

# Üst solunum yolu enfeksiyonu yakınmaları olan ilköğretim çağı çocuklarında polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi kullanılarak adenovirus araştırılması

Emine Bodur (\*), Mehmet Yapar (\*\*), Kenan Şener (\*\*), Cumhur Çökmüş (\*), Çakır Güney (\*\*), Ayhan Kubar (\*\*)

## ÖZET

Sıklıkla soğuk algınlığına neden olan adenoviruslar insanlarda pek çok sistemi etkileyen ve çeşitli hastalık tablolarına yol açabilen, dünya genelinde yaygın virüslerdir. Bu çalışmanın amacı, ilköğretim çağı çocuklarında nazofarengeal adenovirusları saptamak ve virüslerin alt tip tanımlamasını yapmaktır. Bir salgın olmaksızın solunum yolu enfeksiyon belirtirleri olan ilköğretim çağı çocuklarından boğaz sürüntü örnekleri toplandı. Adenovirusların saptanması için genel adenovirus primerleriyle polimeraz zincir reaksiyonu kullanıldı. Polimeraz zincir reaksiyonu ile adenovirus pozitifliği saptanan örneklerin gruba özgü primerlerin kullanıldığı konvensiyonel polimeraz zincir reaksiyonu yöntemiyle alt grup tanımlaması yapıldı. Bundan sonra polimeraz zincir reaksiyonu ürünlerinin özgül olup olmadığı *MspI* restriksiyon enzimi kullanılarak doğrulandı. Beş yüz örneğin 11'inde (%2.2) adenovirus pozitif bulundu. Bu örneklerin tümü E alt grubuna (Serotip 4) özgü primerlerle pozitif, B ve C alt gruplarına özgü primerlerle negatif bulundu. Alt gruba özgü polimeraz zincir reaksiyonu ürünleri E alt grubu ile uyumlu bulundu. Adenoviruslara bağlı enfeksiyonlar sıklıkla hayatın erken dönemlerinde görüldüğü için, ülkemizdeki kısıtlı sayıda çalışmaları daha çok okul öncesi çocuklar ve öğrencilerle ilişkilidir. Bu çalışmada tüm adenovirus suşları E alt grubu (serotip 4) olarak bulundu. Ancak Türkiye'de ilköğretim çağı çocuklarında viral solunum yolu enfeksiyonlarına ait veriler hala bilinmemektedir ve bu konuda daha geniş popülasyonlarla yapılacak çalışmalara gereksinim vardır.

**Anahtar kelimeler:** Adenovirus, ilköğretim çağı çocuklar, polimeraz zincir reaksiyonu, üst solunum yolu

## SUMMARY

**Investigation of adenovirus in primary school-age children with the symptoms of upper respiratory tract infection using polymerase chain reaction**

Adenoviruses, being the common cause of common cold are the viruses which affect many systems and result in various disease presentations in the human and are common in the worldwide. The aim of this study was to detect nasopharyngeal adenoviruses and perform subtype identification of virus isolates in primary school-age children. Throat swab samples were collected from the primary school-age children with the symptoms of respiratory tract infection without an epidemic. Polymerase chain reaction with common adenovirus primers was used to detect adenoviruses. Subgroup identification using conventional polymerase chain reaction with group specific primers was made in samples detected positive for adenovirus by polymerase chain reaction. Afterwards whether the products of polymerase chain reaction were specific or not was confirmed by using *MspI* restriction enzyme. Of five hundred specimens, 11 (2.2%) were positive for adenovirus. All these 11 specimens were positive with subgroup E (serotype 4) specific primers and negative with subgroup B and C specific primers. Subgroup specific polymerase chain reaction products were positive for subgroup E. Infections caused by adenoviruses are usually seen in the early years of life, and limited number of studies in our country have been performed on pre-school children and students. In this study, all the adenovirus strains were identified as subgroup E (serotype 4). However, data on viral respiratory infections in primary school-age children in Turkey are still unknown, and further studies in larger populations are needed on this subject.

