

Gastroenterit Etkeni Virüslerin İmmünokromatografik Yöntem ve Multipleks PZR Yöntemiyle Araştırılması

Mücahide TOPÇU ¹, Mehmet KÖROĞLU ¹, Özlem AYDEMİR ¹, Yusuf AYDEMİR ²
Mustafa ALTINDİŞ ¹ Bahri ELMAS ³

ÖZ

Amaç: Akut gastroenterit (AGE), erken ve doğru tedavi edilmediğinde özellikle çocuklarda yüksek morbidite ve mortalite ile seyredilebilen ve tüm dünyada sık görülen bir enfeksiyondur. Çocukluk döneminde en sık Rotavirüsler, Adenovirüsler, Norovirüsler AGE'lere neden olmaktadır. Viral enfeksiyonların hızlı tanısında, immünokromatografik (ICT) veya ELISA temelli yöntemler tercih edilmekte iken, son yıllarda multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) testleri de laboratuvarlarda kullanılmaya başlanmıştır. Bu çalışmada Rotavirus, Adenovirus ve Norovirus tanısında immünokromatografik yöntem ve PZR yöntemi ile elde edilen sonuçların karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmaya AGE tanılı hastaların ICT yöntemi ile Rotavirus ve/veya Adenovirus pozitif olarak saptanan 67 gaita örneği ve ICT yöntemi ile viral, bakteriyel, paraziter etkenler açısından negatif bulunan 17 gaita örneği dâhil edildi. Bu örneklerde Rotavirus, Norovirus RNA'sı ile Adenovirus DNA'sı multipleks PZR kiti kullanılarak araştırıldı.

Bulgular: ICT yöntemi ile örneklerin 62'sinde (%73,8) Rotavirus pozitif iken, gerçek zamanlı PZR yöntemi ile 49'unda (%58,5) Rotavirus pozitif bulundu. ICT yöntemi ile örneklerin beşinde (%5,9) Adenovirus pozitif bulunurken, multipleks gerçek zamanlı PZR yöntemi ile 40'ında (%47,6) Adenovirus pozitif tespit edildi. Örneklerin 11'inde (%13) Norovirus pozitif saptandı.

Sonuç: En sık karşılaşılan viral gastroenterit etkenleri olan Rotavirus ve Adenovirus tanısı için çok yaygın olarak ICT kullanılmaktadır. Ancak çalışmamızda da görüldüğü üzere; bu tür olgularda Norovirüs gibi diğer gastroenterit etkeni virüslerin de klinik tablodan sorumlu olabileceği göz ardı edilmemelidir. Rotavirus ve Adenovirus tanımlamasında ICT ve PZR yöntemleri arasında anlamlı ancak düşük düzeyde korelasyon saptandı.

Anahtar Kelimeler: Gastroenterit; Rotavirus; Adenovirus; Norovirus; PZR.

Investigation of Viruses Causing Gastroenteritis by Immunochromatographic Tests and Multiplex PZR Method

ABSTRACT

Aim: Acute gastroenteritis (AGE) is a common infection all over the world, which can progress with high morbidity and mortality, especially in children, if not treated early and correctly. Rotaviruses, Adenoviruses, Noroviruses most commonly cause AGEs in childhood. While immunochromatographic (ICT) or ELISA-based methods are preferred for rapid diagnosis of viral infections, multiplex polymerase chain reaction (PCR) tests have also been used in laboratories in recent years. In this study, it is aimed to compare the results obtained by immunochromatographic and real-time PCR methods in the diagnosis of Rotavirus, Adenovirus and Norovirus.

Material and Methods: The study included 67 stool samples of a patient diagnosed with AGE who were positive for Rotavirus and/or Adenovirus by the ICT method, and 17 stool samples that were found to be negative in terms of viral, bacterial and parasitic agents by the ICT method. Rotavirus, Norovirus RNA and Adenovirus DNA were investigated in all samples using multiplex real-time PCR kit.

