

ÖZET

Giriş ve amaç: Enterik virüsler (özellikle Rotavirüs, norovirus ve adenovirüs) bakteriyel olmayan akut gastroenteritlerin en sık nedeni olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada gastroenteritli çocuklarda neden olan viruslerin sıklığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışma, Afyon ilindeki ishal etkeni virüsleri belirlemek üzere Ocak ve Aralık 2009 tarihleri arasında toparlanan örneklerde gerçekleştirilmiştir. Altı yaş altında (yaş ortalaması 2.18 ± 1.64 yıl) 150 çocuktan alınan dışkı örnekleri standart kültür yöntemleri ile patojen bakteriler ekarte edildikten sonra ELISA ile rotavirus / adenovirus ve norovirus (Ridascreen ve Biomeriux) açısından test edilmiş, yine 95 hasta örneği de RT PCR ile rotavirus açısından değerlendirilmiştir.

Bulgular: 2009 yılında Afyonkarahisar ilinde gastroenterit nedeniyle hastaneye getirilen 6 yaş altı 150 çocuğun %40'ında rotavirus, 92 çocuğun %22.8'inde norovirus ELISA ile pozitif saptanmış, rotavirusun RT PCR ile araştırıldığı 95 olgunun da %15.8'inde pozitiflik belirlenmiştir. Viral gastroenterit ile gelen çocukların % 6.5'unda da karışık norovirus-rotavirüs enfeksiyonu gözlenmiştir. Çalışılan 122 hastanın altısında adenovirus pozitif bulunmuştur(%4.91). Adenovirus, Rotavirus birlikte pozitifliği 1 örnekte, Rotavirus, Nörovirus beraberliği 4 örnekte bulunmuştur.

Tartışma: Rotavirus, gastroenteritlerin halen en sık etkendir. Norovirus kusmanın ön planda olduğu olgularda daha sık etken olabilmektedir. Norovirus için enfeksiyonun şiddeti düşük olmakla beraber rotavirus ile ortak enfeksiyonda artış gözlenmektedir.

Anahtar kelimeler: rotavirus, norovirus, adenovirus, akut gastroenterit.

SUMMARY

THE FREQUENCY OF ROTAVIRUS, ENTERIC ADENOVIRUS AND NOROVIRUS IN CHILDREN WITH ACUTE DIARRHEA

Background and aims: Enteric viruses(especially rotaviruses, noroviruses, adenoviruses) that have been reported as a cause of nonbacterial acute gastroenteritis. This study aims to determine the prevalence and the distribution of viruses responsible for gastroenteritidis in children.

Methods: A epidemiological study on common diarrheal viruses was conducted in Afyon City, Turkey between January and December 2009. One hundred and fifty faecal samples from children under 6 years of age(mean age, $2.18 \pm SD 1.64$ years, range: 1 – 72 months)(negative for the presence of pathogenic bacteria by standard culture methods) were tested by ELISA(Ridascreen and Biomeriux) and RT PCR methods for detection of rotavirus.

Results: Noroviruses were detected in 22.8% of 92 children (<6 years of age) and rotavirus were detected in 40 % of 150 hospitalized for gastroenteritis in Afyonkarahisar, Turkey, during 2009; rotaviruses were detected in 15.8 % in 95 children with RT PCR. Of children with viral enteritis, 6,5% had a mixed norovirus-rotavirus infection. The frequency of adenovirus were 6 of 122 patients(4.91%). Adenovirus plus rotavirus positivity with one case, Rotavirus plus Nörovirus draw in four samples were found.

Conclusions: Rotavirus is still the most common cause for gastroenteritis. Norovirus may be agent in patient with vomiting prominent. The severity of infection was lower for norovirus than for rotavirus but increased in co-infection.

Key words: rotavirus, norovirus, adenovirus, acut gastroenteritis.

1. GİRİŞ

Gastroenteritler, tüm dünyada, özellikle de çocuklarda morbidite ve mortalitenin majör nedenidir. Gelişmekte olan ülkelerde her yıl yaklaşık 3–5 milyar gastroenterit olgusu ortaya çıkmakta ve yılda 5–10 milyon ölüm olmaktadır (1).

Özellikle rotaviruslar tarafından oluşturulan gastroenteritler gelişmiş ülkeler için de bir sorun teşkil etmektedir. Viral gastroenteritlerin en önemli etkenleri; rotaviruslar, adenoviruslar, astroviruslar, caliciviruslar ve noroviruslardır(1, 2).

Gastroenteritlerin tanısında, diğer yöntemlerde olduğu gibi moleküler yöntemlerde de en sık tercih edilen klinik örnek fekal örneklerdir. Fekal örneklerde RNA stabilitesini araştıran az sayıda çalışma mevcuttur. Gastroenterit etkeni olan çıplak RNA virusları daha problemlidir ve viral partiküller semptomatik hastaların dışkıyla bol miktarda atılmaktadır. Partiküller "intact" (bozulmamış) olduğu sürece viral RNA korunmuş durumdadır, ancak tekrarlayan dondurma ve çözme siklusları viral partikülü bozarak RNA degradasyonuna yol açar. Bu nedenle dışkı örnekleri %10-50'lik tuzlu su içinde süspansiyon edilmeli ve 4°C'de saklanmalıdır. Daha uzun süre saklama veya taşıma süreci gerekiyorsa dondurulmalıdır. Fekal örnekler, ekstraksiyon basamağında özel dikkat gerektiren örneklerdir; zira bu örneklerde RNA saptama duyarlılığı, büyük ölçüde örnekteki inhibitör maddelerin başarıyla uzaklaştırılmasına bağlıdır. Bu bağlamda birçok örnek işleme yöntemleri geliştirilmiştir. Gastroenterit viruslarının kontamine su ve besinlerle bulaşma tabiatı nedeniyle, moleküler klinik tanı yöntemlerinin yanı sıra moleküler çevresel tanı yöntemleri de geliştirilmiştir(1).

Çocukluk çağı ishallerinin büyük kısmından gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde virüsler, az gelişmiş ülkelerde ise bakteriler sorumludur. Gastroenterit etkenlerinin saptanması, hastalığın tedavisi ve prognozunun öngörülmesinde önemlidir. Son yıllarda giderek artan oranda etken saptanabilmektedir. Çocukluk çağı ölümlerinin büyük bir kısmından sorumlu olan akut gastroenteritler içinde virüs infeksiyonları büyük oranda görülmektedir. Gastroenteritin viral etkenlerinin (Rotavirüs, Adenovirüs, astrovirüs, nörovirüs) belirlenebilmesi, özellikle kliniğinin

ağır seyrettiği süt çocuklarında tedavi yaklaşımında yardımcı olup, gereksiz yere antibiyotik kullanımını da engelleyecektir(1, 2).

2.GENEL BİLGİLER

Gastroenterit etkeni olarak virusların önemi 1972 yılında Kapikian ve arkadaşlarının bir gastroenterit salgınına ait dışkı örneklerinde Norwalk virusu keşfetmesiyle başlamıştır. Bu gelişmeyi takiben 1973 yılında Bishop ve arkadaşları yeni doğan ve küçük çocuklarda ciddi diare ile ilişkili 70 nm büyüklüğünde human rotavirusu keşfetmiştir. Bu müşkülpesent ajanlar hücre kültürü teknolojisinin yardımı olmadan sadece elektron mikroskopisi (EM) kullanılarak identifiye edilmiştir. Human Norwalk virusları hala hücre kültüründe üretilmemektedir. Rotavirus dışkıda Flewett ve arkadaşları, Bishop ve arkadaşları ve diğerleri tarafından EM yöntemi ile tespit edilmişti (2). Noroviruslar büyük çocuklar ve erişkinlerde epidemik gastroenteritlerin en önemli sebebidir, fakat yeni doğan ve küçük çocuklarda ciddi gastroenteritlerden sorumlu olan rotavirustan sonra ikinci sırada gelir. Rotavirus yeni doğan ve küçük çocuklarda görülen diarenin en önemli etyolojik ajanıdır ve yaşamın ilk iki yılı boyunca ortalama %35-%50 oranında hastaneye yatışlara sebep olmaktadır (3).

2.1.Rotavirus

2.1.1. Genel Özellikler

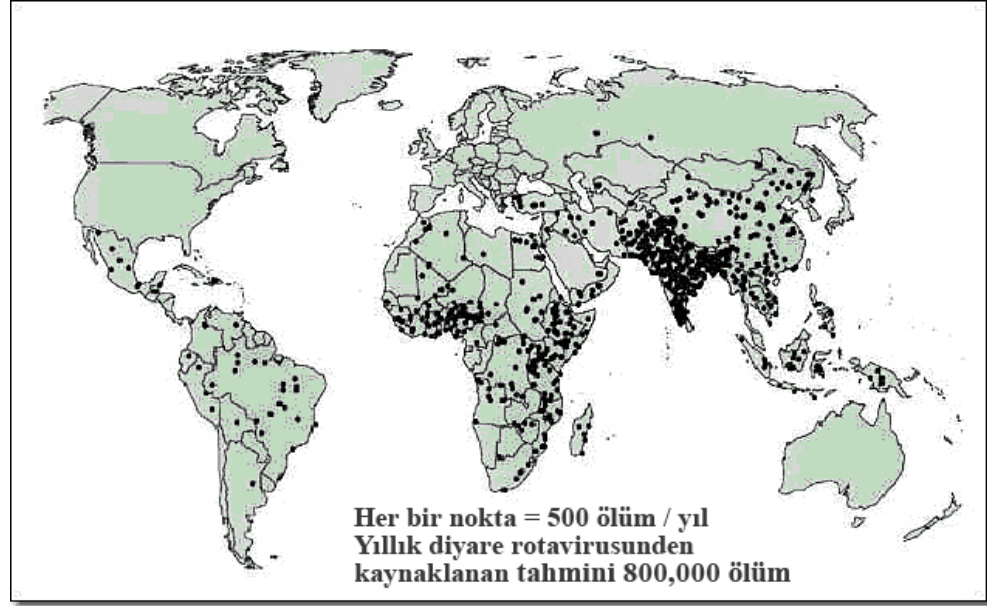
Gastroenterit etkeni olarak virusların önemi 1972 yılında Kapikian ve arkadaşlarının bir gastroenterit salgınına ait dışkı örneklerinde Norwalk virusu keşfetmesiyle başlamıştır. Bu gelişmeyi takiben 1973 yılında Bishop ve arkadaşları yeni doğan ve küçük çocuklarda ciddi diare ile ilişkili 70 nm büyüklüğünde human rotavirusu keşfetmiştir. Bu müşkülpesent ajanlar hücre kültürü teknolojisinin yardımı olmadan sadece elektron mikroskopisi (EM) kullanılarak identifiye edilmiştir. Human Norwalk virusları hala hücre kültüründe üretilmemektedir. Rotavirus dışkıda Flewett ve arkadaşları, Bishop ve arkadaşları ve diğerleri tarafından EM yöntemi ile tespit edilmişti. Noroviruslar büyük çocuklar ve erişkinlerde epidemik

gastroenteritlerin en önemli sebebidir, fakat yeni doğan ve küçük çocuklarda ciddi gastroenteritlerden sorumlu olan rotavirustan sonra ikinci sırada gelir. Rotavirus yeni doğan ve küçük çocuklarda görülen diarenin en önemli etyolojik ajanıdır ve yaşamın ilk iki yılı boyunca ortalama %35-%50 oranında hastaneye yatışlara sebep olmaktadır (1).

Rotavirus 1973 yılında bulunmasına rağmen, 1963 yılında Adams ve Kraft EM yöntemini kullanarak diare salgınında infekte olmuş farelerin barsak dokularında virus benzeri partikülleri tanımlamıştır. Bu partiküller Bishop ve arkadaşlarının çocukların dışkı örneklerinde gözlemedikleri partiküllerle benzer bulunmuştur. Ayrıca Malherbe ve Harwin 1963 yılında SA11(Simian agent 11) olarak adlandırılan 70 nm büyüklüğündeki virusun izolasyonunu tanımlanmıştır. Bu virus, sağlıklı bir maymunun rektal sürüntüsünden elde edilmiş monkey kidney hücre kültüründe üretilmiştir. Mebus ve arkadaşları 1969 yılında diareli bir buzağının dışkısında 70 nm olan virus partiküllerinin bulunduğunu göstermiştir. Mebus ve arkadaşları 1971 yılında ilk olarak fetal bovin hücre kültüründe Nebraska buzağı diare virusun (NCDV; Nebraska calf diarrhea virus) kültürünü başarılı bir şekilde gerçekleştirmiştir. Flewett ve arkadaşları 1974 yılında teker gibi görünüşünden dolayı virusa “rotavirus” ismini vermiştir. Daha sonra fare, sıçan, maymun ve sığır türlerinde ki rotavirusların morfolojilerinin benzer ve diğer rotaviruslar ile bir grup antijenlerinin de benzer olduğu gösterildi. İlerleyen yıllarda daha kolay ve uygun tanısal tekniklerin gelişmesi ile çocukluk çağı ishalinin en yaygın sebebi olarak bilinen rotavirus hakkında önemli bilgiler kaydedilmiştir (2).