**Key words:** Adenovirus, primary school-age children, polymerase chain reaction, upper respiratory tract

## Giriş

Adenoviruslar (AdV), nezle ve çocuklardaki diğer solunum yolu enfeksiyon etkenlerinin yoğun olarak araştırıldığı bir dönemde, ilk kez adenoid dokudan hücre kültürü hazırlanması sırasında 1953 yılında izole edilerek orijin aldığı dokuya ithafen isimlendirilmiştir (1). Aynı zaman diliminde akut solunum hastalığı ve primer atipik pnömoni olgularında hücre kültürlerine ekim sonrası adenoviruslar saptanmıştır. Günümüzde, doğada mevcut canlıları enfekte edebilen 100'ün üzerinde adenovirus serotipi bilinmekle beraber bunların 51'i insanlardan izole edilmiştir (2). AdV'la ilişkili üst solunum yolu enfeksiyonları soğuk algınlığı, farenjit ve tonsillit şeklinde görülmekte olup, özellikle 1'den 7'ye kadar olan serotiplerle ilişkilidir (3). Tip 1, 2, 5 ve 6 ile oluşan enfeksiyonlarda dikkat çekici bir özellik yaklaşık %50 olguda virüsün adenoid ve tonsiller dokuda latent durumda kalmasıdır. Bronşit, bronşiyolit ve pnömoni gibi alt solunum yolları enfeksiyonları adenovirus enfeksiyonuna bağlı olarak sık görülen komplikasyonlardır (4). Özellikle yenidoğan ve çocukluk çağında (nadiren yetişkinlerde) ciddi ve bazen ölümcül pnömoniler görülebilmektedir. Bu durumun 3, 4, 7 ve 21 serotipleriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (5).

AdV hemen hemen bütün organ sistemlerinden izole edilebilmektedir ve tüm yıl boyunca endemik olan ve her yaş grubunda görülebilen pek çok klinik sendromla ilişkisi bulunmaktadır. AdV kış ve ilkbahar aylarında bölgesel solunum yolu enfeksiyon salgınlarına, yaz aylarında yüzme havuzuyla ilişkili faringokonjunktival ateş salgınlarına ve yılın herhangi bir zamanında endüstriyel göz travması veya oftalmolojik işlemlere bağlı olarak keratokonjunktivit epidemilerine yol açabilmektedir (6-8).

Bu çalışmada, herhangi bir salgın durumu olmaksızın Ankara ilindeki bazı ilköğretim okullarından çeşitli yaş ve cinsiyetteki toplam beş yüz farklı öğrenciden toplanan boğaz sürüntü örneğinde AdV'nin polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi kullanılarak

\* Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji AD

\*\*GATF Tıp Fakültesi Viroloji BD

**Ayrı basım isteği:** Dr. Kenan Şener, GATF Viroloji BD, Etiik-06018, Ankara

**E-mail:** tabipks@yahoo.com

**Makalenin geliş tarihi:** 01.07.2009 • **Kabul tarihi:** 03.09.2009

saptanması ve saptanan AdV'nin hangi alt gruba ait olduğunun PZR ve restriksiyon enzim kesimi yöntemleriyle belirlenmesi amaçlandı. Bu şekilde adenovirus insidansı belirlendi.

### Gereç ve Yöntem

**Örneklerin toplanması:** Mart 2007 ile Nisan 2007 tarihleri arasında Ankara ilindeki farklı bölgelerde bulunan on ilköğretim okulu ziyaret edilerek üst solunum yolu enfeksiyonu (ÜSYE) hastalığı yakınmaları (boğaz ağrısı, öksürük, halsizlik, gibi) olan öğrenciler ayrıca bir fizik muayeneden geçirilmeksizin tespit edildi ve velilerine bilgilendirilmiş gönüllü onam formu gönderildi. Ertesi gün velilerinden izin alınmış toplam 500 ilköğretim öğrencisinden pamuklu eküvyon çubuklar ile farens duvarının lateral ve posteriyor bölgelerinden boğaz sürüntü örneği alındı. Boğaz sürüntü örnekleri streptomisin (100 mg/L) ve penisilin (100000 U/L) içeren Eagle's Minimum Essential Medium (MEM) içine konularak soğuk zincir ile laboratuvarımıza gönderildi. Örnekler çalışma zamanına kadar -80 °C'de dondurularak saklandı. Bu çalışma Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji AD'na ait bir doktora tez çalışması olarak planlanmış ve finansmanı üniversite tarafından sağlanmış olup, çalışmanın tamamı GATF Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD Viroloji BD laboratuvarında gerçekleştirildi.

**Adenoviral DNA araştırılması:** Adenovirus DNA'sının araştırılmasında PZR kullanıldı. DNA izolasyonu daha önce tanımlandığı şekilde (9) alkali fenol-kloroform-izoamil alkol yöntemiyle yapıldı. Buna göre 250 µl reaksiyon tamponu [20 mM (pH: 7.8) Tris-HCl (Sigma/Almanya), 10 mM EDTA (Sigma/Almanya), %0.2 SDS (Sigma/Almanya)] içine 70 mg/ml'lik pronase E (Serva/Danimarka) solüsyonundan 10 µl ve son olarak 100 µl örnek eklendi. Karışım 42 °C'de iki saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda tüplere 500 µl alkali fenol-kloroform-izoamil alkol (25:24:1) (Amresco/ABD) eklendi ve santrifüj sonunda elde edilen üst sıvı ayrı bir tüpe alındı. Alınan üst sıvının üzerine 500 µl izopropil alkol eklendi ve santrifüj sonrası elde edilen pellet 1000 µl %75'lik etil alkol ile yıkandı ve etanol tamamen uçtuktan sonra elde edilen DNA pelleti 100 µl steril distile su ile tekrar süspanse edildi.