Results: At least one of Rota/Adeno was found to be positive in 67 of the stool samples of 84 patients included in the study. While 62 (73.8%) of the samples were Rotavirus positive with the ICT method, 49 (58.5%) were positive with the real-time PCR method. While 5 (5.9%) of the samples were found to be Adenovirus positive with the ICT method, 40 (47.6%) of them were found positive with the real-time PZR method. Norovirus was positive in 11 (13%) of the samples.

Conclusion: ICT is widely used for the diagnosis of the most common viral gastroenteritis agents Rotavirus and

1 Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sakarya, Türkiye

2 Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Sakarya, Türkiye

3 Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Sakarya, Türkiye

Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Özlem Aydemir, e-mail: ozlemaydemir@sakarya.edu.tr

Gelis Tarihi / Received: 15.02.2022. Kabul Tarihi / Accepted: 26.09.2022

Adenovirus. However, as can be seen in our study; In such cases, it should not be ignored that other gastroenteritis-causing viruses, such as other Norovirus, may be responsible for the clinical picture. A significant but low level correlation was found between ICT and PCR methods in the identification of Rotavirus and Adenovirus.

Keywords: Gastroenteritis; Rotavirus; Adenovirus; Norovirus; PCR.

GİRİŞ

Akut gastroenteritler (AGE), tüm dünyada oldukça sık görülen, erken ve doğru tedavi edilmediğinde, özellikle çocukluk çağında yüksek morbidite ve mortalite ile seyredabilen enfeksiyonlardır. Bakteri, virüs ve parazit gibi birçok etken gastroenteritlere neden olmakla birlikte, çocukluk çağı akut gastroenterit vakalarının %70'den fazlasında virüslerin etken olduğu bilinmektedir (1-4). Özellikle Rotavirüsler, Adenovirüsler, Norwalk virüs, Norovirüsler çocukluk çağı gastroenteritlerinden sorumlu en sık viral etkenlerdir. Adenovirüsler çocukluk çağında hafif veya orta şiddette gastroenterite neden olurken rotavirüs ve norovirüs enfeksiyonları, çocuklarda genellikle orta ve/veya şiddetli gastroenteritlere neden olmaktadır (5,6). İshalli hastalarda altta yatan patojenin hızlı ve doğru teşhisi, morbidite ve mortaliteyi azaltmada büyük katkı sağlamaktadır. Viral etkenlerin tanısında, elektron mikroskopisi, hücre kültürü, enzim-ışaretli immünolojik yöntemler, lateks aglutinasyon ve polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) gibi farklı yöntemler kullanılmakla birlikte halen virüslerin tanısında altın standart hücre kültür yöntemi olmaya devam etmektedir. Ancak bu yöntem zaman alması ve teknik zorluklar nedeniyle rutin olarak uygulanmamaktadır (7). Günümüzde birçok laboratuvar gastroenterit etkeni virüslerin tanısında pratik ve düşük maliyetli olması nedeni ile immünokromatografik (ICT) veya ELISA temelli yöntemleri tercih etmektedir (1). Ancak bu yöntemlerde, kullanılan ticari kitlere göre değişken duyarlılık oranları görülebilmektedir (1). Buna karşın son yıllarda duyarlılık ve özgüllüklerinin yüksek olması, aynı anda birden fazla patojeni saptayabilmesi, hızlı sonuç vermesi gibi avantajları nedeniyle multipleks PZR birçok laboratuvar da kullanılmaya başlamıştır (8-10).

Bu çalışmada akut gastroenterit olan hastalardan toplanan gaita örneklerinde, Rotavirus, Adenovirus ve Norovirus enfeksiyonunun tanısında, immünokromatografik ve multipleks gerçek zamanlı PZR yöntemleri ile viral etkenlerin saptanması ve elde edilen sonuçların karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamızda ishal ve kusma şikâyetiyle hastanemize başvuran 0-15 yaş arası çocuklardan alınarak laboratuvara gönderilen gaita örnekleri kullanılmıştır. Hastalara ait demografik bilgiler yedi sorudan oluşan anket formu ile elde edilmiştir.