Rotavirüs tüm dünyada yeni doğan ve küçük çocuklarda görülen gastroenteritin en yaygın ve tek önemli sebebidir. Rotavirüs infeksiyonları her yıl 1 milyon çocuğun ölümünden sorumludur (Şekil 2.1.1). Rotavirüs infeksiyonu aynı zamanda infantil diare veya kış diarezi olarak da bilinir (3).

Şekil 2.1.1. Çocuklarda gastroenterit etkenlerinin dağılımı.



Beş yaş altı çocuklarda akut ciddi gastroenteritin başlıca sebebi olan rotavirus infeksiyonları hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde benzer insidanda görülür. Ancak sonuçları farklıdır. Gelişmiş ülkelerde mortalite düşük olmasına rağmen morbidite oranı yüksektir ve hospitalizasyon oranları da %20–60 gibi oldukça yüksek olup gelişmekte olan ülkelere benzer bulunmuştur. Rotavirus infeksiyon oranlarının benzer olması kişisel ve toplumsal hijyenin iyileştirilmesi ve sanitasyon uygulamalarının rotavirus infeksiyonunu önlemede çok etkili olmadığını göstermektedir. Bu sebeple rotavirus infeksiyonuna karşı başlıca korunma yöntemi aşılamadır. Günümüzde insan rotavirusuna karşı P1A[8]G1 tipinden oluşan monovalan ve G1, G2, G3, G4 ve P1A[8]’den oluşan pentavalan 2 tip oral canlı attenüe rotavirus aşısının kullanımı ülkemiz dahil çok sayıda ülkede onaylanmıştır. Her iki aşının koruyucu etkinliği ciddi diareye karşı %85–98 arasındadır (4).

Tablo 2.1.2. Türkiye Ulusal Düzeyde ölüme Neden Olan İlk 20 Hastalığın 0 – 14 Yaş Grubunda Cinsiyete Göre % Dağılımı

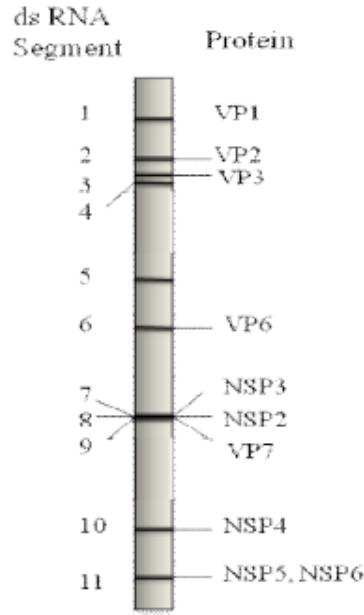
	Toplam	%	Erkekler	%	Kadınlar	%
1	Perinatal Nedenler	37,6	Perinatal Nedenler	37,2	Perinatal Nedenler	38,1
2	Alt Solunum Yolu Enfeksiyonları	14,0	Alt Solunum Yolu Enfeksiyonları	13,7	Alt Solunum Yolu Enfeksiyonları	14,4
3	Konjenital Anomaliler	10,3	Konjenital Anomaliler	10,7	Konjenital Anomaliler	10,0
4	İshalle Seyreden Hastalıklar	8,4	İshalle Seyreden Hastalıklar	8,3	İshalle Seyreden Hastalıklar	8,6

5 yaş altı çocuk ölümlerinin %12.2 si ishal

8	Tüberküloz	1,4	Tüberküloz	1,5	Üst Solunum Yolu Enf.	1,4
9	Üst Solunum Yolu Enf.	1,2	Lösemi	1,3	Protein Enerji Malnütrisyonu	1,3
10	Protein Enerji Malnütrisyonu	1,2	Üst Solunum Yolu Enf.	1,1	Tüberküloz	1,2
11	Lösemi	1,2	Protein Enerji Malnütrisyonu	1,1	Lösemi	1,1
12	Serebrovasküler Hastalıklar	0,9	Serebrovasküler Hastalıklar	1,0	Kişinin kendini yaralaması	1,0
13	Kişinin Kendini Yaralaması	0,7	Lenfoma ve Multiple Myeloma	0,6	Serebrovasküler Hastalıklar	0,8
14	Lenfoma ve Multiple Myeloma	0,5	Kişinin Kendini Yaralaması	0,5	Lenfoma ve Multiple Myeloma	0,5
15	Demir Eksikliği Anemisi	0,4	Boğulmalar	0,4	Yanıklar	0,3
16	Hepatit B	0,3	Demir Eksikliği Anemisi	0,4	Hepatit B	0,3
17	Boğulmalar	0,3	Düşmeler	0,3	Zehirlenmeler	0,3
18	Düşmeler	0,3	Hepatit B	0,3	Demir Eksikliği Anemisi	0,3
19	Yanıklar	0,3	Yanıklar	0,2	Epilepsi	0,3
20	Zehirlenmeler	0,2	Astım	0,2	Düşmeler	0,3

Rotavirüs Reoviridae ailesinin bir üyesidir. Reoviridae familyası Orthoreovirus, Orbivirus, Coltivirus, Aquareovirus, Cypovirus, Fijivirus, Phytoreovirus, Oryzavirus, Seadornavirus, Idnoreovirus ve Mycoreovirus genuslarını da içermektedir. Rotaviridae familyasının üyeleri ortak morfolojik ve biyokimyasal özellikleri paylaşırlar. Rotavirus zarfsız, 70 nm çapında, kapsidi ikosahedral, segmentli çift sarmallı bir RNA virusudur. Elektronmikroskopi ile incelendiğinde tekerleğe benzer görünümünden dolayı Latince tekerlek anlamına gelen “rota” ismi verilmiştir. Rotavirus 11 segmentli, çift zincirli RNA genomu ve 3 tabakalı partikülden (triple-layered particle; TLP) oluşur (Şekil 2.1.3). Bu tabakalar, dış kapsid, iç kapsid ve kordur. İç kapsid VP6 proteininden oluşur ve koru çevreler. Virusun en önemli immunojenik proteini (5).

Karakteristik özelliği kapsidin çift tabakalı oluşudur. Dış kapsid yapı proteinleri VP4 ve VP7'den oluşur. İç kapsid VP6'dan oluşur ve koru çevreler. Koda baskın olarak VP2 bulunur. Kor mRNA sentezi için RNA polimeraz enzimi içerir. Kor, rotavirus genomunu çevreler. Virionların %16'sı nükleik asittir. Lineer çift sarmallı viral RNA 11 segmentten oluşur. Total genom 16500 – 21000 nükleotid uzunluğundadır, 5' ve 3' terminal sıraları korunan bölgelerdir. Rotavirus genomunun her 11 segmenti en az bir viral protein kodlar; 6'sı yapısal, 5'i yapısal olmayan proteinlerdir. RNA genomunun segmentli yapısından dolayı aynı hücrenin iki farklı rotavirus suşu ile koinfeksiyonu reassortant virus oluşumu ile sonuçlanabilir. Böylece RNA parçalarının yer değiştirmesi ile oluşan yeni rotavirusun antijenik yapısı değişir ve önceki antikorlar etkili olmaz(5).



Şekil 2.1.3. Rotavirusun 11 genomik segmentinin poliakrilamidjel elektroforezindeki görünümü

Rotavirus kapsid proteinin antijenik özelliğine göre grup, subgrup ve serotiplere ayrılır. İç kapsid proteini VP6 virusun major antijenik determinantıdır. Non- nötrizan antikor cevabı oluşturur. VP6 virionun %50'sini oluşturur. Rotaviruslar VP6 viral yapı proteinindeki farklılıklara göre A'dan G'ye kadar adlandırılan 7 gruba ve I ve II olmak üzere iki subgruba sınıflandırılır. Grup A, B ve

C insanları ve hayvanları infekte eder, oysa grup D – G sadece hayvanlarda bulunur (5). İnsanlardaki enfeksiyonların çoğuna A grubu rotaviruslar sebep olur. Subgrup II, subgrup I'e göre daha sık görülür. Buna karşılık önemli coğrafik varyasyonlar görülür (1, 2).

Serotip spesifik antijenler dış kapsid proteinleri olan VP4 ve VP7'dir. Hem VP4 hem de VP7 antijenleri nötralizan antikör oluşumunu uyarır. Hücreye bağlanma ve girişten sorumludur. VP7, viral yüzey glikoproteini olduğu için VP7 ile G serotipleri tanınır. VP4 viral spike proteini olup proteaza duyarlıdır. Bu sebeple VP4 ile tanınan serotiplere P serotipleri denir (Tablo 2.1.4) (1).

Tablo 2.1.4. Rotavirus Serotipleri

Gen	VP7	VP4
Serotip	G	P
Serotip sayısı	14	20
En yaygın olanlar	G1, G2, G3, G4	P4, P8
Acil önemi olanlar	G9	P6

Rotavirusların en azından 15 G (G1 – G15) ve 20 P(P1 – P20) serotipi tespit edilmiştir. İnsan enfeksiyonlarının çoğunu G1 – G5 oluşturur. Buna karşılık G8, G9 ve G12 enfeksiyonları da tanınmıştır. Son zamanlarda Brezilya, Malawi, ABD, Fransa, Hindistan, Arjantin, İngiltere ve Avustralya gibi birçok ülkede serotip G9 ortaya çıktığına dair raporlar vardır (1).

Rotaviruslar muhtemelen hücre reseptörleri integrine bağlanır ve enfeksiyonu başlatır. Prodüktif enfeksiyon için dış kapsid yüzey proteinlerinin proteolitik enzimle ayrışması gerekir. Hücre penetrasyon mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Rotavirusun infektivitesi için VP4'ün tripsin etkisiyle VP5 ve VP8'e ayrışması gerekir ve penetrasyon için membran permeabilizasyonu gerçekleşir. VP5 ve VP8 hemaglütinin ve nötralizasyon antijenlerini içerirler (1).

Rotavirusun, poliakrilamid jelde viral RNA'nın elektroforezini takiben 11 genom segmentinin migrasyonundaki farklılıklara dayanarak birçok elektrofenotipi tanınmıştır. Elektrofenotip ve serotipler arasında doğrudan bir ilişki yoktur. Elektrofenotipleme viral bulaşmayı izlemede faydalıdır (1, 2).

Rotavirus oda ısısında aylarca stabildir. Kloroform, eter ve pH 4 – 9 'a dirençlidir (1, 2).

2.1.2Patojenite

Rotavirus son derece bulaşıcıdır, başlıca fekal – oral yolla bulaşır. İnkübasyon periyodu ortalama 2 (1 – 3) gündür. Hastalar belirtilerin başlangıcından 1 gün önce ve 8 – 10 gün sonraya kadar bulaşıcıdır. İmmun sistemi bozuk hastalar virüsü daha uzun süre, 2 – 3 hafta yayar (1).

İnfektivite için dozun 10 partikül kadar az sayıda olması infeksiyonun yayılmasını kolaylaştırır. Yiyecek ve suyun kontaminasyonu bazı salgınlardan sorumlu tutulmuştur. Kontamine eşyalar kreş ve çocuk yuvaları gibi yerlerde virus yayılmasında rol oynayabilir, çünkü rotaviruslar çevre yüzeylerde farklı ısılarda (4 – 20°) ve nemde (%50 – 90) 60 gün kadar canlılığını sürdürülebilir. Rotaviruslar solunum yolu sekresyonlarında tespit edilmesine rağmen solunum yolu ile geçiş kanıtlanmamıştır (1, 3).

Rotavirus başlıca ince barsak villus epitelyumunun olgun enterositlerini infekte eder. Rotavirus enterositlerin sitoplazmasında çoğalır. Villus epitelyumu atrofi olur, mikrovilluslar azalır ve kısılır. Hasarlı hücreler, barsak lümenine dökülür ve fazla miktarda virus açığa çıkar ki bu dışkıda her gramında 10^{10} partikül kadar yüksektir. Virus yayılması sağlıklı kişilerde genellikle 2 – 10 gün sürer, fakat beslenmesi zayıf olanlarda daha uzun sürebilir. Villus fonksiyonlarının normale dönmesi için 3 – 8 hafta gerekebilir. Diarenin oluşma mekanizması tam olarak anlaşılmamıştır. Transport mekanizması bozulur. Laktoz gibi makromoleküllerin intestinal permeabilitesinde azalma vardır, sodyum ve glikoz absorpsiyonu da bozulur. Rotavirus infeksiyonu, enterik otonom sinir sistemini stimüle eder ve

intestinal su ve elektrolit sekresyonunu artırır. Rotavirusun kodladığı proteinlerden biri olan NSP4 viral enterotokssindir ve sekresyonu uyarır. Hayvan modelinde NSP4'ün patojen olduğu gösterilmiştir, NSP4 ve bazı peptidler yeni doğan farelerde diyare yapmaktadır (1-3).