**Primer dizaynı:** Çalışmada kullanılan tüm primerlerin dizaynı OligoYap 4.0 isimli bilgisayar yazılımı yardımıyla yapıldı (10). Adenovirus ortak primerleri seçilirken GenBank'tan program arşivine dahil edilen 62 tam genom dizisi kullanıldı (11). Dizayn edilen tüm diziler (oligolar) internet yardımıyla GenBank'ın BLAST özelliği (National Institute for Biotechnology Information, Bethesda, MD, USA) kullanılarak istenilen bölgeye özgü olup olmadıkları yönünden kontrol edildi. Tüm

oligolar Alpha DNA (Kanada) firmasına sentezlettiler. Adenovirus B, C ve E alt grubu için daha önce tanımlanan primerler kullanıldı (9) (Tablo I).

Tablo I. Adenovirusa ait ortak ve alt grup primerleri

Adı	Primerler (5' 3')	Amplikon uzunluğu (bp)
AdVP1	GCAAAGCGAAAGTAACATC	646
AdVP2	TACTTCCATCACATCAACAG	
ADVBP1	CATGATCCATCGTCTCAGCGGCA	789
ADVBP2	CAGGATAATGCTTGGGGAATG	
ADVCP1	GCTGTGACTCCGGTCCTTCTAAC	321
ADVCP2	CGGCGCATTATATACCCCTTAAG	
ADVEP1	GCCCAGAAACCGGTGACACA	120
ADVEP2	CGGTCGACGGAATTTGAAAG	

**Polimeraz zincir reaksiyonu:** Son hacmi 40 µl olan ve içerisinde 2 mM dNTP (Sigma/Almanya), 1X PCR buffer, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1.5 U Taq DNA polimeraz ve 20 pmol sens ve antisens primerler olan reaksiyon karışımına 10 µl DNA ilave edildikten sonra "thermal cycler" cihazında 94 °C'de 5 dk, daha sonra her bir siklus 94 °C'de 30 sn, 60 °C'de 30 sn, 72 °C'de 35 sn olmak üzere 40 siklus ve en son uzatma aşaması için 72 °C'de 5 dk olacak şekilde PZR işlemi gerçekleştirildi. Elde edilen ürünün 5 µl'si jel elektroforezde (%1.5 agarose, 1x TBE) 100-bp moleküler standart (K180-250 UL, Amresco, USA) kullanılarak 200 V'da 15 dk süreyle yürütüldü. Jel ethidium bromid ile boyandı ve band görüntüleri UV ışık altında GelDoc görüntüleme sistemi yardımıyla bilgisayar ortamına aktarıldı.

**Adenovirus alt gruplarının belirlenmesi:** Adenovirus yönünden pozitif bulunan örneklerden tekrar DNA izolasyonu yapıldı ve bu DNA'lar B, C ve E alt gruplarına özgü primerler (Tablo I) kullanılarak konvensiyonel PZR işlemine alındı (9). Elde edilen amplikonların özgül ürünler olup olmadığını kontrol etmek için daha önce tanımlanan şekilde restriksiyon enzim kesimi yapıldı (9). Bu işlemde kullanılacak enzimin seçiminde OligoYap 4.0 isimli bilgisayar yazılımından yararlanıldı (10). Her alt grup için farklı büyüklüklerde DNA parçaları oluşturan MspI enzimi seçildi. Program arşivinde bulunan sekiz adenovirus E alt grubuna ait dizilere göre, C/CGG tanıma bölgesinden kesim yapan bu enzimin 120 bp'lik PZR ürününü yaklaşık 10, 50 ve 60 bp büyüklüğünde üç parçaya ayırması beklenmektedir.