Örnekler, Rota/Adenovirus ICT test kiti (True Line Rota/Adeno Kaset Test[®], Biocare Diagnostic, Zhunzai, Çin Halk Cumhuriyeti) ile test edildi. Rotavirus ve/veya Adenovirus pozitif saptanan 67 örnek ile Rota/Adenovirus negatif ve bakteriyel/paraziter etken saptanmayan 17 örnek olmak üzere toplam 84 gaita

örneği çalışmaya dâhil edildi. Numuneler daha sonra PZR çalışılmak üzere -80°C de saklandı.

Örneklerin nükleik asit izolasyonu EZ1[®] Virus Mini Kit v2.0 (Qiagen, Almanya) ile EZ1 Advanced otomatik izolasyon cihazında (Qiagen, Almanya) yapıldı. Multipleks real-time PZR kiti (MutaPLEX[®] GastroSys 1 real time RT-PZR kit, Bensheim, Germany) kullanılarak Rotavirus ve Norovirus (G1 ve G2) RNA'sı ile Adenovirus DNA'sı araştırıldı.

Bu çalışma için Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 22.01.2015 tarih ve 17 sayılı etik kurul onayı alındı.

İstatistiksel Analiz

Çalışmamızda hastalara ait örneklerin PZR-ICT sonuçlarının istatistiksel analizi, Pearson korelasyon katsayısı (r değeri), Receiver Operating Characteristics (ROC) analizi kullanılarak değerlendirildi. Pearson korelasyon katsayısında; $r < 0,2$ ise çok zayıf ilişki ya da korelasyon yok, $0,2-0,4$ arasında ise zayıf korelasyon, $0,4-0,6$ arasında ise orta düzeyde korelasyon, $0,6-0,8$ arasında ise yüksek korelasyon, $r > 0,8$ ise çok yüksek korelasyon olduğunu göstermektedir. Kategorik değişkenlerin tanımlayıcı istatistikleri frekans ve yüzde n(%) olarak verildi. ICT testinin PZR'a göre tanısal performansını belirlemek için ROC eğrisi altındaki alan (AUC), duyarlılık, özgüllük ve pozitif ve negatif prediktif değerler hesaplandı. Hesaplanan AUC değeri 1'e yaklaştıkça testin referans yöntemine uyumu açısından değerli kabul edildi. Çalışmalarda IBM SPSS 22.0 versiyonu (IBM Corp, Armonk, NY, ABD) kullanıldı ve $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya 42'si kadın, 42'si erkek toplam 84 hasta dâhil edildi. Hastaların 57'si (%67,9) 0-24 aylıktı. Hastaların demografik verileri Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. Hastalara ait demografik ve diğer veriler (n=84)

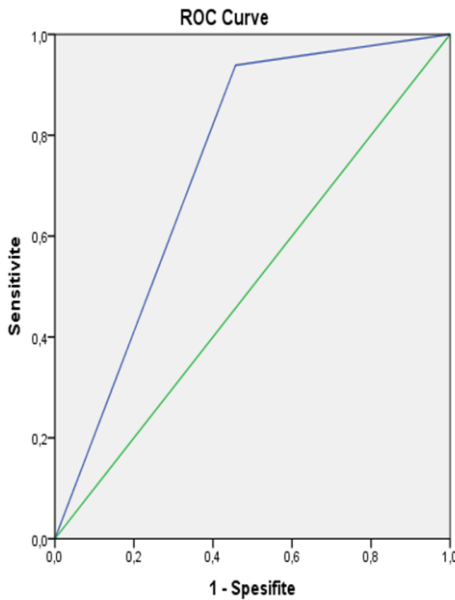
Demografik özellikler		n	%
Yaş	0-24 ay	57	67,9
	25 ay-60 ay	16	19
	60 ay üzeri	11	13,1
Cinsiyet	Erkek	42	50
	Kız	42	50
Klinik	Poliklinik	34	40,5
	Yatan	20	23,8
	Acil	30	35,7
Yaşadığı yer	Kırsal	17	20,2
	Kent	67	79,8
Kullanılan su	Şehir şebekesi	60	71,4
	Kuyu	2	2,4
	Şişe/damacana	11	13,1
	Kaynatma	5	6
	Aritma	6	7,1
Tarım hayvancılık ilişkisi	Var	5	6
	Yok	79	94
Aşı	Evet	1	1,2
	Hayır	83	98,8