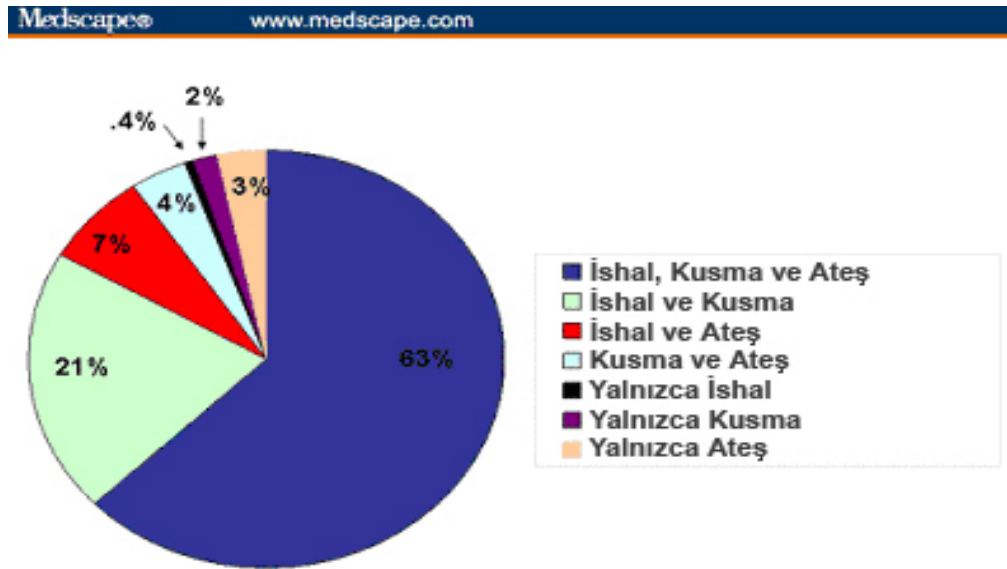
Rotavirus patojenitesini tayin eden faktörler tam olarak anlaşılmamıştır. rotavirusun VP4 proteini hedef hücrelere bağlanmadan sorumludur, proteolitik enzimlerle ayrışması hücreye virusun penetrasyonu için esastır. Yaş gibi konak faktörleri de rotavirus patogenezi etkileyebilir, çünkü belirtiler küçük çocuklarda daha belirgindir. Villus epitelyum hücreleri üzerindeki rotavirus bağlayan reseptörlerin miktarı yaşla azalır, bu hayvan çalışmalarında gösterilmiştir. Buna karşılık yaşla ilgili belirtiler daha çok immunitenin kazanılmasıyla ilişkilidir (1).

Rotavirus serotipine karşı nötralizan homotipik antikorlar sıklıkla infeksiyonun 2 haftası içinde gelişir. Farklı serotiplere karşı heterotipik antikor cevapları da oluşur. Fakat çoğunlukla infekte eden suşlara göre değişir. Örneğin; G2, başlıca homotipik antikorlar oluşturur. Oysa G1, G3 ve G4 homotipik ve heterotipik cevaplar oluşturur. Homotipik antikor cevabı muhtemelen heterotipik antikorlara göre daha uzun sürelidir. Buna karşılık aynı serotiple infeksiyonların ortaya çıktığı gösterilmiştir, ancak primer infeksiyona göre daha az ciddidir. Çocukların 3 yaşına kadar %90'ında bir veya daha fazla rotavirus tipine karşı antikorları vardır ve 4 yaşına kadar bu oran %100'ü bulur. Rotavirus antikor düzeyleri doğumda yüksektir, 3 – 6 aya kadar azalır, 2 – 3 yaşında pik yapar. Rotavirus antikorlarının erişkinlerde de yüksek prevalansta seyretmesi virus ile subklinik infeksiyonların olduğu gösterir. Rotavirus tarafından infeksiyona karşı savunmadan sorumlu immun mekanizmalar hala iyi bilinmemektedir. İnfeksiyona karşı korumada mukozal immunité daha önemli olabilir, hastalıktan 4 hafta sonra gelişir, ilerleyen yaşla azalır. Anne sütüyle veya oral yolla verilen immunglobülinlerle pasif olarak kazanılan mukozal immunité yüksek riskteki kişilerde koruma sağlar. Hücresel aracılı immunité de önemli gözükmemektedir. Protein NSP4'ün hücresel yolla immun cevap oluşturduğu gösterilmiştir (1).

2.1.3 Hastalık

Çocuklarda rotavirus infeksiyonlarının klinik spektrumu asemptomatik infeksiyondan dehidratasyon ile seyreden ciddi diyare ve ölüme kadar değişir. İnkübasyon periyodu 1 – 4 gündür. Hastalık hafif ateş (60 – 65) ve kusma (%60 – 70) ile başlar. Genellikle 1 – 3 gün süren kusmayı ani başlayan sulu diyare izler. Sulu diyare 5 – 8 gün sürer. Ateş genellikle 38,5 – 39,5°dir, fakat önemli dehidratasyon varsa daha yüksek olabilir. Abdominal ağrı da görülebilir. Hastalık kendi kendini sınırlar, normalde topla süresi 3 – 8 gündür (Şekil 2.1.3.1) (1).

Şekil 2.1.3.1. Hastaneye rotavirus gastroenteriti için yatırılan çocuklarda Klinik semptomlar.



Maternal antikorun koruyucu etkisinden dolayı 6 aydan küçük yeni doğanlarda infeksiyonlar sıklıkla asemptomatiktir, vakaların %10 – 20'sinde semptomatiktir ve genellikle hafiftir. Ancak prematüre bebeklerde ciddi infeksiyonlar görülebilir. Erişkinlerde rotavirus infeksiyonu çoğunlukla hafif veya asemptomatiktir, serokonversiyon gösterilmiştir (1–3).

2.1.4 Tanı

Hastalığın ilk 3 – 5 günde toplanan dışkı seçilen örnektir. Semptomların başlangıcından 8 gün sonra toplanan örnekler nadiren virus içerir. Dışkı örneklerinde virus partikülleri elektronmikroskopi ve immunelektromikroskopi kullanılarak gösterilebilir, ancak bu teknikler rutin kullanılmaz. Grup A rotavirus önceden proteolitik enzim tripsin ile muamele edilirse veya besiyerine düşük düzeyde tripsin ilave edilirse hücre kültüründe üretilebilir, ancak daha çok araştırma amacıyla bazı merkezlerde yapılmaktadır. Virus izolasyonu için en sık kullanılan hücreler maymun böbrek hücre dizisi MA104 ve insan kolon karsinoma hücre dizisi CaCo-2'dir. Sitopatik etki minimaldir. İnfekte hücrelerde rotaviral antijenlerin tespiti için immunofloresan testi ve serotipi belirlemede nötralizasyon testi kullanılır (1–3).

Serolojik testler, özellikle ELISA ve lateks aglütinasyon testi antikor titre artışının tespiti için kullanılabilir, fakat her zaman klinik olarak faydalı değildir (1).

Dışkı örneklerinde rotavirus antijenlerinin tespiti için ELISA ve lateks aglütinasyon kitleri ticari olarak mevcuttur. Oldukça ucuz, yüksek sensitivite ve spesifite ile %70 – 100 hızlı tanıya imkan verir. Buna karşılık ticari testler ile yeni doğan ve erken çocukluk döneminde gastroenteritin en yaygın sebebi olan sadece grup A rotavirusları tespit edilir. Yeni doğanlar ve anne sütü ile beslenen çocuklarda yalancı pozitif sonuçlar alınabilir. B ve c grubu rotaviruslar VP6 antijenlerine karşı grup spesifik antikorların kullanıldığı IFA ve ELISA ile birbirinden ayrılabilir. Ayrıca özellikle G1 – G4 monoklonal antikorların kullanıldığı ELISA ile serotipleme yapılabilir. Testin performansını optimize etmek için örnekler semptomatik dönemde alınmalıdır. Örnekler hemen çalışılmayacaksa 4°C' de tutulabilir veya dondurulabilir (1).

Rotavirus – spesifik cDNA problemleri ile nükleik asit hibridizasyon testleri ve grup A rotaviruslar için oligonükleotid microarray hibridizasyon testleri genotipleme için kullanılır. Nükleik asit hibridizasyon ve RT-PCR antijen tespit metodlarına göre daha duyarlıdır. Çevre ve yiyecek analizi için çoğunlukla RT-PCR kullanılır (1).

Elektrofenotipleme ile dışkı örneklerindeki RNA izolatlarının poliakrilamid jel elektroforezinde karakteristik göç paterni tespit edilerek nongrup A

rotavirüsleri, grup A rotavirüslerinden ayırt edilebilir. Sensitivitesi %90'dan fazla ve spesifitesi %100'dür (1).

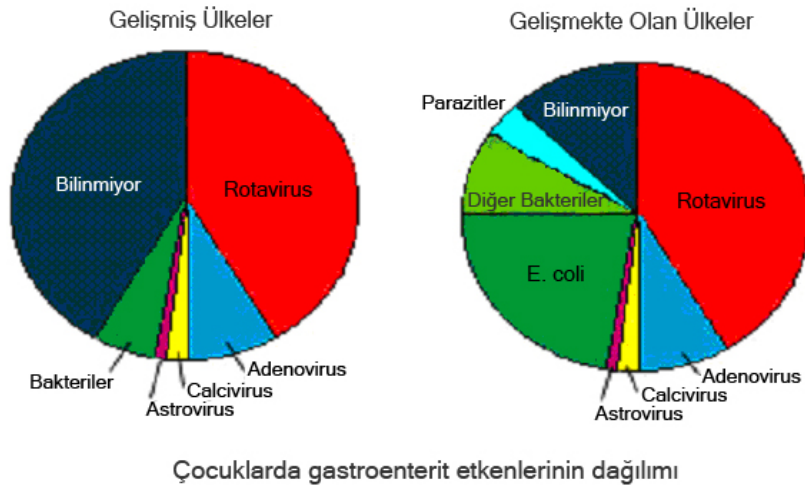
2.1.5 Epidemiyoloji

Grup A rotavirüs bütün dünyada endemiktir. Rotavirüs 5 yaşın altındaki çocuklarda ciddi gastroenteritin başlıca sebebidir (Şekil 2.1.5.1). Dünyada her yıl rotavirüsün sebep olduğu 140 milyon diyare vakası görülür ve 1 milyonu ölümlerle sonuçlanır. Rotavirüs, viral gastroenterit vakalarının %50 – 80'ine neden olur. Genellikle endemiktir, fakat nadiren salgınlardan sorumlu olabilir. Hastaneye yatırılması gereken gastroenterit vakalarının %20 – 60'ından rotavirüsün sorumlu olduğu gösterilmiştir. Rotavirüsler nazokomial infeksiyonların çok önemli bir sebebidir (1–3).

Rotavirüs infeksiyonunu ılıman iklimlerde tipik olarak kış mevsiminde diyare salgınına sebep olur. Oysa tropikal bölgelerde rotavirüs diyaresi bütün yıl boyunca endemiktir (1).

Rotavirüs diyaresi başlıca yeni doğan ve küçük çocuklarda 6 – 24 aylarında pik insidans yapar. Yaşlıların bulunduğu bakım evlerinde de salgınlara bildirilmiştir. Rotavirüsler seyahat diyaresi vakalarının %20 kadarında tespit edilebilir (1).