### Bulgular

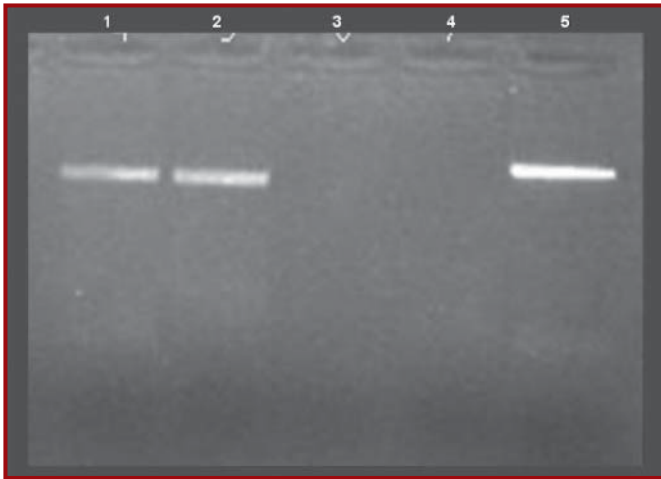
**Örneklem:** Mart 2007 ile Nisan 2007 tarihleri arasında Tablo II'de gösterilen Ankara ilinde bulunan rastgele seçilmiş 10 farklı ilköğretim okulunda solunum yolu

enfeksiyonu şikayetleri olan (boğaz ağrısı, öksürük, burun tıkanıklığı, burun akıntısı ve solunum güçlüğü şikayetlerinden en az ikisi bulunan) ve herhangi bir tedavi almayan öğrenciler taranarak ertesi gün aileleri tarafından bilgilendirilmiş gönüllü onam formu imzalanmış olan 306'sı kız (%61.2) ve 194'ü erkek (%38.8) olmak üzere toplam 500 çocuktan (yaş ortalaması 11.8 yıl) boğaz sürüntü örneği steril eküvyon çubuklarıyla alındı. Alınan boğaz sürüntü örnekleri antibiyotik içeren viral transport besiyerlerine alınıp soğuk zincirle GATF Viroloji BD laboratuvarına ulaştırıldı.

**Tablo II. Örneklerin alındığı okullar**

Sıra no	İlköğretim okulu	Örnek sayısı (n)
1	Boztepe	25
2	Mimar Kemal	71
3	Onüç Ekim	39
4	Metin Emiroğlu	34
5	Atıf Bey	76
6	Turhan Feyzioğlu	56
7	Dostlar	52
8	Cumhuriyet	33
9	Güneşevler	71
10	Nuh Eskiyaan	43
Toplam		500

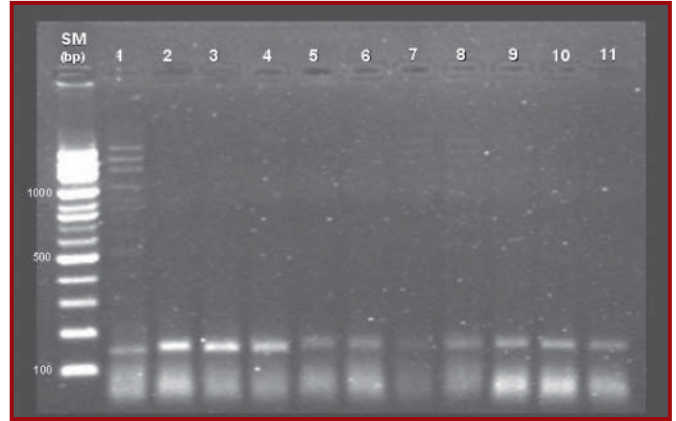
**Adenoviral DNA araştırılması:** Boğaz sürüntü örneklerinden DNA izolasyonu sonrası yapılan klasik PZR yöntemiyle 500 örnekten 11'inde (%2.2) adenovirus DNA'sı pozitif bulundu (Şekil 1).



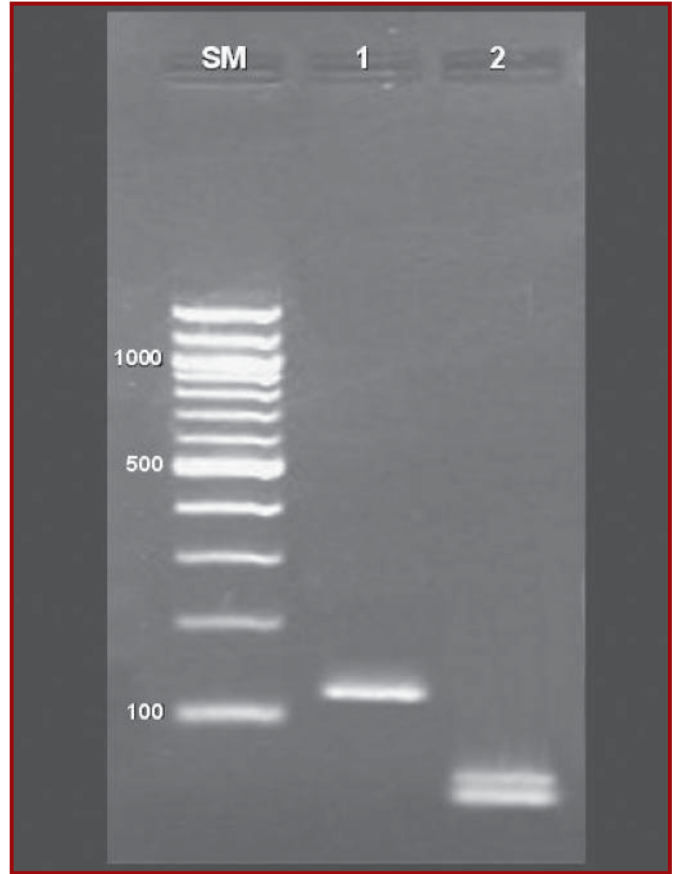
**Şekil 1.** Adenovirus pozitif örneklere ait polimeraz zincir reaksiyonu ürünlerinin jel görüntüsü (Yol 1 ve 2 pozitif örneklere ait, 3. yol negatif örnek, 4. yol negatif kontrol ve 5. yol pozitif kontrol)