Seksen dört gaita örneğinin Rotavirus sonuçları; ICT yöntemi ile 62'si (%74) Rotavirüs pozitif, 22'si (%26) negatif saptanırken; gerçek zamanlı PZR yöntemi ile 49'unda (%58,5) Rotavirüs RNA'sı saptandı. Rotavirus için ICT ve PZR sonuçları sayı ve yüzdeler şeklinde Tablo 2'de verilmiştir. Rotavirus için ICT ve PZR sonuçları analiz edildiğinde iki test arasında anlamlı ve ancak orta düzeyde uyum olduğu gözlenmiştir (Rotavirus ICT/Rotavirus PZR $r=0,540$, $p<0,001$). Gerçek zamanlı

PZR referans yöntem kabul edildiğinde; Rotavirus ICT duyarlılığı, %93, özgüllüğü; %54,3, pozitif prediktif değer (PPD) %74, negatif prediktif değer (PPD) %76,4 olarak hesaplanmıştır (Tablo 2). ICT testi ile Rotavirus için üç örnekte (%3,5) yanlış negatif, 16 örnekte (%19) ise yanlış pozitif olduğu tespit edilmiştir. Rotavirus ICT/PZR ROC eğrisi Şekil 1'de gösterilmiştir (AUC değeri=0,741).

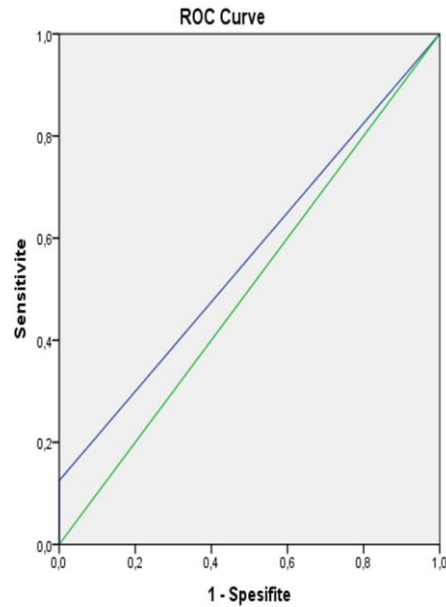
Tablo 2. Rotavirüs ve Adenovirüs için RT-PZR yöntemine göre ICT yöntemi analizi

Test	AUC (Eğri altı alan)	Standart sapma	%95 güven aralığı	p	Duyarlılık %	Özgüllük %	Pozitif prediktif değer %	Negatif prediktif değer %
Rotavirüs ICT	0,741	0,59	0,626/ 0,856	<0,001	93	54,3	74	76,4
Adenovirüs ICT	0,563	0,063	0,438/ 0,687	0,325	12,5	100	100	55,7



Rotavirüs için PZR yöntemi referans alındığında ICT yöntemi ROC Eğrisi

Şekil 1. Rotavirüs ICT/PZR ROC eğrisi.



Adenovirüs için PZR yöntemi referans alındığında ICT yöntemi ROC Eğrisi

Şekil 2. Adenovirüs ICT/PZR ROC eğrisi.

