rRT-PCR yöntemi referans kabul edilerek EIA yöntemine ait duyarlılık ve özgüllük sırasıyla, %50 ve %100, İKG yöntemine ait duyarlılık ve özgüllük ise sırasıyla, %57 ve %100 olarak hesaplanmıştır.

rRT-PCR ile norovirüs saptanan hastaların üçünde eş zamanlı olarak rotavirüs, bir hastada sapovirüs, bir hastada ise hem sapovirüs hem de rotavirüs varlığı tespit edilmiştir. Kullanılan viral PCR panelinde araştırılan ve pozitif olarak tespit edilen diğer virüsler Şekil 1'de

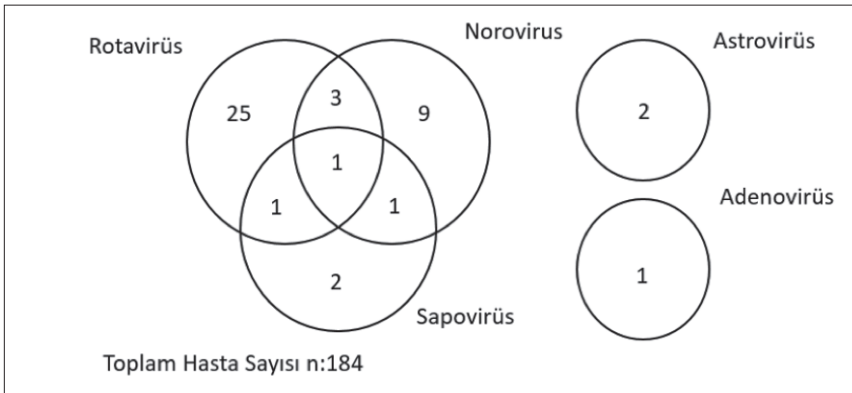
Tablo I. Çalışmaya Dahil Edilen Hastaların Yaş ve Cinsiyet Özellikleri

Hasta sayısı (n)	Yaş				Cinsiyet	
	0-5	6-18	19-65	> 65	Erkek	Kadın
184	38	36	95	15	93	91

Tablo II. Norovirüs Pozitif Tespit Edilen Hastaların Yaş, Cinsiyet, Kusma Belirtisi ve Belirtilerin Devam Etme Sürelerine Göre Dağılımı

Yöntem	Yaş			Cinsiyet		Kusma		Süre		Örnek sayısı (n) (%)
	0-5	6-18	19-65	Erkek	Kadın	Var	Yok	< 4 gün	> 4 gün	
EIA	3	2	2	4	3	4	3	7	0	7 (%3.8)
İKG	3	3	2	4	4	4	3	8	0	8 (%4.3)
RT-PCR	4	4	6	7	7	8	6	9	5	14 (%7.6)

EIA: Enzim immunoassay immünoassay, İKG: İmmünokromotografi, RT-PCR: Revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu.



Şekil 1. Viral polimeraz zincir reaksiyonu paneliyle tespit edilen virüs pozitiflikleri.

gösterilmiş olup iki hastada rotavirüs ve sapovirüs birlikte olmak üzere toplam 30 (%16.3) hastada rotavirüs, 5 (%2.7) hastada sapovirüs, 2 (%1) hastada astrovirüs ve 1 (%0.5) hastada adenovirüs tespit edilmiştir.

TARTIŞMA

Literatürde norovirüs prevalansını araştıran çok sayıda bilimsel araştırma mevcuttur. Tanı yöntemi olarak PCR'nin kullanıldığı çalışmaların incelendiği bir meta-analizde⁹ tüm gastroenterit olgularında havuzlanmış norovirüs prevalansı %18, bu derlemenin bir nevi güncellemesi olarak planlanan ve 2021 yılında yayınlanan sistematik derlemede³ ise küresel norovirüs prevalansı %16 olarak bulunmuştur. Ülkemizde farklı tanı yöntemleriyle yapılan çalışmalarda¹⁰⁻¹⁶ norovirüs pozitiflik oranları %8-25.8 aralığında tespit edilmiştir. Çalışmamızda RT-PCR yöntemiyle yapılan incelemede ishalleri hastalarda norovirüs prevalansı %7.6 olarak saptanmıştır.