**Alt grupların belirlenmesi:** Adenovirus B, C ve E alt gruplarına özgü dizayn edilen primerler kullanılarak yapılan PZR işlemi sonucunda AdV pozitif izolatların hiçbirisinde B ve C primerleriyle PZR ürünü oluşmazken, 11 izolatın tamamında E primerleriyle yapılan

PZR işlemi sonrası 120 bp bölgesine uyumlu büyüklükte PZR ürünü oluştu (Şekil 2). Bu ürünlerin özgül olup olmadıklarını kontrol etmek için *MspI* restriksiyon enzimi kullanıldı. Bu çalışmada elde edilen PZR ürünlerinin restriksiyon enzim kesimi sonrası E alt grubuyla uyumlu olarak agaroz jelde 50-60 bp bölgesinde bant oluştuğu görüldü (Şekil 3).



**Şekil 2.** Adenovirus E alt grubuna özgü primerlerle yapılan polimeraz zincir reaksiyonu işlemi sonrası oluşan 120 bp bölgesine uyumlu büyüklükteki polimeraz zincir reaksiyonu ürünlerine ait jel görüntüsü (SM: Size marker, 1-11. yollar: polimeraz zincir reaksiyonu ürünleri)



**Şekil 3.** Adenovirus E alt grubu polimeraz zincir reaksiyonu ürünlerinin *MspI* enzimi ile kesimi sonrası oluşan bantlara ait jel görüntüsü (SM: Size marker, yol 1: Adenovirus E polimeraz zincir reaksiyonu ürünü, yol 2: Restriksiyon Enzimi (RE) kesimi sonrası oluşan bantlar)

## Tartışma

AdV, ÜSYE'da çoğu kez etken virüsler olup, enfeksiyonları farenjit ve tonsillit şeklindedir. Genellikle B, C ve E alt grubu AdV, solunum yolu enfeksiyonlarına neden olmaktadır (12). AdV'ın tanısında altın standart yöntem hücre kültürü olarak kabul edilmektedir. Ancak hücre kültüründe iyi sonuç alınabilmesi, örneklerin uygun şekilde alınması, uygun koşullarda laboratuvara gönderilmesi, virüslerin aktivite kaybına uğramaması için örnek alımı ile kültür ekimi arasındaki sürenin uzun olmaması gibi pek çok faktöre bağlıdır. Aynı zamanda bakteriyel kontaminasyon ya da örneğin kendi toksik etkisine bağlı olarak virüs izolasyonunun engellenmesi hücre kültürünün bir diğer kısıtlayıcı yönüdür. Ayrıca AdV'ın kültürde çoğalabilmeleri için örnek içindeki virüs konsantrasyonuna bağlı olarak 3-21 gün gibi uzun bir zamana gerek sinin duyulmaktadır. Tüm bu nedenlerden dolayı günümüzde hücre kültürü yönteminin tanıs al amaçlı kullanımını oldukça kısıtlıdır. AdV'ın saptanmasında ve tiplendirilmesinde bugüne kadar indirekt immünoflöresan antikor testi, shell-vial yöntemi, immüno-kromatografi testi, PZR-RFLP yöntemi, klasik PZR, multipleks PZR ve real-time PZR yöntemi gibi pek çok yöntem kullanılmıştır (7,9,13-24). Geleneksel klinik viroloji laboratuvar testlerinin en önemlileri olan virüs izolasyonundan veya serolojik testlerden sonuç alınana kadar, virüs enfeksiyonu çoğunlukla klinik seyrini tamamlamakta veya konvalesan evreye girmektedir. Bu nedenle PZR gibi hızlı ve duyarlı olan nükleik asid amplifikasyon testleri klasik yöntemlere göre daha avantajlı görünmektedir (19,25-27).