Gaita örneklerinde Adenovirus sonuçları değerlendirildiğinde; ICT yöntemi ile 5'i (%6) pozitif iken, gerçek zamanlı PZR yöntemi ile 40 örnekte (%48) Adenovirus DNA'sı tespit edildi. Adenovirus için ICT ve PZR sonuçlarının sayı ve yüzdeler Tablo 4'te verilmiştir. Adenovirus için ICT ve PZR sonuçları analiz edildiğinde iki test arasında anlamlı ve oldukça zayıf/düşük düzeyde uyum olduğu gözlenmiştir (Adenovirus ICT/Adenovirus PZR $r=0,264$, $p=0,016$). Gerçek zamanlı PZR referans yöntem kabul edildiğinde; Adenovirus ICT duyarlılığı, %12,5, özgüllüğü; %100, PPD; %100, NPĐ; %55,7 olarak hesaplanmıştır (Tablo 2). ICT Adenovirus sonuçlarından 35'inin (%42) yanlış negatif olduğu tespit edilmiştir. Adenovirüs ICT/PZR ROC eğrisi Şekil 2' de gösterilmiştir (AUC değeri; 0,438).

PZR yöntemiyle test edilen örneklerden 23'ü Adenovirüs ve Rotavirüs birlikte pozitif olarak tespit edilmiştir.

Çalışmamızda Norovirüs sadece gerçek zamanlı PZR yöntemi ile araştırılmış olup, örneklerin 11'inde (%13) Norovirus pozitif saptanmıştır.

Tablo 3. Rotavirüs için RT-PZR ve ICT pozitif-negatif sayı ve yüzdeleri

		Rotavirüs RT-PZR				Toplam
		Pozitif		Negatif		
		n	%	n	%	
Rotavirüs ICT	Pozitif	46	55	16	19	62
	Negatif	3	3,5	19	22,5	22
Toplam		49	58,5	35	41,5	84

Tablo 4. Adenovirüs için gerçek zamanlı PZR ve ICT pozitif-negatif sayı ve yüzdeleri.

		Adenovirüs RT-PZR				Toplam
		Pozitif		Negatif		
		n	%	n	%	
Adenovirüs ICT	Pozitif	5	6	0	0	5
	Negatif	35	42	44	52	79
Toplam		40	48	44	52	84