Norovirüs prevalansına ait çalışmalar değerlendirilirken araştırmaya dahil edilen hastaların var olan belirtileri, yaş grubu, örneklerin diğer etkenler açısından incelendikten sonra çalışmaya dahil edilmesi, kullanılan yöntem gibi çok sayıda faktörün bu sonuçları etkilediği görülmüştür. Örneğin; bazı çalışmalarda kullanılan akut gastroenterit terimi her zaman net olarak tanımlanmamıştır⁹. Bu çalışmanın planlanmasında karışıklığa neden olmamak amacıyla akut gastroenterit teriminin kullanımından kaçınılmış ve ishalleri hastalarda norovirüs varlığı araştırılmıştır. Ancak bu durumun doğal sonucu olarak yalnızca kusmayla seyreden norovirüs enfeksiyonları tespit edilememiştir.

Norovirüs prevalansı için yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı bildirilse de^{3,9} ülkemizde yapılan çalışmalar da dahil olmak üzere bu konudaki çalışmalara genellikle çocukluk yaş grubundaki hastalar dahil edilmiştir. Bu çalışmada, ülkemizde ve dünyada erişkinlerde norovirüs pozitifliğine dair veriye katkıda bulunmak amacıyla tüm yaş gruplarından hasta örnekleri incelemeye alınmıştır. Değerlendirilen 184 hastanın 113 (%61.4)'ü erişkin, 71 (%38.6)'i çocukluk yaş grubundadır. Norovirüs açısından pozitif ve negatif bulunan hastaların yaşlarının normal dağılım gösterdikleri görülmüş olup, norovirüs pozitif saptanma oranları erişkin yaş grubunda %6.2, çocukluk yaş grubunda (0-18) %9.9, beş yaş altında ise %6.7 olarak hesaplanmıştır. Literatürle uyumlu olarak ne beş yaş altı ve üstü hasta grupları ($p=0.982$), ne de çocukluk yaş grubu ve erişkin hastalar arasında ($p=0.138$) norovirüs pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Bu çalışmada değerlendirilen 184 hastanın 93'ü erkek, 91'i kadın olup, norovirüs pozitif saptanan 14 hastanın yedisi erkek, yedisi kadın olarak belirlenmiştir. Norovirüs pozitif hastalarda cinsiyetler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p=0.966$).

Norovirüs enfeksiyonlarının en belirgin belirtileri olan ishal ve kusma^{4,7} bir arada veya ayrı ayrı görülebilmektedir^{17,18}. Belirti olarak kusmanın incelendiği bir çalışmada semptomatik norovirüs enfeksiyonlarında hastaların %40-100'ünde kusmanın görüldüğü bildirilmiştir¹⁸. Ülkemizde klinik belirtilerin sıklığının incelendiği çalışmalarda norovirüs poziti-

tifliği saptanan akut gastroenterit tanılı çocuklarda ishal belirtisinin hastaların %100'ünde görüldüğü, kusma belirtisinin ise bir çalışmada¹³ hastaların %51.1'inde bir diğer çalışmada¹⁴ da %95.5'inde görüldüğü bildirilmiştir. Çalışmamızın planlanışı gereği çalışma kapsamındaki tüm hastalarda ishal belirtisi bulunmaktadır. Literatür verilerine benzer şekilde bu hastaların sekizinde (%57.1) kusma varlığı belirlenmiştir.

Çalışmaya dahil edilen dışkı örneklerinin diğer etkenler açısından araştırıldıktan sonra incelenmesi norovirüs pozitifliğini artırsa da koenfeksiyonların tespit edilmesini engellemektedir. Akut gastroenteritlerde koenfeksiyon sıklıkla gözlenen bir durumdur. Murphy ve arkadaşlarının gastrointestinal panel kullanarak 2257 örneği incelediği bir çalışmada¹⁹ pozitif örneklerin %7.8'inde koenfeksiyon varlığı bildirilmiş ve bu koenfeksiyonların üçte birinde norovirüs tespit edilmiştir. Laboratuvarımızda rutin olarak araştırılan bakteriyel etkenlerle gerçekleştiği bildirilen norovirüs koenfeksiyonlarının oranı çok düşük olduğundan^{13,19} ve örneklem hesaplamasında referans alınan çalışmalarla uyumluluk göstermesi açısından, çalışmamızda laboratuvarımızda rutin bakteriyel kültür incelemelerinde etken saptanmayan örnekler norovirüs varlığı açısından incelenmiştir. Diğer yandan kullandığımız multipleks RT-PCR kiti norovirüsle beraber rotavirüs, adenovirüs, astrovirüs ve sapovirüs varlığını da tespit etmektedir. Bu durum çalışmamızın avantajlarından biri olup viral koenfeksiyonlar konusunda da bilgi sağlamaktadır. Norovirüs pozitif olarak tespit edilen 14 hastanın beşinde diğer viral etkenlerle koenfeksiyon varlığı belirlenmiştir. Bu hastaların üçünde norovirüsle beraber rotavirüs, birinde sapovirüs birinde ise hem rotavirüs hem de sapovirüs pozitif olarak tespit edilmiştir. Ayrıca bu viral etkenlerin içerisinde norovirüs pozitif hastalarda görülen koenfeksiyonlar dışında sadece bir hastada rotavirüs ve sapovirüs birlikte tespit edilmiştir. Bu virüslere ait toplam hasta grubundaki (n= 184) pozitiflik oranları ise şu şekildedir: rotavirüs %16.30, sapovirüs %2.71, astrovirüs %1.08, adenovirüs %0.71. Bu viral etkenler içerisinde en sık olarak rotavirüs saptanmıştır. Bu sonuç ulusal aşı politikasında rotavirüs aşısı bulunmayan ülkemiz için beklenen bir sonuçtur.