Adenovirus enfeksiyonları daha çok bebek ve küçük çocuklarda görülmektedir. Beş yaşın altındaki çocuklarda akut alt solunum yolu enfeksiyonu etkeni virüsler içerisinde AdV %13 ile, respiratuvar sinsityal virus (RSV) (%32-36) ve parainfluenza virus (%17)'dan sonra üçüncü viral ajandır (28). AdV'a bağlı enfeksiyonlar sıklıkla hayatın ilk yıllarında görüldüğü için, ülkemizde konuyla ilgili son 20 yıl içerisinde yapılan sınırlı sayıda çalışma daha çok okul öncesi ve okul çağı çocuklarıyla ilgilidir. Bu çalışmaların çoğunda serolojik yöntemler kullanılmıştır. Bu çalışmanın, moleküler yöntemler kullanılarak toplu yaşam koşullarına maruz kalan ve solunum yolu enfeksiyon şikayetleri olan ilköğretim çağı çocuklarında AdV'ın araştırılması ve saptanan suşların alt tiplerinin belirlenmesi açısından önemli olduğu düşünülmektedir.

Ege Bölgesi'nde 1995-1996 yılları arasında immünoflöresan yöntemiyle yapılan başka bir çalışmada, ÜSYE olan 187 (131'i çocuk, 56'sı yetişkin) hastada %3.7 oranında adenovirus pozitifliği saptanmıştır (29). ÜSYE olan çocukluk çağı hastalarında Baskın'ın yap-

tığı serolojik bir çalışmada, adenovirus pozitifliği %28 olarak bulunmuş ve en sık görülme yaşının 13-24 aylar arası olduğu saptanmıştır (30). Kaygusuz ve ark. solunum yolu enfeksiyonu şikayeti ile hastaneye müracaat eden 211 (76 çocuk ve 135 yetişkin) hastanın örneklerini immünoflöresan yöntemiyle bakteriyel ve viral yönden araştırmışlar ve adenovirus sıklığını çocuklarda %3.9, yetişkinlerde ise %14.8 olarak bulmuşlardır (31). Başka bir çalışmada alt solunum yolu enfeksiyonu olan 50 çocukta adenovirus sıklığı hücre kültürüyle %10 olarak bulunmuştur. Bu oran ÜSYE'lu 45 çocukta ise %6 olarak bulunmuştur (15). Bizim çalışmamızda bir salgın durumu olmaksızın solunum yolu enfeksiyonu şikayetleri olan Ankara'nın değişik bölgelerindeki ilköğretim çağı öğrencilerinden alınan toplam 500 boğaz sürüntü örneğinde %2.2 (11/500) adenovirus pozitifliği saptandı.

Bu çalışmada adenovirus oranının göreceli olarak düşük bulunmasının nedeninin ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelerde virüsle daha çok okul öncesi yaşlarda karşılaşılmasına bağlı olabileceği düşünüldü.

Küba-Havana'da, 1996-1997 yılları arasında hastaneye yatırılmış beş yaş altı, 128 akut solunum yolu hastalıklı çocuktan 9'undan (%7) adenovirus izole edilmiş, restriksiyon enzim analizi ile tümünün C alt grubuna ait olduğu ve serotiplerin ise 4 hastada AdV 1, bir hastada AdV 2 ve altı hastada AdV 6 şeklinde dağıldığı görülmüştür (32). Arjantin, Buenos Aires'de iki yıllık periyod boyunca pediatrik ünitelerde yapılan çalışmalarda 168 akut solunum enfeksiyonlu çocuğun 24'ünde (%14.3) adenovirus vakası tespit edilmiştir. Bunların %82.3'ü alt grup B ve %17.7'si alt grup C olarak bulunmuştur. Alt grup B'de sadece serotip 7 bulunmuştur (33). Taiwan'da yapılan bir çalışmada, hastanede yatan ve ÜSYE olan bebeklerden alınan nazofarengeal sürüntü örnekleri doku kültürü ve shell vial yöntemiyle incelenmiş ve hastaların 9'unda adenovirus tespit edilmiştir. Bunların yedisinde alt grup B (serotip 3), birisinde alt grup C (serotip 2) ve diğerinde yine alt grup B (serotip 11) tespit edilmiştir (34). Multipleks real-time PZR yönteminin kullanıldığı bir çalışmada iki yıllık periyod boyunca toplanan solunum sistemi örneklerinde %2.3 oranında adenovirus pozitifliği bulunmuştur. Pozitif örneklerin çoğunluğunun adenovirus alt grup B'ye (serotip 7) ait olduğu, bunu alt grup C (serotip 2) ve yine alt grup B'nin (serotip 3) izlediği görülmüştür (35). Bütün bu çalışmalar adenovirus alt gruplarının ve serotiplerinin değişik ülkelerde, değişik mevsimlerde görülme yüzdelerinin farklı olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada gruba özgü primerlerle yapılan PZR testine göre AdV pozitif saptanan izolatların tümü E alt grubuna (serotip 4) ait bulundu. Ülkemizde kısıtlı sayıda-