TARTIŞMA

Dünyada yaygın bir morbidite ve mortalite nedeni olan akut gastroenteritlerde, etkenin hızlı ve doğru tanımlanması, hızlı ve doğru tedavi alternatiflerinin seçilmesini sağlayacak, aynı zamanda gereksiz antibiyotik kullanımını engelleyecektir (1). Viral gastroenteritlerin tanısında immunokromatografik yöntemler, kullanımı, yorumlanması kolay yöntemler olması nedeni ile birçok laboratuvarıda tanı için yaygın kullanım alanı bulmaktadır. Ancak bu testlerin moleküler testler ile karşılaştırıldığında çapraz reaksiyonlar nedeni ile yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlar gibi dezavantajları bulunmaktadır (11). Son yıllarda gastroenterit etkeni enterik virüslerin tespiti için kullanıma giren multipleks PZR testleri virüslerin hızlı, doğru ve eşzamanlı olarak birden fazla etkenin aynı anda saptanmasını sağlamıştır (11-13). Gaita örneklerinde Rotavirus, Adenovirus ve Norovirus saptanmasında immünokromatografik yöntem ve gerçek zamanlı PZR yöntemlerinin etkinliğini karşılaştırdığımız bu çalışmada 84 gaita örneğinin ICT yöntemi ile 62'si (%74) Rotavirus pozitif iken gerçek zamanlı PZR yöntemi ile 49'u (%58,5) pozitif saptandı. ICT yöntemi ile örneklerin beşinde (%6) Adenovirus pozitif bulunurken gerçek zamanlı PZR yöntemi ile 40'ı (%48) pozitif tespit edildi. Türkiye'de yapılan çok merkezli bir çalışmada ICT ile Rotavirus antijeni pozitifliği saptanan örneklerin %78,2'sinde ters transkripsiyon PZR ile Rotavirus RNA'sı tespit edilmiştir (14). Yüz elli çocuk hastanın gaita örnekleri ile yapılan bir çalışmada, ICT yöntemi ile %40'ında Rotavirus antijen pozitifliği bulunurken, RT-PZR ile hastaların %15,8'inde Rotavirus RNA'sı tespit edilmiştir (15). Bizim çalışmamızda ICT ile Rotavirus antijeni pozitifliği saptanan 62 örneğin %55'inde PZR ile Rotavirus RNA'sı tespit edildi. Kırdar ve ark.'nın çalışmasında ise; ICT yöntemi ile Rota/Adenovirus pozitif bulunan 80 örnek PZR yöntemi ile Rotavirus, Norovirus, Astrovirus, Adenovirus ve Bocavirus etkenleri araştırılmıştır. Bu çalışmada antijen testi ile araştırılan 80 dışkı örneğinin 74'ünde (%92,5) Rotavirus ve 6'sında (%7,5) Adenovirus tespit etmişler, aynı örnekler Multipleks PZR yöntemi ile araştırıldığında ise %90'ında Rotavirus, 6 (%7,5) Norovirus etkeni tespit etmişler, ancak Astrovirus ve Adenovirus tespit edememişlerdir (16). PZR yöntemi ile sadece iki örnekte Rotavirus RNA'sı saptayamamışlar ve bunun nedenin örneklerin derin dondurucuda saklanıp tekrar çözerek çalışılması nedeniyle oluşabilecek nükleik asit kaybı ya da dışkı örneklerinde bulunan ve yalnızca

negatif sonuçlara neden olabilen fenolik bileşikler, yağ, glikojen ve selüloz gibi inhibitörlerin etkisi ile olabileceği şeklinde yorumlamışlardır. Ancak oranlardaki bu farklılık ICT yönteminin yanlış pozitif sonuçları nedeni ile de olabileceği ihtimali de oldukça yüksektir.

Çalışmamızda Adenovirus sonuçları değerlendirildiğinde; ICT yöntemi ile hastaların sadece %6'sında pozitif saptanırken gerçek zamanlı PZR yöntemi ile bu oran %48 olarak saptandı. Bu durum Adenovirus saptanmasında ICT ve PZR arasında anlamlı ve oldukça zayıf/düşük düzeyde uyum olduğunu göstermektedir. Weitzel ve ark. çalışmasında; ICT sonuçlarının PZR sonuçlarına kıyasla duyarlılık ve özgüllüğünü Rotavirus için %75 ve %95, Adenovirus için %22 ve %85,5 arasında değişmektedir (17). Oranlardaki bu farklılıklar piyasada çok fazla sayıda ticari ICT kitinin bulunması ile açıklanabilir. Ticari olarak üretilen Rotavirus/Adenovirus ICT kitlerinin prospektüslerinde belirtilen duyarlılık ve özgüllük oranları genellikle %100'e yakın değerlerdir (18). Bizim çalışmamızda da kullandığımız kit prospektüsünde test duyarlılığı %95 olarak belirtilmiştir. Ancak bildirilen sonuçlar değerlendirildiğinde ticari bu kitlerin daha fazla çalışma ile değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir. Dışkı örneklerinde Rotavirus saptanması için yedi ticari Rotavirus antijen testinin in house PZR yöntemiyle karşılaştırıldığı bir çalışmada, test duyarlılıkları %80 ile %100 arasında iken, özgüllükleri bir ticari ICT kiti için %54,3 ve diğer analizler için %99,4 ile %100 arasında bulunmuştur. Bu nedenle, bir ticari ICT kiti dışında, diğerleri Rotavirus tespiti için genellikle güvenilir olarak rapor edilmiştir (19).