Norovirüsün tanısında hızlı ve kolay uygulanabilir olan, antijen tespiti prensibine dayalı EIA ve İKG gibi yöntemler kullanılabilir. Norovirüs tanısında günümüzde kabul edilen altın standart tanı yöntemi RT-PCR'dir⁷. Bu çalışmada da ticari EIA, İKG ve gerçek zamanlı multipleks RT-PCR kitleri kullanılmıştır. Literatürde, bu çalışmada kullanılan ve diğer ticari kitlerin değerlendirilmesine yönelik çok sayıda duyarlılık ve özgüllük çalışması bulunmaktadır.

Wilhelmi de Cal ve arkadaşları²⁰ EIA yönteminin sporadik olgulardaki duyarlılığını %59, özgüllüğünü %73.1, Sharaf ve arkadaşları²¹ ise sırasıyla, %64.8 ve %93.8 olarak tespit etmiştir. Türkiye'den EIA ve referans olarak moleküler yöntemin kabul edildiği karşılaştırmalı bir çalışmada da EIA yöntemine ait duyarlılık %60, özgüllük %98 olarak bulunmuştur¹⁶. Jonckheere ve arkadaşları referans yöntem olarak RT-PCR'yi kullandıkları çok merkezli bir çalışmada²² İKG yönteminin duyarlılığını %72.8 özgüllüğünü ise %99.5 olarak bildirmiştir. İmmünokromatografik testlerin norovirüs varlığı için tanısız doğruluğunun değerlendirildiği bir sistematik derlemede ise İKG yönteminin duyarlılığı %61, özgüllüğü %97.5

olarak bildirilmiştir²³. Ülkemizde de İKG ile prevalans belirlemeye yönelik çalışmalar yapılmış ancak duyarlılık ve özgüllük belirlenmesine yönelik bir çalışmaya rastlanmamıştır. Son olarak bu çalışmada olduğu gibi EIA ve İKG'nin birlikte değerlendirildiği ve referans yöntem olarak RT-PCR'nin kullanıldığı çalışmalarda; Kirby ve arkadaşları²⁴ İKG için %69, EIA yöntemleri için %45 ve %63 duyarlılık oranları, Geginat ve arkadaşları²⁵ ise EIA ve İKG yöntemlerinin duyarlılıklarını sırasıyla, %77 ve %69, özgüllüklerini ise %96 ve %97 olarak bildirmiştir. Sonuç olarak, EIA ve İKG yöntemleri özgüllükleri yüksek ancak duyarlılıkları özellikle sporadik olgularda belirgin olmak üzere sınırlı yöntemlerdir. Bu çalışmada da RT-PCR referans yöntem kabul edilerek EIA ve İKG kitlerinin duyarlılıkları sırasıyla %50 ve %57, her iki kitin özgüllükleri ise %100 olarak hesaplanmıştır. Bulunan oranlar literatürle uyumludur, EIA ve İKG ile pozitif bulunan sonuçların güvenilir oldukları ancak negatif olarak bulunan sonuçların moleküler yöntemle doğrulanmasının yararlı olacağı düşünülmektedir. Ek olarak EIA ve İKG yöntemleriyle alınan sonuçlar birbiriyle yüksek uyum gösterdiğinden kendi içlerinde doğrulama amaçlı kullanımlarının ek fayda sağlamayacağı öngörülmüştür.