ki çalışmalarda adenovirus enfeksiyonlarının seroprevalansı tam olarak belirlenmemiştir. Bu konuda daha fazla epidemiyolojik çalışmaya gereksinim vardır.

Bu çalışmada ÜSYE etkeni olarak sıklıkla karşılaşılan AdV, ilköğretim çağı çocuklarının boğaz sürüntü örneklerinde, kısa sürede, güvenilir ve düşük maliyetle sonuç veren moleküler bir yöntem olan klasik PZR yöntemiyle alt grup düzeyinde belirlendi. AdV'ın araştırılması ve saptanan suşların alt tiplerinin belirlenmesi yönünden çalışmamız ülkemizde yapılan en kapsamlı çalışmalardan birisidir. Bu nedenle elde edilen verilerin gelecekteki çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

### Teşekkür

Bu çalışmanın yapılması esnasındaki değerli katkılarından dolayı GATF Viroloji BD Laboratuvar çalışanları Bio.Dr. Nazif Esin'e, Laborant Yakup Alptekin'e ve Laborant Hülya Aydın'a çok teşekkür ederiz.

### Kaynaklar

1. Günaydın M. Adenovirüsler. In: Başustaoğlu A, Kubar A, Yıldırım ŞT, Tanyüksel M. (çeviri eds). Klinik Mikrobiyoloji. 9ncu baskı. Ankara: Atlas Kitapçılık, 2009; 1589-1600.
2. Jong JCD, Wermenbol AG, Uijterwaal MWV, et al. Adenoviruses from human immunodeficiency virus infected individuals, including two strains that represent new candidate serotypes Ad50 and Ad51 of species B and D. J Clin Microbiol 1999; 37: 3940-3945.
3. Hashido M, Mukouyama A, Sakae K, et al. Molecular and serological characterization of adenovirus genome type 7h isolated in Japan. Epidemiol Infect 1999; 122: 281-286.
4. Aydın K, Caylan ÖR. Soğuk Algınlığı. In: Uzun Ö, Ünal S (eds). Güncel Bilgiler Işığında İnfeksiyon Hastalıkları. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2001: 161-166.
5. Swenson PD, Wadell G, Allard A, Hierholzer JC. Adenoviruses. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds). Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. Washington DC: ASM Press, 2003: 1404-1417.
6. Inagawa WS, Tanaka K, Uchio E, Itoh N, Ohno S, Aoki K. Genome typing of adenovirus type 34 isolated in two cases of conjunctivitis in Sapporo, Japan. J Clin Microbiol 2001; 39: 4187-4189.
7. Inagawa WS, Oshima A, Aoki K, et al. Rapid diagnosis of adenoviral conjunctivitis by PCR and restriction fragment length polymorphism analysis. J Clin Microbiol 1996; 34: 2113-2116.
8. Ishiko H, Shimada Y, Konno T, et al. Novel human adenovirus causing nosocomial infections of epidemic keratoconjunctivitis. J Clin Microbiol 2008; 46: 2002-2008.
9. Sener K, Yapar M, Guney C, et al. Investigation of the presence and subgroups of adenoviruses in nasopharyngeal samples of military recruits with respiratory tract infections. Mikrobiyol Bul 2009; 43: 91-101.