Avrupa'da yapılan bazı çalışmalarda, hastaneye yatış gerektiren akut şiddetli sporadik gastroenteritin ikinci en sık nedeninin Norovirus enfeksiyonu olduğu bildirilmektedir. Tran ve ark. 0-2 yaş arası çocuklarda görülen gastroenteritlerinde Rotavirus ardından en sık Norovirüsleri etken olarak saptamışlardır (20). Bizim çalışmamızda da PZR yöntemi ile hastaların %13'ünde Norovirüsler etken olarak saptanmıştır. Ancak burada ICT yöntemi ile Norovirüs antijenine bakmadığımız için sonuçlarımızı PZR yöntemi ile kıyaslanamamıştır. Bu durum çalışmamızın negatif yönü olarak değerlendirilebilir. En sık karşılaşılan viral gastroenterit etkenleri Rotavirus ve Adenovirus tanısı için çok yaygın olarak ICT kullanılmaktadır. Ancak çalışmamızda da görüleceği üzere; bu tür olgularda diğer Norovirüs gibi diğer gastroenterit etkeni virüslerin de klinik tablodan sorumlu olabileceği göz ardı edilmemelidir.

Sonuç olarak; ülkemizde ve dünyada, viral gastroenterit tanı yöntemlerinin karşılaştırıldığı az sayıda çalışmanın literatürde mevcut olduğu görülmüştür. ICT; ucuz, hızlı sonuç alınan, kullanışlı, pratik, donanım gerektirmeyen, küçük laboratuvarlara ve toplum taramalarına uygun bir testtir. Ancak ICT ve PZR yöntemleri arasında her iki değişken için de anlamlı olmakla beraber Rotavirus için orta ve Adenovirus için düşük düzeyde uyum olduğu saptanmıştır. ICT yöntemi ile Adenovirus için %42 oranında yanlış negatiflik, Rotavirus için %19 oranında yanlış pozitiflik saptanmıştır. ICT ile Rotavirus ve Adenovirus için negatif sonuç alındığında diğer gastroenterit etkeni virüslerin de klinik tablodan sorumlu olabileceği göz ardı edilmemelidir. Her iki yöntemde de

yalancı pozitiflik ve yalancı negatiflik durumları göz ardı edilmemelidir.

Yazarların Katkıları: Fikir/Kavram: M.K.,; Tasarım: M.K.; Veri Toplama ve/veya İşleme: M.T., B.E.; Analiz ve/veya Yorum: M.K., M.T., Y.A. ; Literatür Taraması: M.K., M.T., Ö.A. ; Makale Yazımı: Ö.A.; Eleştirel İnceleme: M.A.