Bu çalışmada elde edilen dikkat çekici verilerden biri tanı yöntemlerinin belirtilerin devam etme süreleriyle olan ilişkisi olmuştur. Norovirüse bağlı kronik enfeksiyon daha çok olgu bildirimleri veya bazı özel hasta gruplarında tanımlanmıştır. Petrignani ve arkadaşları tarafından yapılan sistematik bir derlemede⁵ immüsupresyonun kronik norovirüs ishal gelişimi için önemli bir faktör olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada da pozitif bulunan hastaların büyük bölümünde belirtiler kısa sürmekle birlikte renal transplant öyküsü olan bir hastada 1-2 ay, iki hastada ise beşer ay boyunca belirtiler devam etmiştir. Her ne kadar bu çalışma norovirüs ilişkili kronik ishallerde ideal tanı yöntemini belirlemek için dizayn edilmese de tariflenen hastalarda EIA ve İKG yöntemleriyle negatif sonuç alınıp RT-PCR ile pozitif sonuç alınması uzamış enfeksiyonlarda RT-PCR yönteminin avantajlı olduğunu düşündürmektedir.

Tüm yaş gruplarının dahil edilmesi, örneklerin tümünün üç yöntemle de incelenmiş olması, diğer viral gastroenterit etkenlerinin varlığının araştırılması çalışmamızın temel güçlü yönleri olup, yalnızca kusmayla seyreden norovirüs enfeksiyonlarındaki sıklığın belirlenememiş olması çalışmanın zayıf yönüdür.

Sonuç olarak bu çalışmada norovirüsün tek başına veya diğer viral etkenlerle birlikte ishallerde hastalarda sık tespit edilen bir etken olduğu, yaş grubu ve cinsiyetler arasında sıklık açısından fark olmadığı tespit edilmiştir. Ülkemizde Sağlık Uygulama Tebliğinde yer almaması nedeniyle rutin olarak araştırılmayan bu etkenin varlığı ishal ve/veya kusmanın görüldüğü hastalar değerlendirilirken göz önünde bulundurulmalıdır. Norovirüs tanısında EIA ve İKG gibi yöntemlerin kolay uygulanabilir, yüksek özgüllüğe sahip ancak sporadik olgularda duyarlılıklarının sınırlı yöntemler olduğu görülmektedir. Norovirüsün gerçek sıklığının tespiti ve yüksek duyarlılık oranlarının tanıda ancak RT-PCR'nin tercih edilmesiyle sağlanabileceği düşünülmektedir. Laboratuvarların norovirüs tanısında kullanacağı yöntemi, olguların ve tanı yöntemlerinin özelliklerine göre seçmeleri yararlı olacaktır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 29623).

Çalışmada kullanılan BD Max Enterik Viral Panel kiti hiçbir bedel ve talepte bulunulmadan Labormed Tıbbi Ürünler San ve Tic. Ltd. Şti. tarafından sağlanmıştır.

Örneklem hesaplamalarındaki destekleri için İstanbul Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı Dr. Öğr. Üyesi Sevda Özel Yıldız'a teşekkür ederiz.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirildi (Tarih: 26.01.2018 ve Karar No: 02).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. World Health Organization (WHO). The top 10 causes of death 2020. Available on: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> (Accessed date: 14 July 2021).
2. de Graaf M, van Beek J, Koopmans MP. Human norovirus transmission and evolution in a changing world. *Nat Rev Microbiol* 2016; 14(7): 421-33.
3. Liao Y, Hong X, Wu A, Jiang Y, Liang Y, Gao J, et al. Global prevalence of norovirus in cases of acute gastroenteritis from 1997 to 2021: an updated systematic review and meta-analysis. *Microb Pathog* 2021; 161(Pt A): 105259.
4. Patel MM, Hall AJ, Vinje J, Parashar UD. Noroviruses: a comprehensive review. *J Clin Virol* 2009; 44(1): 1-8.
5. Petrignani M, Verhoef L, de Graaf M, Richardus JH, Koopmans M. Chronic sequelae and severe complications of norovirus infection: a systematic review of literature. *J Clin Virol* 2018; 105: 1-10.
6. Lefkowitz EJ. Taxonomy and classification of viruses, pp: 1390-404. *Manual of Clinical Microbiology*. 2015, 11th ed. ASM Press, Washington.
7. Robilotti E, Deresinski S, Pinsky BA. Norovirus. *Clin Microbiol Rev* 2015; 28(1): 134-64.
8. Naitou H, Morita T. Selection of more appropriate PCR primer pairs for improved efficiency in detecting Norwalk-like virus (NLV) RNA. *J Gen Appl Microbiol* 2001; 47(5): 241-6.
9. Ahmed SM, Hall AJ, Robinson AE, Verhoef L, Premkumar P, Parashar UD, et al. Global prevalence of norovirus in cases of gastroenteritis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2014; 14(8): 725-30.
10. Altındış M, Banyai K, Kalaycı R, Gulamber C, Koken R, Yoldaş Y, et al. Frequency of norovirus in stool samples from hospitalized children due to acute gastroenteritis in Anatolia, Turkey, 2006-2007. *Scand J Infect Dis* 2009; 41(9): 685-8.
11. Ozkul AA, Kocazeybek BS, Turan N, Reuter G, Bostan K, Yılmaz A, et al. Frequency and phylogeny of norovirus in diarrheic children in İstanbul, Turkey. *J Clin Virol* 2011; 51(3): 160-4.
12. Akhter S, Türegün B, Kıyan M, Gerçeker D, Güriz H, Şahin F. Investigation of seven different RNA viruses associated with gastroenteritis in children under five years old. *Mikrobiyol Bul* 2014; 48(2): 233-41.
13. Altay A, Bozdayı G, Meral M, Dallar Bilge Y, Dalgıç B, Özkan S, et al. Investigation of norovirus infection incidence among 0-5 years old children with acute gastroenteritis admitted to two different hospitals in Ankara, Turkey. *Mikrobiyol Bul* 2013; 47(1): 98-108.