10. Yapar M, Aydoğan H, Pahsa A, et al. Rapid and quantitative detection of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus by one step real-time reverse transcriptase PCR. Jpn J Infect Dis 2005; 58: 358-362.
11. Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/index.html>. Son erişim tarihi: 16.03.2005.
12. Emel Bozkaya. Solunum sistemi enfeksiyonları ve influenza. In: Ustaçelebi Ş, Abacıoğlu H, Badur S (eds). Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji. Ankara: Güneş Kitabevi, 2004: 101-111.
13. Kim RM, Lee RH, Lee MG. Epidemiology of acute viral respiratory tract infections in Korean children. J Infect 2000; 41: 152-158.
14. Carballal G, Videla C, Misirlian A, Requeijo PV, Aguilar CM. Adenovirus type 7 associated with severe and fatal acute lower respiratory infections in Argentine children. BMC Pediatr 2002; 2: 6.
15. Aslan SS, Yılmaz G. Akut solunum yolu enfeksiyonlu çocuklarda adenovirus enfeksiyonu insidansının saptanması. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2001; 31: 242-244.
16. Tsutsumi H, Ouchi K, Ohsaki M, et al. Immunochromatography test for rapid diagnosis of adenovirus respiratory tract infections: comparison with virus isolation in tissue culture. J Clin Microbiol 1999; 37: 2007-2009.
17. Fujimoto T, Okafuji T, Okafuji T, et al. Evaluation of a bedside immunochromatographic test for detection of adenovirus in respiratory samples, by comparison to virus isolation, PCR and real-time PCR. J Clin Microbiol 2004; 42: 5489-5492.
18. Chen LH, Chiou SS, Hsiao PH, et al. Respiratory adenoviral infections in children: a study of hospitalized cases in southern Taiwan in 2001-2002. J Trop Pediatr 2004; 50: 279-284.
19. Allard A, Girones R, Juto P, Wadell G. Polymerase chain reaction for detection of adenoviruses in stool samples. J Clin Microbiol 1990; 29: 2683.
20. Echavarria M, Kolavic SA, Cersovsky S, et al. Detection of adenoviruses (AdV) in culture-negative environmental samples by PCR during an AdV-associated respiratory disease outbreak. J Clin Microbiol 2000; 38: 2982-2984.
21. Shike H, Shimizu C, Kanegaye J, Foley J, Burns JC. Quantitation of adenovirus genome during acute infection in normal children. Pediatr Infect Dis J 2005; 24: 29-33.
22. Xu WH, Erdman DD. Type-specific identification of human Adenovirus 3, 7 and 21 by a multiplex PCR assay. J Med Virol 2001; 64: 537-542.
23. Garnett CT, Erdman D, Xu W, Gooding LR. Prevalence and quantitation of species C adenovirus DNA in human mucosal lymphocytes. J Virol 2002; 76: 10608-10616.
24. Harrington KP, Khanna M, Waters CR, Henrickson KJ. Rapid detection and identification of human adenovirus species by adenoplex, a multiplex, PCR enzyme hybridization assay. J Clin Microbiol 2004; 42: 4072-4076.
25. Kinchington PR, Romanowski EG, Jerold Gordon Y. Prospects for adenovirus antivirals. J Antimicrob Chemother 2005; 55: 424-429.
26. Echavarria M, Forman M, Ticehurst J, Dumler JS, Carache P. PCR method for detection of adenovirus in urine of healthy and human immunodeficiency virus-infected individuals. J Clin Microbiol 1998; 36: 3223-3226.

27. Cooper RJ, Yeo AC, Bailey AS, Tullo AB. Adenovirus polymerase chain reaction assay for rapid diagnosis of conjunctivitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40: 90-95.
28. Echavarría M. Adenoviruses. In: Zuckerman AJ, Banatvala JE, Schoub BD, Griffiths PD, Mortimer P (eds). *Principles and Practice of Clinical Virology*. 6th edition. Oxford, UK: John Wiley & Sons Ltd., 2009: 463-488.
29. Yamazhan T. 1995-1996 kış mevsiminde, hücre kültürü yöntemi ile bölgemizde saptanan adenovirus, solunum sınırsız virus ve parainfluenza virus enfeksiyonları. *Uzmanlık Tezi*, 1998, İzmir.
30. Baskın E. Çocukluk çağında adenovirus enfeksiyonları. *Uzmanlık Tezi*, 1992, Sivas.
31. Kaygusuz S, Köksal İ, Aydın K, Çaylan R. Investigation of atypical bacteria and virus antigens in respiratory tract infections by use of immunofluorescence method. *Jpn J Infect Dis* 2004; 57: 33-36.
32. Pumariaga T, Savon C, Mune M, et al. Isolation and identification of adenovirus in hospitalized children, under five years, with acute respiratory disease, in Havana, Cuba. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2000; 95: 859-862.
33. Murtagh P, Cerqueiro C, Halac A, Avila M, Kajon A. Adenovirus type 7h respiratory infections: a report of 29 cases of acute lower respiratory disease. *Acta Paediatr* 1993; 82: 557-561.
34. Chuang YY, Chiu HC, Wong SK, et al. Severe adenovirus infection in children. *J Microbiol Immunol Infect* 2003; 36: 37-40.
35. Wong S, Pabbaraju K, Pang XL, Lee BE, Fox JD. Detection of a broad range of human adenoviruses in respiratory tract samples using a sensitive multiplex real-time PCR assay. *J Med Virol* 2008; 80: 856-865.