KAYNAKLAR

- Gonzalez-Serrano L, Munoz-Algarra M, Gonzalez-Sanz R, Portero-Azorin MF, Amaro MJ. Viral gastroenteritis in hospitalized patients: Evaluation of immunochromatographic methods for rapid detection in stool samples. *Journal of Clinical Virology*. 2020; 128: 104420.
- Liu L, Oza S, Hogan D, Chu Y, Perin J, Jun Zhu, et al. Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000-15:an updated systematic analysis with implications for the sustainable development goals. *Lancet*. 2016; 388 (10063): 3027-35.
- Fletcher M, McLaws ML, Ellis JT. Prevalence of gastrointestinal pathogens in developed and developing countries: systematic review and meta-analysis. *J. Public Health Res*. 2013; 2 (1): 42-53.
- Bányai K, Estes MK, Martella V, Umesh PD. Viral gastroenteritis, *Lancet*. 2018; 392 175-86.
- Sidoti F, Rittà M, Costa C, Cavallo R. Diagnosis of viral gastroenteritis: limits and potential of currently available procedures, *J. Infect. Dev*. 2015; 9 (6): 551-61.
- Akhter S, Türegün B, Kıyan M, Gerçek D, Güriz H, Şahin F. Beş yaş altı çocuklarda gastroenterite neden olan yedi farklı RNA virusunun araştırılması. *Mikrobiyol Bul*. 2014; 48(2): 233-41.
- Zboromyrska Y, Vila J. Advanced PCR-based molecular diagnosis of gastrointestinal infections: challenges and opportunities. *Expert review of molecular diagnostics*. 2016; 16(6): 631-40.
- Liu J, Kibiki G, Maro V, Maro A, Kumburu H, Swai N, et al. Multiplex reverse transcription PCR Luminex assay for detection and quantitation of viral agents of gastroenteritis. *J Clin Virol*. 2011; 50: 308-13.
- Bennett S, Gunson RN. The development of a multiplex real-time RT-PCR for the detection of adenovirus, astrovirus, rotavirus and sapovirus from stool samples. *J Virol Methods*. 2016; 242: 30-4.
- Feng W, Gu X, Sui W, Zhang M, Lu B, Wang M, et al. The application and epidemiological research of xTAG GPP multiplex PCR in the diagnosis of infectious diarrhea. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2015; 95: 435-39.
- Hyun J, Ko DH, Lee SK, KimHS, Kim JS. Evaluation of a New Multiplex Real-Time PCR assay for detecting gastroenteritis-causing viruses in stool samples. *Annals of Laboratory Medicine*. 2018; 38(3): 220-5.
- Binnicker MJ. Multiplex molecular panels for diagnosis of gastrointestinal infection: performance, result interpretation, and cost-effectiveness. *J Clin Microbiol*. 2015; 53: 3723-8.
- Kim J, Kim H, Kim H, Kim J, Song W, Hong Y, et al. Evaluation of an immunochromatographic assay for the rapid and simultaneous detection of rotavirus and adenovirus in stool samples. *Ann Lab Med*. 2014; 34: 216-22.
- Durmaz R, Kalaycioglu AT, Acar S, Bakkaloglu Z, Karagoz A, Korukluoglu G, et al. Prevalence of rotavirus genotypes in children younger than 5 years of age before the introduction of a universal rotavirus vaccination program: report of rotavirus surveillance in Turkey. *PloS one*. 2014; 9(12): e113674. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113674>
- Altındiş M, Küçükkurt Ş, Kalaycı R, Aslan FG, Bükülmez A, Yoldaş Y. Akut gastroenteritli çocuklarda Rotavirus, enterik Adenovirus ve Norovirus sıklığı, *Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2016; 1(1): 1-12.
- Kırdar S, Kahyaoğlu F, Yazıcı V, Aydın N. Antijen testi ile Rotavirus pozitif bulunan dışkı örneklerinde PZR ile viral gastroenterit etkenlerinin araştırılması. *J Biotechnol and Strategic Health Res*. 2017; 1(3): 88-93.
- Weitzel T, Reither K, Mockenhaupt PF, Stark K, Ignatius R, Saad E, et al. Field Evaluation of a Rota- and Adenovirus immunochromatographic assay using stool samples from children with acute diarrhea in Ghana. *Journal of Clinical Microbiology*. 2007; 45(8): 2695-97. <https://jcm.asm.org/content/jcm/suppl/2014/12/17/JCM.02251-14>.
- DCSupplemental/zjm999093925so1.pdf Erişim Tarihi: 08.05.2019
- Ye S, Lambert SB, Grimwood K, Roczo-Farkas S, Nimmo GR, et al. Comparison of test specificities of commercial antigen-based assays and in-house PZR methods for detection of Rotavirus in stool specimens. *Journal of Clinical Microbiology*. 2015; 53(1): 295-97.
- Tran A, Talmud D, Lejeune B, Jovenin N, Renois F, et al. Prevalence of rotavirus, adenovirus, norovirus, and astrovirus infections and coinfections among hospitalized children in northern France. *J Clin Microbiol*. 2010; 48(5): 1943-6.