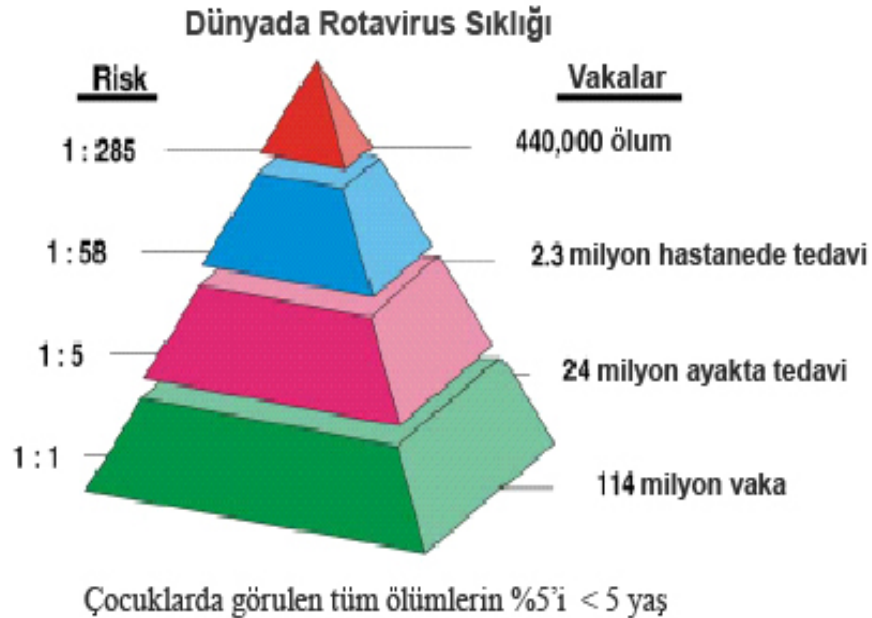
Şekil 2.1.5.1.Çocuklarda gastroenterit etkenlerinin dağılımı.



Sadece rotavirus grup A, B ve C insanlarda hastalık yapar. Çocuklarda rotavirus infeksiyonlarının çoğuna grup A rotavirus sebep olur. Grup A serotip G1 suşları hastalıktan en çok sorumlu olandır. G2, G3, G4 ve diğerleri de oldukça sık görülür. İnsan grup B rotavirusun aynı zamanda “adult diarrhea rotavirus; ADRV” de denir. ADRV isminden anlaşıldığı gibi en çok erişkinlerde hastalık yapar, yeni doğan ve çocuklarda semptomatik infeksiyonlarda nadiren tespit edilir. Grup B rotavirus, 1982’de Çin’de erişkinlerde su orjinli ciddi diyare salgınları ile ilişkilidir. Seroepidemiolojik çalışmalar ABD’de popülasyonun %5’inin seropozitif olduğunu göstermiştir. Grup B rotavirus hücrelerde sinsiitya veya füzyon oluşturan tek rotavirustur (1–3).

Grup C rotavirus, başlıca yiyecek orjinli çocukluk çağı diyaresi ile ilişkilidir. Grup C rotavirus diyare salgınları Asya, Brezilya ve Avrupa’da ortaya çıkmıştır. Grup C rotavirus salgınları ABD, Japonya ve İngiltere’de %1 – 6,8 sıklıkta gözlenmiştir (Şekil 2.1.5.2.) (1).

Şekil 2.1.5.2. Dünyada Rotavirus sıklığı.



Grup D, E, F ve G rotavirus infeksiyonları insanlarda gastroenterit ile ilişkili değildir (1–3).

Rotavirusun geniş konak dağılımı vardır. İzolatların çoğu yeni doğan hayvanlarda diyareye sebep olmaktadır. Deneysel inokülasyonlarla türler arası infeksiyonlar olabilir, fakat doğada olup olmadığı açık değildir. Grup A rotavirusları hemen hemen bütün hayvanları; balinalardan yılana kadar, inekten domuza kadar infekte eder. Sığır ve domuz grup B ve C rotavirusları tespit edilmiştir. Bu durum influenzaya benzer şekilde genetik shift için potansiyel sağlar (1–3).

2.1.6 Korunma

Rotaviruslar, gelişmekte olan ülkelerde olduğu gibi gelişmiş ülkelerde de 5 yaş altı çocuklarda görülen akut infeksiyöz ishallerin en önde gelen sebebidir. Rotavirus gastroenteriti sebebiyle dünya genelinde her yıl yaklaşık 25 milyon çocuk kliniklere başvurmakta ve 2 milyon çocuk rotavirus gastroenteriti sebebiyle hospitalize edilmektedir. Üstelik uygun rehidratasyon tedavilerinin yapılması ve tedaviye erken başlanması çabalarına rağmen 34 rotavirus hospitalizasyon oranları geçen 15 yılda çok azalmamıştır. Bu ağır hastalık yükü sebebiyle rotavirus gastroenteritinden korunma gereksinimi vardır. Akut gastroenteritlerden korunmada, anne sütü, el yıkama ve oyuncakların dezenfeksiyonu gibi önlemlerin yeri yatsınamaz. Ancak, bakteriyel gastroenteritlerden korunmada önemli olan kişisel ve toplumsal hijyen kuralları, rotavirus infeksiyonlarının önlenmesinde çok etkili değildir. Demokratik virus olarak da tanımlanan rotavirusların sebep olduğu gastroenteritler, hijyen koşullarından bağımsız olarak, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde benzer sıklıkta görülür. Bu sebeple rotavirus ishalinin önlenmesinde tek yöntem rotavirusa karşı aşılama (7).

Rotavirus aşısından beklenen doğal rotavirus infeksiyonuna benzer immunité oluşturarak, orta/ciddi infeksiyona karşı koruması, hastane yatışları, ölümleri önlemesi, morbidite ve ekonomik kayıpları azaltması ve hastalığın süre ve ciddiyetini hafifletmesidir. İlk rotavirus aşısı çalışmalarında değişik hayvan rotavirusları attenüé

edilmiştir. İnsanda kullanılan hayvan kökenli ilk rotavirus aşısı “bovine Nebraska calf diarrhea virus” (P6[1]G6) suşu ile çalışmalar 1971 yılında başlatılmıştır⁸⁸. İlk olarak canlı oral rotavirus aşısı olan RIT 4237 bovine rotavirus aşısı ile hayvan çalışmaları daha sonra 1982 yıllarından itibaren ise insan çalışmaları başlatılmıştır. Ancak, hayvan orjinli olan RIT 4237 aşısı beklenen etkiyi göstermediğinden 1986 yılında üretimi durdurulmuştur. Daha sonraki yıllarda aşı çalışmaları, RIT 4237’ye göre daha fazla pasajın yapıldığı, bu sebeple daha immunojen olacağı düşünülen WC-3 bovine rotavirus aşısı ile sürdürülmüştür (8).

Hayvan orjinli aşılarla ilgili başarısız deneyimlerin ardından reassortant aşı çalışmaları başlatılmıştır. Serotipik olarak birbirinden ayrı dört VP7 komponentini içeren bir insan-simian reassortant rotavirus aşısı (RotaShield) 1990’ larda geliştirilmiş olup Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Venezuela’da küçük çocuklarda şiddetli rotavirus diareisini önlemede güvenli ve etkili olduğu gösterilmiştir. Rotavirusa karşı ilk canlı oral reassortant aşı olan Rotashield rhesus rotavirus tetraavalan vaccine (RRV-TV) insanlarda en yaygın görülen 4 rotavirus G tipinden (G1-G4) oluşur (9).

Rotashield (Wyeth Laboratories; ABD), bir rhesus maymun rotavirusu ve üç rhesus maymun-insan reassortant rotavirusdan oluşan tetraavalan bir aşıdır. Rhesus rotavirusu attenuasyonu sağlamaktadır. Rhesus rotavirusu G3 spesifitesi taşır, üç rhesus-human reassortant rotavirusdan her biri ise G1, G2 veya G4 genlerinden her birini taşır. ABD’de FDA 31 Ağustos 1998’de canlı oral RRV-TV aşısının yeni doğanlarda 3 doz halinde kullanılmasını onaylamıştır. Klinik çalışmalar aşının hastaların %48-68’inde yeni rotavirus infeksiyonunu önlediğini ve ciddi diareye karşı ise %64-91’inde koruyucu etkisi olduğunu göstermiştir. İmmünizasyon 2. 4. ve 6. aylarda önerilmiş olup iki aşı arasında en fazla 3 hafta 35 süre olmalıdır. Diğer çocukluk çağı aşıları ile aynı zamanda verilmiş ve lisans almasından sonra yaklaşık 600.000 bebeğe 1,2 milyon doz aşı uygulanmıştır. Ancak aşılanan çocuklarda barsak tıkanması vakalarının bildirilmesinden sonra Temmuz 1999’da aşı geri çekilmiştir (10).

Aşıya bağlı yan etki 15 vakada bildirilmiş ve 12'si aşı verilmesinden sonraki 1 haftada ortaya çıkmıştır. Daha sonra yapılan çalışmalar aşılamaı izleyen ilk 1-2 haftada gelişen barsak tıkanması ilişkisini doğrulamıştır (10).

Rotashield aşısının geri çekilmesi yeni aşı geliştirme çabalarını artırmıştır. Birçok rotavirus aşı adaylarının klinik denemeleri yapılmaktadır ve birkaçı yeni doğanların aşılannması için onaylanmıştır. Son zamanlarda lisans almış iki yeni rotavirus aşısı RIX4414 suşundan hazırlanan monovalan Human Rotavirus Aşısı (HRV) olan Rotarix (GlaxoSmithKline Biologicals, Belçika) ve Pentavalan Human-Bovine Reassortant Rotavirus Aşısı (PRV) olan RotaTeq farklı yaklaşımlar kullanılarak dizayn edilmiştir. Her iki aşı içinde güvenlikle ilgili durumları belirlemek için büyük faz III klinik çalışmalar yapılmış, her bir çalışmaya 60.000'den fazla infant dahil edilmiştir. Her iki aşının da güvenilir olduğu ve barsak tıkanması ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir ve herhangi bir rotavirus diareesine karşı %70, şiddetli rotavirus diareesine karşı ise %90 koruma sağladığı gösterilmiştir (11).

Rotavirus aşıları, hastane yatışlarını (%96), acil servis başvurularını (%93), iş gücü kayıplarını (%87) azaltır (12).

2.1.7 Denenen Aşılar

Rotavirusa karşı aşı geliştirmek için yapılan ilk çalışmalar Jennerian bir yaklaşımla başlamış, yani değişik hayvan rotavirusları attenüe edilmiştir. Bunun en önemli nedeni insan rotaviruslarının hücre kültürlerinde üretilmesinin güçlüğüdür. Bu amaçla iki sığır ve bir maymun rotavirusu çok sayıda çalışmada denenmiştir (13).

2.1.7.1 Sığır Rotavirus Aşıları (NCDV (Nebraska Calf Diarrhea Virus))

İnsanlarda ilk denenen rotavirus aşısı veterinerlikte geliştirilen NCDV

suşudur. Virus ilk olarak ishalleri bir dananın dışkılarından izole edilmiş ve sığır hücre kültürlerinde 200 kez pasajlanarak attenüe edilmiştir. Bu aşı yeni doğmuş danalarda yapılan serokonversiyon çalışmalarında ümit verici sonuçlar vermişse de, saha çalışmalarında beklenen etki elde edilememiştir. İnsanlarda yapılan çalışmalarda da yeterli etkinlik gösterilemeyince, virus sığır hücreleri yerine, antijenik olarak insan hücrelerine daha çok benzeyen *Cereophiteeus* maymununun böbrek hücrelerinde pasajlanmış ve elde edilen suşa RIT 4237 adı verilmiştir. Finlandiya’da yapılan bir çalışmada aşının rotavirus gastroenteritini önlemede % 50 etkili olduğu gösterilmiş, ancak infeksiyonun şiddetini azaltmadaki etkisi % 88 olarak bulunmuştur. Daha sonra Finlandiya ve A.B.D.’ndeki çalışmalarda da ümit verici sonuçlar alınmış, ancak gelişmekte olan ve geri kalmış ülkelerde yapılan araştırmalar bu sonuçları desteklememiştir (13).

2.1.7.2. WC3 Aşısı

Bu aşı Pennsylvania’da ishalleri bir dananın dışkılarından izole edilen bir sığır rotavirusunun CV I hücre kültüründe 12 kez pasajlanması ile elde edilmiştir. WC3 suşu NCDV’den antijenik fenotip, RNA elektrofenotip ve primat eritrositlerinde hemaglutinasyon yapmaması yönleriyle farklılık gösterir. İnfantlarda yapılan çalışmalarda yan etki gözlenmemiş, ancak NCDV gibi, bu aşıda da, dışkıdan virus atılımı düşük bulunmuştur. WC3 suşuna karşı % 90 homotipik antikor cevabı yanında, insan serotip 3 rotavirusuna karşı da % 50 heterotipik antikor cevabı gözlenmiştir⁽²⁾. Ancak her iki aşıda da en sık rastlanan serotip olan serotip 1 insan rotavirusuna karşı antikor cevabı meydana gelmemiştir. A.B.D.’nde yapılan araştırmalarda infeksiyonun ağırlığını azaltmada % 80’in üzerinde etkili olarak bulunan bu aşı da, gelişmekte olan ülkelerde etkili olmamıştır. Bunun nedeni bu ülkelerde bakteriyel ishallerin daha sık olması veya serotip farklılığı olabilir (13).