14. Col D, Biçer S, Çiler Erdağ G, Giray T, Gürol Y, Yılmaz G, et al. Annual report on norovirus in children with acute gastroenteritis in 2009 and their genotypes in Turkey. *Infez Med* 2013; 21(4): 261-9.
15. İnan N KÜE, Demirel A, Mamçu D, Sönmez E, Arısoy A. Akut viral gastroenterit öntanılı vakalarda rotavirus, adenovirus ve norovirus sıklığının araştırılması. *ANKEM Dergisi* 2014; 23: 14-9.
16. Aksu A AA. Detection of norovirus infections in Çanakkale with ELISA and RT-PCR. *Çukurova Med J* 2016; 41(3): 533-8.
17. Devasia T, Lopman B, Leon J, Handel A. Association of host, agent and environment characteristics and the duration of incubation and symptomatic periods of norovirus gastroenteritis. *Epidemiol Infect* 2015; 143(11): 2308-14.
18. Kirby AE, Streby A, Moe CL. Vomiting as a symptom and transmission risk in norovirus illness: evidence from human challenge studies. *PLoS One* 2016; 11(4): e0143759.
19. Murphy CN, Fowler RC, Iwen PC, Fey PD. Evaluation of the BioFire FilmArray® Gastrointestinal Panel in a Midwestern Academic Hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2017; 36(4): 747-54.
20. Wilhelmi de Cal I, Revilla A, del Alamo JM, Roman E, Moreno S, Sanchez-Fauquier A. Evaluation of two commercial enzyme immunoassays for the detection of norovirus in faecal samples from hospitalised children with sporadic acute gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect* 2007; 13(3): 341-3.
21. Sharaf H, Morsi S, Gerges MA. Performance characteristics of enzyme linked immunosorbent assay and rapid immunochromatographic test for routine screening of human norovirus. *African J Clin Exp Microbiol* 2016; 17(3): 205-12.
22. Jonckheere S, Botteldoorn N, Vandecandelaere P, Frans J, Laffut W, Coppens G, et al. Multicenter evaluation of the revised RIDA® QUICK test (N1402) for rapid detection of norovirus in a diagnostic laboratory setting. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2017; 88(1): 31-5.
23. Yoon SH, Kim HR, Ahn JG. Diagnostic accuracy of immunochromatographic tests for the detection of Norovirus in stool specimens: a systematic review and meta-analysis. *Microbiol Spectr* 2021; 9(1): e0046721.
24. Kirby A, Gurgel RQ, Dove W, Vieira SC, Cunliffe NA, Cuevas LE. An evaluation of the RIDASCREEN and IDEIA enzyme immunoassays and the RIDAQUICK immunochromatographic test for the detection of norovirus in faecal specimens. *J Clin Virol* 2010; 49(4): 254-7.
25. Geginat G, Kaiser D, Schrepf S. Evaluation of third-generation ELISA and a rapid immunochromatographic assay for the detection of norovirus infection in fecal samples from inpatients of a German tertiary care hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012; 31(5): 733-7.