2.1.7.3. Maymun rotavirus aşısı

Hayvan orijinli aşılarından üçüncüsü, ishalleri bir maymunun dışkılarından izole edilen *Rhesus* rotavirusunun FRhL-2 hücre kültüründe 16 kez pasajlanması ile

geliştirilen *Rhesus* rotavirus aşısı (RRV)'dir. *Rhesus* rotavirusunun nötralizan antijen fenotipi serotip 3 insan rotavirusu ile aynıdır. İnsanda ishale yol açmayan bu virus dışkıdan % 50 oranında atılır. Sığır rotaviruslarından farklı olarak, bu aşı ile insanlarda % 90 serum antikor cevabı elde edilmiştir. Bu cevap daha çok serotip 3'e karşıdır, ancak heterolog antikor cevabı da ortaya çıkmaktadır. A.B.D. ve Finlandiya'da yapılan çalışmalarda yüksek oranda serolojik ve klinik koruyuculuk saptanması nedeniyle ortaya çıkan iyimser hava, gelişmekte olan ülkelerde elde edilen negatif sonuçlar nedeniyle yerini hayal kırıklığına bırakmıştır (13).

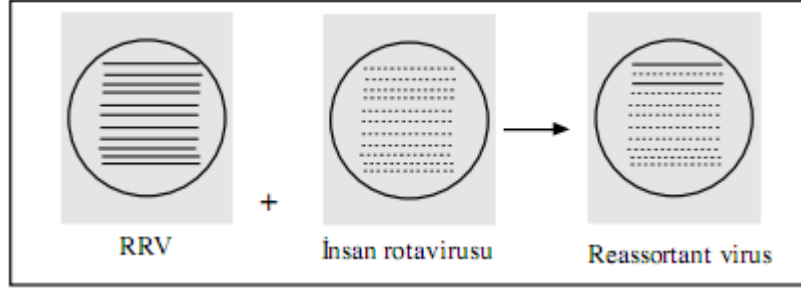
2.1.7.4. İnsan rotavirus aşısı (M37)

M37 insan rotavirus suşu Venezüella'da asemptomatik bir bebeğin dışkılarından izole edilmiş ve hücre kültürlerinde kısmen yeterli üreme gösteren bu suşun insan serotip 1 rotavirusu ile vp.7, diğer insan suşları ile de vp.4 antijenik benzerliği olması nedeniyle hayvan rotaviruslarından daha iyi koruyuculuk sağlayacağı ümit edilmiştir. Ancak Venezüella ve Finlandiya'da yapılan çalışmalar bu aşının da beklenildiği kadar etkili olmadığını göstermiştir (13).

2.1.7.5. Monotipik reassortant aşılarda

Hayvan rotaviruslarından geliştirilen aşılarda beklenildiği kadar heterotipik, insan rotaviruslarına karşı antikor cevabı elde edilemeyince, aşılarda insan rotaviruslarının kullanılması gerektiği konusunda fikir birliğine varılmıştır. Ancak insan rotaviruslarının hücre kültürlerinde kolay üretilmemesi, bu konuda en önemli problem olmuştur. Bu problemi halledebilmek için rotavirusların kültür ortamında birbirlerinden rastgele gen transferi yapabilme özelliği kullanılmıştır. Farklı rotaviruslar aynı kültür ortamında çoğalırken, birbirlerinden gen değişimi yapmakta ve ortaya her iki virustan da farklı, yeni bir "reassortant" virus çıkmaktadır. İlk olarak serotip 3 RRV ile serotip I insan rotavirusu çaprazlanarak, yeni bir reassortant virus elde edilmiştir. Bu yeni virus hem serotip 1 insan rotavirusunun antijenik özelliklerini taşımaktadır, hem de RRV'nin hücre kültürlerinde kolay üreyebilme özelliklerine sahiptir (13).

Şekil 2.1.7.5.1. İnsan – maymun reassortant virusunun geliştirilmesi



Bu aşı ile yapılan ilk çalışmada, serotip 3 RRV aşısı ile reassortant aşı (DxRRV, serotip 1) karşılaştırılmış, 3 rotavirus sezonu boyunca korunma RRV aşısı ile % 65, DxRRV ile % 78 olarak bulunmuştur(13).

Kısa bir süre sonra geliştirilen DxRRV serotip 2 aşısı Finlandiya’da yapılan bir çalışmada DxRRV serotip 1 aşısı ile karşılaştırılmış, serotip 2 reassortant aşıya klinik cevap daha iyi olarak bulunmuştur. Ancak bu farklılığın toplumda daha yaygın olarak bulunan serotip 1’e karşı antikorların anneden plasenta veya anne sütü ile geçip bebekteki aşı cevabını inhibe etmesine bağlı olma olasılığı yüksektir. Daha sonra Peru’da yapılan bir araştırmada da her iki reassortant aşının da rotavirus gastroenteritini önlemede etkili olmadığı bulunmuştur. Bu çalışmalar homotipik cevap ile heterotipik cevaptan hangisinin korunmada daha önemli olduğu sorusunu gündeme getirmiştir. Aşıların etkisi konusunda çelişkili sonuçlar bulunmasına rağmen, yine de homotipik cevabın daha önemli olduğu konusunda yaygın bir düşünce mevcuttur (13).

2.1.7.6. Tetravalan Aşılar

Monotipik aşılarla yeterli homotipik antikor cevabının elde edilememesi üzerine; serotip 1, serotip 2 ve serotip 4 reassortant insan rotavirus suşları ve tip 3 RRV kombine edilmiş ve elde edilen tetravalan aşı klinik çalışmalarda denenmiştir. A.B.D.’nde 23 eyalette yapılan geniş bir çalışmada 4 serotipe karşıda % 70 civarında serokonversiyon elde edilmiştir. Peru’da yapılan araştırmada ise, tek

dozla % 59 olan serokonversiyonun 2, 3 ve 4. aylarda uygulanan 3 dozla % 75'e yükseldiği gösterilmiştir. Ancak serotip 4'e karşı immünolojik cevap A.B.D. araştırmasına göre düşük bulunmuştur. Gelişmiş ülkelerde elde edilen bu sonuçlardan sonra tetra valan aşı geliştirmekte olan ülkelerde de denenmiş, ancak Myanmar ve Bangui araştırmalarında monotipik aşılar olduğu gibi, beklenildiği kadar etkili bulunmamıştır. Bizim yaptığımız bir çalışmada ise, gelişmiş ülkelere benzer şekilde, % 66 oranında immünolojik cevap elde edilmiştir. Ancak immünolojik sonuçların her zaman klinik korumayı yansıtmaması nedeniyle, elde edilen sonuçların ne oranda kliniğe yansıtılabileceği tartışmalıdır. Caracas'da yapılan bir çalışmada, yüksek doz (10^5 cfu) virus verilmesi ile daha iyi sonuçlar elde edilmesi üzerine, yüksek doz aşı A.B.D.'nde hazırlanıp, FDA onayına sunulmuş ve sonuçta ruhsat alarak, bu ülkede rutin uygulamaya girmiştir. Ancak rutin aşı uygulamasının henüz bir yılı dolmadan, aşılı çocuklarda invazyon olgularının arttığı gözlenmesi sonucu aşının uygulanması bütün dünyada durdurulmuştur⁽¹³⁾.

2.1.7.7. Yeni aşı yaklaşımları

VP7 spesifik serotiplerle yapılan araştırmaların yanında, A.B.D.'nde bir grup vp. 4 spesifik serotiplerin etkinliği üzerinde çalışmaktadır. Bu amaçla rotavirusların sınıflandırılmasında da değişiklikler yapılmaktadır. Diğer bir yeni yaklaşım da, subunit aşılarıdır; ancak maliyetin yüksekliği bu aşıların uygulamaya girmesini engelleyen en önemli faktördür. Bu arada yeni virus suşları ile hazırlanan iki yeni aşı (birisi monovalan G1 aşısı, diğeri 4 valanlı aşı)'dan dan tekli olanı Avrupa Birliği otoritesinden (EMA), çoklu olanı ise FDA'den onay almıştır. Her iki aşının ruhsat aldığı ülke sayısı 30'u geçmiştir, ülkemizde de ruhsat aşamasındadır.

Tablo 2.1.7.7.1 Canlı, attenüe Oral Rotavirus aşılara bir bakış.

	<i>RotaShield</i>	<i>RotaTeq</i>	<i>Rotarix</i>
Üretici	Wyeth	Merck	GlaxoSmithKline
İçerik	Tetavalent rhesus-insan reassortant	Pentavalent insan-sığır reassortant	Monovalent insan RIX4414 suşu
VP7 genlerinin açılımı	G1, G2, G3, G4	G1, G2, G3, G4	G1
VP4 genlerinin açılımı	-----	P8	P8
Tüm episodlara karşı etkisi	% 48–66	% 75	% 72
Şiddetli hastalığa karşı etkisi	%75 – 100	% 100	% 85
Lisans Durumları	Lisanslı fakat çekildi	Faz 3 çalışması tamamlandı	Meksika’da Lisanslı; diğer yerlerde faz 3 çalışma aşamasında

2.2 Norovirusler

Noroviruslar daha önceleri “Norwalk-like viruslar” olarak bilinen ve çanağa benzer görüntüsü ile caliciviruslar olarak adlandırılan bir virus ailesinin üyeleridir. Bu virusla oluşan enfeksiyon, dünya çapında yaygın sporadik viral gastroenterit tablosudur. Norovirus, mide ve bağırsakları etkileyerek gastroenterit ya da “mide gribi” olarak adlandırılan hastalığa yol açar. Norovirusların gastrointestinal hastalıklara sebep olabilecek bakteri ve parazitlerle de ilişkisi yoktur. Genetik

materyal etrafındaki protein yapı gerçek anlamda mavi bir top görünümündedir. Virus dış yapısındaki uzantılarla konak ince bağırsak hücrelerini enfekte eder, genetik materyal hücre içine transfer olur. Orada replike olur, sonunda konak hücrelerini de parçalayarak oluşan binlerce yeni virus, etrafa saçılır (14).

Calicivirus ailesi salgın yaptıkları yerlere göre isimlendirilen birçok virus içerir. Bunlardan ilki olan Norwalk virus, 1968 yılında Norwalk, Ohio’da okul çocuklarında görülen salgının nedeni olmuş ve ismini salgın kentinden almıştır. Bu salgındaki prototip virus bundan 4 yıl sonra 1972’de insanlarda viral gastroenterit etkeni olarak tanımlanmıştır. Sonraki farklı yerlerdeki salgınlarda da etkenler; Montgomery County, Snow Mountain, Mexico, Hawaii, Parmatta, Taunton ve Toronto virusları olarak isimlendirilmiştir. Toronto’da çocuklarda oluşan büyük salgın sonrasında, 1977’de yayınlanan bir makale ile bu virusun çocuklarda ikinci en önemli viral gastroenterit nedeni olduğu vurgulanmıştır (14).

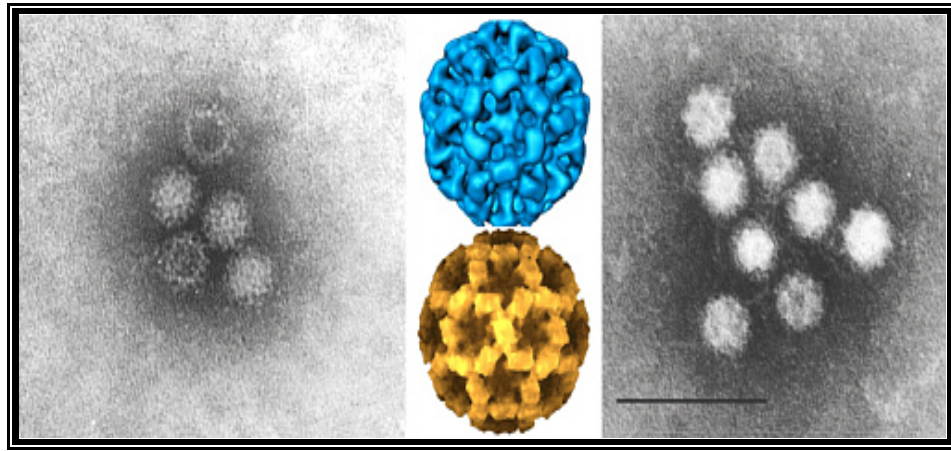
Daha sonra nomenklatördeki bu karışıklığa bir son verilerek, ilk salgın yaptığı yerin ismi ile “Norwalk-like virus” olarak anılmış, sonraları daha da basitleştirilerek günümüzde de kullanılan norovirus ismi kabul görmüştür (14).

2.2.1 Virolojik özellikler

Caliciviridae ailesinde insanlarda gastroenterite neden olan iki genus Norwalk-like viruslar (NLV) ve Sapporo-like viruslar (SLV) bulunur. Norwalk virus, insanlarda gastroenterit sebebi olarak tanınan ilk virustur. Daha sonraları Caliciviridae ailesinin diğer üyeleri tanınmış ve bu ailenin üyeleri NLV, “Small Round-Structured Viruses” (SRSV) veya salgının olduğu yere göre verilen isimlerle tanımlanmıştır. Yakın zamanlarda NLV grubu Norovirus ve SLV grubu Sapovirus olarak isimlendirilmiştir (14).

Norovirus, yaklaşık 27 nm büyüklüğünde bir RNA virusudur. Kapsidi ikosahedral yapıdadır. Virusun yüzeyinde 32 adet kupa şeklinde çöküntüler bulunur (Şekil 2.2.1.). Norovirus genomu pozitif polariteli tek sarmallı RNA’dır ve 7,6 kb uzunluğundadır. Ayrıca 3 ORF’ları (Open Reading Frame) vardır (14).

ORF1; RNA bağımlı RNA polimeraz ve helikaz gibi yapısal olmayan proteinleri kodlar. ORF2; major kapsid proteini (VP1); ORF3 ise minor kapsid proteinini (VP2) kodlar. Norovirus ve sapoviruslar çok fazla genetik varyasyonlar gösterirler. Genetik farklılıklara en çok viral RNA rekombinasyonları neden olur. Ayrıca virusun RNA bağımlı RNA polimeraz enziminin RNA sentezi sırasında mutasyona eğilimli olması da bu farklılıkların meydana gelmesinde rol oynar ve böylece yeni suşlar ortaya çıkar (14).



Şekil 2.2.1. Norwalk virus (soldan ve ortada) ve tam spesifik olmayan calisivirus(sağda), bar = 100 nm.

Norovirus;

Pozitif polariteli tek sarmallı RNA; Yaklaşık 7,6 kb uzunluğunda ve segmentsiz

Genomda 3 ORF bulunur.

ORF 1: RNA bağımlı RNA polimeraz ve helikaz gibi nonstrüktürel proteinleri

ORF 2: Strüktürel proteinleri

ORF 3: Fonksiyonu bilinmeyen küçük bir proteini kodlar (14).

Noroviruslar, GI, GII, GIII, GIV ve GV olmak üzere 5 genogruba ayrılırlar. Ayrıca bu genogrular, major kapsid proteinini kodlayan gen sırasının analizine göre en az 30 genetik küme (cluster) ayrılır (Tablo 2.2.1.) (14).

Tablo 2.2.1. Norovirus Genogruları.

Norovirus Genogruları				
GI	GII	GIII	GIV	GV
GI.1, GI.2, GI.3, GI.4, GI.5, GI.6, GI.7, GI.8	GII.1, GII.2, GII.3, GII.4, GII.5, GII.6, GII.7, GII.8, GII.9, GII.10, GII.11, GII.12, GII.13, GII.14, GII.15, GII.16, GII.17	GIII.1, GIII.2	GIV.1	GV.1

Norovirus suşları, her genetik kümenin prototip virusları ile kıyaslanarak sınıflandırılır. Bir genetik kümenin norovirus suşları, referans suş olan prototip virusun VP1 bölgesine ait aminoasit sırası ile en az %80 benzerlik gösterir. İnsanları enfekte eden sadece GI, GII ve GIV genogrularıdır. Genogrup II, norovirus gastroenteritlerinin %90'ından sorumludur, bunu GI izler. Genogrup IV insanlarda oldukça nadir bulunur ve önemi tam olarak bilinmemektedir. Genogrup III sığırlar ve domuzları ve GIV fareleri enfekte eder (14).

Global olarak en yaygın norovirus suşları GI.4'te bulunan genotip 4 veya Lordsdale suşlarıdır. Avrupa ve Amerika'da 2002 yılında artan salgınlardan GII.4 suşları sorumlu bulunmuştur. İlginç olan; Amerika'da 1995 ve 1996 yıllarındaki salgınlarda da aynı suşun saptanmasıdır (14).

2.2.2 Bulaşma

Bulaşma, temelde fekal oral yolla olmaktadır. Virus çok bulaşıcıdır ve 100 virus partikülü bulaşma için yeterlidir. Bulaşma direkt kişiden kişiye ve indirekt fekal kontamine su ve gıdalarla olmaktadır. Norovirus aynı zamanda virus ile kontamine yüzeylerle de yayılmaktadır. Virus dondurulmaya karşı dayanıklıdır ve 60 C'de kadar ısıda da yaşamını sürdürebilir. Enfekte bireylerin dışkı ve kusmukları ile etrafa saçtıkları viruslar ya da kontamine yüzeylerle temas sonrasında sağlıklı bireylere virus kolaylıkla bulaşabilir (14).

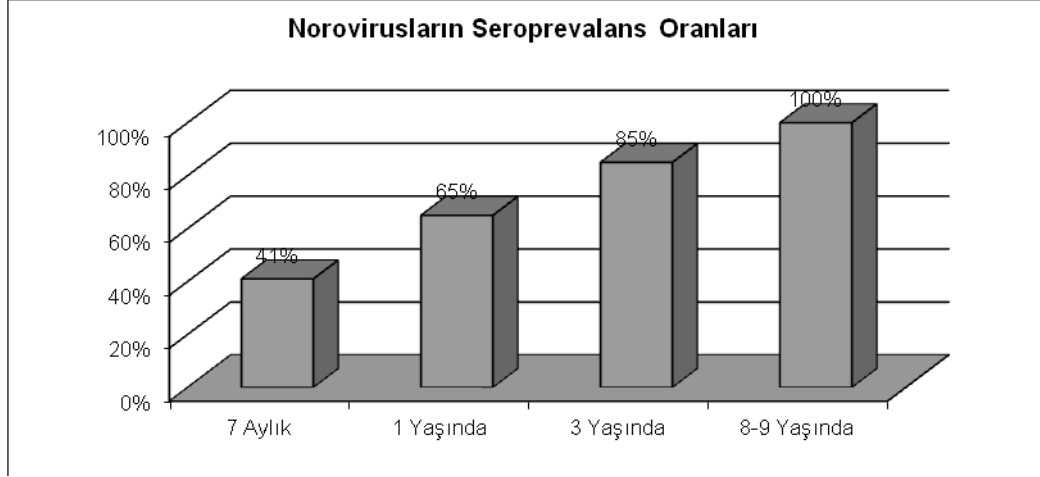
2.2.3 Epidemiyoloji

Norovirusla ilişkili salgınlar son birkaç yılda çok önem kazanmıştır. Özellikle Avrupa Birliği Ülkeleri, ABD, Çin ve Japonya'da norovirus ile ilgili detaylı çalışmalar yapılmaktadır. Hollanda Ulusal Halk Sağlığı ve Çevre Enstitüsü (RIVM), 2004 yılı sonlarında Hollanda'nın farklı yerlerinden ve diğer ülkelerden bildirilen Norovirus olgularındaki (salgınlarındaki) beklenmedik artışa dikkat çekmiştir. Enstitünün hazırlamış olduğu raporda 2002 yılında da benzer bir durumla karşılaşıldığı ve hem Avrupa hem de Amerika'dan bildirilen Norovirus salgınlarında o yıl bir artış kaydedildiği ifade edilmektedir. Salgınlarda 2002 yılındaki büyük artış G II.4 genotipinde yeni bir varyant norovirusu ile ilişkilendirilmiştir. Hollanda'da 2004 yılında analizi yapılmış salgınlarda ise saptanan Norovirus türünün G II.4 genotipi içinde yeni bir dal (GII.4-2004) olduğu bildirilmiştir. Yapılan araştırmalar, G II.4 genotipinin epidemiyolojik eğilimli olduğunu düşündürmektedir (14).

Danimarka'da Haziran-Eylül 2005'de Polonya'dan ithal dondurulmuş ahududu kaynaklı altı farklı noktada norovirus salgınları saptanmıştır. Bu salgınlarda

etken olan Norovirus türleri G II.7, G II.4 ve G II.b olarak belirlenmiştir. Her salgında izole edilen türlerin kendi içinde identik ancak farklı salgınlarda ise farklı genotiplerin tanımlanması kaynağın aynı olmadığını düşündürmüştür daha sonra tek bir seri olarak üretilen ahududuların aslında farklı çiftliklerden toplanarak hazırlandığı anlaşılmıştır. Kaynağın kanalizasyon ile karışmış sulama suyu olabileceği ya da virusun çiftliklerde veya ürünün işlenmesi aşamasında çalışan işçilerden fekal-oral yol ile bulaşmış olabileceği üzerinde durulmaktadır. Avusturya'nın Salzburg şehrinde meydana gelen salgında ise bir turist grubu etkilenmiş, salgının önce gıda kaynaklı olduğu düşünülse de yapılan epidemiyolojik çalışmalar sonucunda salgından etkilenen kişilerde yağış sonrası şehirde meydana gelen su baskınları sırasında kanalizasyon suyu ile temas etme öyküsü tespit edildikten sonra salgının su kaynaklı olduğuna karar verilmiştir (14).

Noroviruslarla herkes enfekte olabilir. Birçok farklı norovirus ırkı vardır ve genetik faktörlerdeki farklılıktan dolayı, ırk spesifik immünitesi uzun süreli değildir, belki de sadece birkaç aydır. Bu yüzden norovirus enfeksiyonu bir insanın ömrü boyunca nüksedebilir. Noroviruslar, öncelikle büyük çocuklar ve erişkinleri enfekte ederler. Rotavirustan sonra, akut infantil gastroenteritin ikinci önemli sebebi noroviruslardır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde norovirus enfeksiyonları erken çocukluk çağı sırasında görülmeye başlar ve antikor prevalansının artışı erişkin çağa kadar sürer. Çin'de, Beijing'de yapılan bir çalışmada 7 aylık bebeklerin norovirusların seroprevalans oranı %41, 1 yaşında %65, 3 yaşında %85 ve 8-9 yaşında %100 bulunmuştur. Oysa gelişmiş ülkelerde norovirusa karşı antikorlar genellikle hayatın geç döneminde kazanılır, erişkinlerin %50'sinden fazlası antikora sahiptir (Grafik 2.2.3.1) (14).



Grafik 2.2.3.1: Bejing/Çin’de yapılan bir çalışmada çocuklarda norovirus seroprevalans oranları.

Seroprevalans çalışmaları Londra, İtalya, Çin, Güney Afrika ve Kenya’da 2 yaşından küçük çocukların %50-90’ının caliciviruslara karşı antikorları olduğunu göstermiştir. RT-PCR ile noroviruslar sporadik akut gastroenteriti olan çocuklardan alınan dışkı örneklerinde %5–20 oranlarında bulunmuştur. Bununla birlikte İngiltere’de 2005 yılında yapılan bir araştırmaya göre, akut gastroenterite neden olan etkenlerin başında 606,700 olguyla noroviruslar, *Campylobacter* spp. (422,200 olgu), rotaviruslar (344,600 olgu) ve tifo dışı *Salmonella* spp. (106,800 olgu) gibi etkenleri geride bırakarak, ilk sırada yer almıştır (14).

Norovirus, sadece Amerika’da yılda yaklaşık 23 milyon akut gastroenterit olgusuna neden olmaktadır. Bu sayı ile viral gastroenteritler(özellikle norovirus) soğuk algınlığından sonraki bildiren en sık salgınsal hastalık olarak karşımıza çıkmaktadır. Tüm dünyada yıllık yaklaşık 181,000 olgu gözlenmiş ne mutlu ki norovirus ile hiç ölüm bildirilmemiştir (Tablo 2.2.3.2) (14).

Tablo 2.2.3.2 Sadece 2006 yılında Amerika’da seçilerek bildirilmiş norovirus salgınları.

Etken Patojen	Yıl	Olgu sayısı/Kaynak	Bölge
Norovirus	2006	78 / Restoran	OH
Norovirus	2006	234 / Yaşlı bakımevi	CA
Norovirus	2006	40 / Restoran	MN
Norovirus	2006	200 / Okul	WA
Norovirus	2006	30 / Şehir Klubü	IN
Norovirus	2006	25 / Bilinmiyor	AZ
Norovirus	2006	1150 / Bilinmiyor	MT
Norovirus	2006	15 / Bilinmiyor	OR
Norovirus	2006	360 / Restoran	MI
Norovirus	2006	40 / Restoran	MN
Norovirus	2006	300 / Otel	OH
Norovirus	2006	150 / Üniversite	FL
Norovirus	2006	200 / Yolcu Gemisi	CA
Norovirus	2006	100 / Yolcu Gemisi	FL
Norovirus	2006	465 / Bilinmiyor	NE
Norovirus	2006	12 / Bilinmiyor	NV
Norovirus	2006	120 / Bilinmiyor	IA
Norovirus	2006	243 / Yolcu Gemisi	FL
Norovirus	2006	1400 / Bilinmiyor	NJ
Norovirus	2006	29 / Düşün Yemeği	WA
Norovirus	2006	80 / Otel restorani	IL
Norovirus	2006	437 / Restoran	MI
Norovirus	2006	230 / Bilinmiyor	IN
Norovirus	2006	17 / Bilinmiyor	SC

2.2.4 Klinik Bulgular

Virusun alınmasından 24–48 saat sonra ortaya çıkan ishal, bulantı ve kusma, ateştir. Bazen ilk 12 saatte de semptomlar gözlenebilir. Semptomlar en az 1–2 gün sürer.

En temel bulgular;

- Kanseriz Diare
- Kusma
- Ve/veya ateş
- Abdominal kramplar
- Mide bulantısıdır. Bazen bunlara baş ağrısı, kırgınlık ve halsizlik de ilave olabilir.

Hastalık esnasında ve sonrasında bazen hiçbir belirti olmaksızın kişi uzun dönem virus taşıyıcısı olabilmektedir. Enfekte bireylerin dışkı ve kusmuğlarında da virus bulunabilir. Virus varlığı semptomların tamamen düzeldiği bireylerde bile 2 hafta kadar çıktılar ile saçılmaya devam edebilir. Bazı gönüllü çalışmalarında %30’lar civarında olguların asemptomatik hastalığı geçirdiği bildirilmiştir (14).

2.2.5 Tanı

Norovirus enfeksiyonlarının klinik tanısında en çok görülen ortak semptomlar; kusmalı bulantı, ishal ve kramplardır. Bu semptomlar, tüm yaş gruplarında görüldüğü halde, ishal çoğunlukla yetişkinlerde, kusma da çoğunlukla çocuklarda görülür. Birçok insanda baş ağrısı, ateş, üşüme ve kas ağrıları da görülmüştür (14).

Gastroenterit salgını gibi özel durumlarda, hastalık etkeni olarak norovirusun teşhisine gereksinim vardır ve tanı genellikle hastanın klinik tablosuna göre yapılır. Bu gibi durumlarda genellikle enfekte hastaların gaitalarında, özel testler kullanılarak norovirus bulunabilir. Gaita testleri sonuçsuz kaldığında veya yapılamadığı durumlarda, bazen norovirusa karşı antikor aramak için kan testleri de yapılabilir. Bir gastroenterit salgının norovirus orijinli olup olmadığının tahmini için CDC tarafından ileri sürülen epidemiyolojik kriterler; dışkı örneklerinin bakteri ve parazit için negatif olması, hastaların >%50 kusma olması, hastalık süresi 12–60 saat ve inkübasyon süresinin 24–48 saat olmasıdır. Örneklerin toplanma zamanı, sayısı kalitesi, transport ve saklanması, norovirus enfeksiyonunun tanısını etkiler. Hastalığın akut fazında viral yayılım en yüksektir (14).

Laboratuvar tanısında; Norwalk virusun klonlanması ve dizi analizinden beri insan caliciviruslarının tanısı için başlıca iki test geliştirilmiştir. Bunlardan ilki; viral RNA'nın tespiti için reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR), diğeri de spesifik viral antijenler veya antikorları tespit eden rekombinan ELISA testidir. Ancak norovirusların son derece değişken olması bütün norovirus suşları için aynı sensitiviteye sahip testleri geliştirmeyi zorlaştırmaktadır (14).

Dışkı ya da kusmuktan viral RNA'nın RT-PCR yöntemi ile saptanması esastır. Virus dışkıdan semptomların başlamasından 48–72 saat sonra saptanmaya başlanır ve yaklaşık 7.güne kadar dışkıdan RT PCR ile izole edilebilmektedir. Elektron mikroskopi de tanıda kullanılabilir. Serolojik testler de kanda özgül antikorları 3. haftadan sonra saptamaya başlayabilirler. Ticari ELISA testlerinin -özellikle antikor arayanlar- salgın analizinde yararı oldukça sınırlıdır. Bunun yanı sıra sporadik norovirus olgularında antikor araştıran ELISA testlerinin sıkça

kullanılmaya başlandığı gözlenmiştir. Özellikle diğer gastroenterit etkenlerinden ayırıcı tanıda norovirus antikorlarının araştırılması oldukça önemlidir (14).

2.2.6 Tedavi

Genellikle noroviruslara karşı ilaç tedavisi ve koruyucu aşı yoktur. Çoğu insan hasta olduktan sonra üç gün içerisinde eski sağlıklarına kavuşurlar. Norovirus enfeksiyonlarına antibiyotiklerle de müdahale edilemez (14).

Norovirus hastalıkları, sağlıklı bireylerde kısadır. İshal ve kusmalı hastalıkları olan insanların, su kayıplarını önlemek adına çokça sıvı tüketmeleri gerekmektedir. Su kaybı çocuklar, yaşlılar, hastalar arasında norovirus enfeksiyonunun en ciddi sonucudur. İnsanlar, oral rehidratasyon sıvıları (ORF), meyve suları ya da su içmek suretiyle su kaybı olasılığını azaltabilirler. Ciddi rehidratasyonun görüldüğü küçük çocuklar ve yaşlılarda, intravenöz rehidratasyon verilmesi gerekebilir (14).

2.2.7 Korunma

Noroviruslar, enfekte insanların gaita ya da kusmuklarında bulunurlar. İnsanlar şu yollarla virüsle enfekte olabilirler:

- Norovirusla kontamine yiyecek ya da içecekleri tüketerek;
- Norovirusla kontamine yüzey ya da objelere dokunup, ellerini ağızlarına sürerek;
- Hastalık semptomları gösteren kişilerle direkt kontakt kurarak (örn: hastalıklı kişilerin bakımını yaparak, ya da yiyeceklerini paylaşarak, ya da aynı kaptan yiyerek).

Yiyecek, içecek ve formitler (mobilya, parmaklıklar, halılar, kapılar gibi yüzeyler) çok çabuk noroviruslarla kontamine olabilirler, hem virus çok küçüktür hem de enfektif dozu çok düşüktür (bir insanı hasta etmek için 100 norovirus parçacığından azı yeterlidir). Kontaminasyon, kontamine ellerle veya gaita ya da

kusmuk bulaşmış çalışma yüzeyleriyle direkt temasla veya kusmuktan yayılan küçücük bir damlacığın hava yoluyla yiyecek, su ve yüzeylere taşınmasıyla gerçekleşebilir. Buna rağmen virus insan vücudu dışında çoğalamaz. Yiyecek, su ve yüzeylerin kontaminasyonu hastalığa yol açar (14).

Bazı yiyecekler bir restorana veya dükkâna ulaştırılmadan önce norovirusla kontamine olabilir. Birçok salgına, kontamine sulara yetişen kabuklu deniz hayvanlarının tüketimi sebep olmuştur. Salatalar ve donmuş meyveler gibi diğer ürünler de kaynakta kontamine olabilirler (14).

Daha önce de değinildiği gibi, henüz norovirus enfeksiyonunu önleyen aşı yoktur. Ancak, aşı geliştirme çalışmalarında son noktaya gelindiği de bildirilmektedir. Salgınlar sanitasyon ve hijyen standartlarının yükseltilmesi ile önlenebilir. Aşağıdaki korunma adımları izlenerek noroviruslarla temas şansı azaltılabilir:

- Sık sık eller yıkanmalıdır (Özellikle tuvaletler ve bebek bezi değişimlerinden sonra, yemekten ya da yemek hazırlamadan önce). Eller; alkol bazlı jeller(%62 etanol) veya sıvı sabun ile yıkanmalıdır.
- Hastalık durumundan sonra kontamine yüzeyler tamamen temizlenip, dezenfekte edilmelidir.
- Hastalık durumundan sonra hemen giysi ya da çamaşırlar değiştirilip yıkanmalıdır (sıcak su ve sabun ile).
- Tuvaletlerdeki kusmuk ve/veya gaitalar su ile temizlenip uzaklaştırılmalı ve etrafın temiz olduğundan emin olunmalıdır.

Norovirusla enfekte insanlar, yiyecek, su ya da diğer nesnelere kontamine edebilecekleri işlerden kaçınmalıdırlar. Bunlar, semptomları olan kişilerle temasa girebilir ve 3 gün içerisinde hastalıklarına geri dönebilirler. Bir hasta insanla kontamine olabilecek besinler, düzgün şekilde saklanmalıdır (14).

Sonuç olarak;

Norovirus, çok bulaşıcı, enfektif bir virüs olup uzamış ve büyük gastroenterit salgınlarına neden olabilir. Ayrıca yaygın kullanılan dezenfektana karşı da dirençlidir, çevrede uzun süre kalıcı olabilir. Dahası virusun bulaş ve enfektivitesi açısından mevcut rutin sanitasyon uygulamaları ile insanlara bulaşını ve geçişini önlemek neredeyse mümkün değildir. Muhtemel salgın esnasında alınması gereken önlemler aşağıya çıkarılmıştır:

- Etkilenen şahısların izolasyonu;
- Kontamine alanların temizlenmesi sırasında eldiven ve yüz maskelerinin kullanılması; sıkça el yıkanması,
- Kontamine sahaların en az 1000–5000 ppm, tercihen 3000–5000 ppm serbest klorin seviyelerine ulaşan hipoklorit içeren dezenfektanlarla temizlenmesi,
- Kontamine yatak örtülerinin en az 70° C de, tercihen çamaşır suyu içeren deterjanlarla yıkanması,
- Etkilenen hastane ve mutfak personelinin semptomlarının tamamen geçmesinden en az 48–72 saat sonra işe dönmesi ve haftalarca devam edebilecek virus yayılımı hakkında eğitilmesi,
- Salgın eğer gıda kaynaklı ise kaynağın tüketiminin hızla engellenmesi gerekmektedir (14).

2.3 Adenoviruslar

Enterik adenoviruslar 1975'te bulunmuştur. Enterik adenoviruslar yeni doğan ve küçük çocuklarda akut gastroenteritin önemli bir sebebidir (1).

Adenoviruslar 70 – 90 nm büyüklüğünde, zarfsız, lineer çift sarmallı DNA virusu olup Adenoviridae familyasında bulunur. Kapsidi ikosahedraldir. Kapsid 240 hekson ve 12 penton olmak üzere 252 kapsomerden oluşur. Her penton bir taban ve fiberden oluşur. Genus spesifik antijen hekzonda lokalizedir, fakat kapsidin iç kısmında bulunduğundan dolayı koruyucu antikor cevabını uyarmaz. Tip spesifik antijenler hekzon ve fiberdedir, virionun yüzeyinde bulunurlar, serum nötralizan antikor oluşumuna sebep olurlar. Fiber kuvvetli bir hemaglutininidir ve virusun hücre

reseptörlere bağlanmasından sorumludur. Hemagglütinasyon özelliklerine göre adenoviruslar A'dan F'ye kadar 6 gruba ayrılır. Gastroenterite en çok sebep olan enterik serotipler Ad 40 ve Ad 41, F grubuna aittir. Daha az sıklıkta A grubundan serotip 31, 12, 18, B grubundan serotip 3 ve 7 ve C grubundan serotip 1, 2, 5 ve 6 tespit edilmiştir (1).

2.3.1 Patojenite

Enterik adenoviruslar fekal – oral yolla bulaşır. Yiyecek ve su bulaşmada aracı olarak bildirilmemiştir. Dışkıda enterik adenovirusların yayılması, diareden ortalama 2 gün önce başlar ve humoral immün cevap gelişmesine rağmen diarenin durmasından 5 gün sonraya kadar toplam 10 – 14 gün sürer (1).

Rotavirusa benzer yolla diyare oluşturur. Adenovirus serotip 40 ve 41 tarafından enterositlerde oluşturulan lezyonlar virusların atrofisine ve kriptlerde kompanze hiperplaziye yol açar ve daha sonra malabsorbsiyon ve sıvı kaybı olur. İnfeksiyon serumda nötralizan antikorlar ve hemagglütinasyon inhibisyon antikorlarını uyarır. Nötralizan antikorlar aynı serotiple reinfeksiyona karşı uzun süreli koruma sağlar (1).

2.3.2 Korunma

Salgın kontrolü uygun sanitasyon ve kişisel hijyene dikkat etmekle sağlanır. İnfeksiyöz viruslar 56°C'de, ultraviyole ışığına maruziyetle veya formalin ile hızla inaktive olur. Aşı çalışmaları sürmektedir (1).

2.3.3 Tanı

Antijen tespiti için adenovirus 40 ve 41 tip spesifik antikorlarının kullanıldığı veya adenovirus grup spesifik monoklonal antikorların kullanıldığı ELISA ve latex agglütinasyon tanı için en uygun metodlardır. Oldukça ucuz, basit ve hızlı,

elektronmikroskopi ile kıyaslandığında %98 sensitivite ve spesifiteye sahiptir. Buna karşılık bazı virus varyantları deney ile tespit edilmeyebilir. Elektronmikroskopi ile enterik ve diğer serotipler ayırt edilemez. Adenovirusların kültürü yapılabilir, fakat enterik serotiplerin üretilmesi zordur, transforme akciğer fibroblastı olan Graham 293 gibi veya Chang konjungtival hücreler gibi özel hücre dizileri gerekir. İnfekte hücreler yuvarlaklaşır, bazofilik intranükleer inklüzyonlar oluşur, karakteristik stopatik etki genellikle 3, 7 günde gelişir, fakat bu süre 28 güne çıkabilir. Rutin klinik tanı için viral kültür uygun değildir. Dışkıdan ekstrakte edilmiş viral DNA'yı tespit için kullanılan moleküler teknikler antijen tespiti için kullanılan testlere göre daha az sensitiftir (1).

2.3.4 Hastalık

Enterik adenovirusların oluşturduğu hastalık rotavirus gastroenteritine benzer, fakat daha az ciddi ve daha uzun sürelidir. İnkübasyon periyodu 3 – 10 gün olup diğer viruslarda görülen 1 – 3 günlük süreden daha uzundur. Hastalık tipik olarak 5 – 12 gün sürer. Diyare genellikle suludur, hastaların %97'sinde görülür, diare süresi tip 40 için ortalama 9 gün ve tip 41 için 12 gündür. Çocukların 1/3'ünde, daha uzun süreli diyare (>14 gün) ve çocukların %79'unda 1 – 2 gün süren kusma görülür. Bazen düşük ateş ve solunum yolu semptomları görülebilir. Rotavirus enfeksiyonuna göre dehidratasyon daha az sıklıktadır (1).

2.3.5 Epidemiyoloji

Adenoviruslar toplumda akut diyare episodlarının %4'ünde (%2 – 6), hastaneye kaldırılan çocukların %2 – 22'sinde tanınır. Ayrıca asemptomatik kontrollerin %1 – 2'si adenovirus yayar. Hastanelerde salgınlar bildirilmiştir. Enterik adenovirus enfeksiyonunun en sık 2 yaşın altındaki çocuklarda olur. Adenovirus tip 40 ve 41 enfeksiyonuna yakalanma için ortalama yaş sırasıyla 12 ve 19 aydır. Fakat daha büyük çocuklar ve erişkinler de enfekte olur. Enterik adenoviruslar tip 40 ve 41

infeksiyonları mevsimsel bir özellik göstermeksizin bütün yıl boyunca görülebilir (1).

2.3.6 Tedavi

Adenovirusların sebep olduğu gastroenterit için spesifik tedavi yoktur. Dehidratasyon nadirdir ve genellikle hafiftir. Bu sebeple hastaların çoğu oral rehidratasyon ile tedavi edilir (1).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya Ahmet Necdet Sezer Araştırma ve Uygulama Hastanesi Pediatri Anabilim Dalı aracılığı ile Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen dışkı örnekleri ile Afyonkarahisar Zübeyde Hanım Doğum ve Çocuk Hastanesi İntaniye ve Yenidoğan servisine 1 Ocak ve 31 Aralık 2009 tarihleri arasında başvuran, yatırılarak tedavi edilen, 6 yaş altı akut gastroenteritli çocuklara ait dışkı örnekleri dahil edilmiştir. Hastaların demografik verileri (adı, soyadı, yaşı, cinsiyeti ve aile özellikleri gibi) ve klinik bilgileri ile ilgili bilgiler bir anket formu yardımı ile alınmıştır.

Akut gastroenteritli olan çocuklardan toplanan dışkı örnekleri test edilinceye kadar -80°C'de saklanmıştır. Rotavirus ve Adenovirus tespiti için alınan dışkı örnekleri Lateks ELISA yöntemiyle (VIKIA Rota – Adeno, Biomeriux) çalışılmıştır.

Toplanan dışkı örnekleri Nörovirus için ELISA yöntemiyle (RIDASCREEN, R – Biopharm AG Germany) test edilmiştir.

3.1 Rota – Adeno Çalışma Prosedürü

Dışkı örnekleri uygulama öncesi dondurucudan çıkarılıp çözülmesi için oda ısısında bekletilmiştir.

Testin uygulanması:

1. Gaita örneğini sulandırma: Kit içerisinde bulunan dilüentlere 50mg gaita örneği eklenerek karıştırıldı ve homojenize edilmiştir.
2. Test kartına ekim: Test kasetinde bulunan Sample kuyusuna 2 damla süspansiyon edilen gaita örneği eklenmiştir. 10 dakika oda ısısında inkübe edildikten sonra okuma yapıldı. Mavi çizgi oluşumu Rotavirüs varlığını,

kırmızı çizgi oluşumu Adenovirüs, hem mavi hem kırmızı çizgi oluşumu her iki virüsün pozitif olduğunu gösterir. Kontrol bölümünde çizgi oluşmazsa test geçersiz sayılır.



Şekil 3.1.1 VIKIA Rota – Adeno kombo kit test kartları

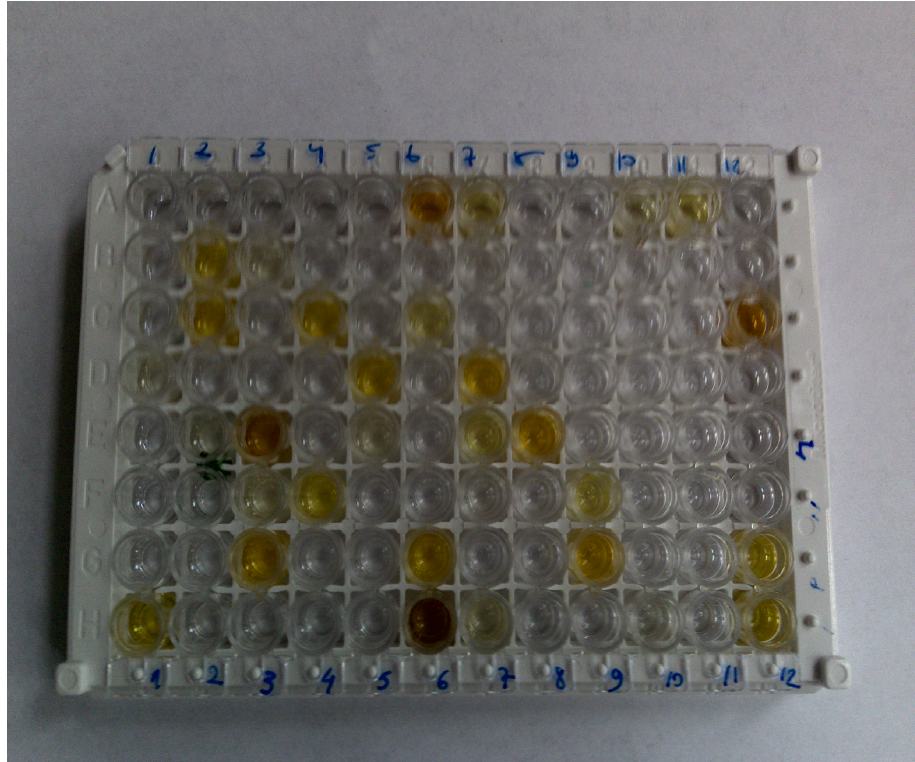
3.2 Nörovirus çalışma prensibi

Dışkı örnekleri uygulama öncesi dondurucudan çıkarılıp çözülmesi için oda ısısında bekletilmiştir.

Testin uygulanması:

1. Mikroplate ve reaktifler oda ısısına getirilmiştir (20 – 25°C)
2. Yıkama solüsyonu (Wash buffer) distile su ile dilüe edilmiştir (1/10).
3. Dışkı örnekleri sample buffer ile dilüe edilmiştir.
4. Örnekler mikropleytlere pipetle yerleştirilmiştir (Şekil 3.2.1).
5. 100µl pozitif ve negatif kontroller de mikroplate'e konulmuştur.

6. 100µl konjugat1 eklenmiştir.
7. Oda ısısında (20 – 25°C) 1 saat inkübasyona bırakılmıştır.
8. Wash buffer ile 5 kez 300µl eklenerek yıkanmıştır.
9. 100µl konjugat2 eklenmiştir.
10. Oda ısısında (20 – 25°C) inkübe edilmiştir.
11. 300µl wash buffer ile 5 kez yıkanmıştır.
12. 100µl substrat eklenmiştir.
13. Tekrar 15 dakika karanlık odada oda ısısında (20 – 25°C) inkübe edilmiştir.
14. 50µl stop reagent eklenmiştir.
15. 450nm’de fotometrik absorbansları ölçülmüştür.



Şekil 3.2.1 Nörovirus çalışmasında kullanılan microwell plate

3.3 Rotavirus RNA'nın RT-PCR ile Araştırılması

Rotavirusun RT PCR testi için rotavirusun VP7 bölgesine ait 1062 bp uzunluğundaki genom bölgesini hedef alan Beg9B (5'- GGC TTT AAA AGA GAG AAT TTC CGT CTG G-3') End9B (5'-GGT CAC ATC ATA CAA TTC TAA TCT AAG-3') konsensus primerler kullanılarak RT-PCR (Reverse transcription-Polymerase Chain Reaction) testi yapılmıştır. İki aşamada yapılan RT-PCR testinin I. aşamasında; RT (Reverse transcription) işlemi ile cDNA'lar elde edildi. İkinci aşamasında ise, bu cDNA'lar kullanılarak PCR işlemi gerçekleştirildi.

VIKIA Rota – Adeno kombo kit ile çalışılan rotavirus pozitif çıkan örneklerden rotavirus RNA'sının ekstraksiyonu QIAGEN Stool DNA kit kullanılarak gerçekleştirildi.

3.3.1 Dışkı örneklerinden RNA'nın izolasyonu

1. 180 – 220 mg kütleyle sahip gaitayı 2ml'lik ependorf tüplere aktarılıp, tüpler buz üzerine alınmıştır.
2. Her bir örnek üzerine 1,4 ml Buffer ASL eklendi. Gaita örneği tamamen homojenize oluncaya kadar, yaklaşık 1 dakika vortekslenmiştir.
3. Elde edilen karışım 5 dakika 70°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Bu adım, total DNA'yı 3 – 5 kata kadar artırdığı gibi, bakteri veya diğer parazitlerin parçalanmasına da yardımcı olmaktadır.
4. Örnekleri 15 saniye vorteksleyip, 14000 devirde 1 dakika gaita çökeltisi elde edilene kadar santrifüjlenmiştir.
5. Üst sıvıdan 1,2 ml alıp, yeni 2 ml'lik ependorf tüpleri içerisine pipetlendi. Çökelti kısımları atılmıştır.
6. Her bir örnek içerisine 1'er adet InhibitEX tablet ekleyip, sonrasında 1 dakika tablet tamamen eriyene kadar vortekslendi. İnhibitörlerin

InhibitEX matrix'ine yapışmasını sağlamak için, örnekler 1 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır.

7. İnhibitörlerin çökmesini sağlamak amacıyla örnekler 14000 devirde 3 dakika santrifüjlenmiştir.
8. Üstte kalan sıvıdan, 200µl'yi 1,5 ml'lik yeni ependorf tüpleri içerisine alınıp, çökelti kısımları atıldı. Ardından örnekler 3 dakika 14000 devirde santrifüjlenmiştir.
9. Tüm örnekler üzerine 15'er µl proteinase K eklenmiştir.
10. 200'er µl Buffer AL ve 10'ar µl I.C. ekleyip, 15 saniye vortekslenmiştir.
11. 70°C'de 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra tüp kapaklarındaki damlacıkları önlemek için santrifüjlenmiştir.
12. Lizatların üzerine 200'er µl ethanol (%96 – 100'lük) eklenip, vortekslendi karışımları sağlanmıştır.
13. Örnek sayısı kadar QIAamp spin kolon çıkartılıp, kapak kısımları numaralandırıldı. Daha sonra, kapakları kapatılıp 12. adımda elde edilen tüm lizati spin kolona aktarılıp, 14000 devirde 1 dakika santrifüjlendi. Alttaki sıvı kısmı atılıp, filtre kısımlarını yeni boş 2 ml'lik collection tüplere aktarılmıştır.
14. QIAamp spin kolonların kapakları dikkatlice açılıp, içlerine 500'er µl AW1 eklendi. Daha sonra kapakları kapatılıp 14000 devirde 1 dakika santrifüjlendi. Alttaki sıvı kısmı atılıp, filtre kısımlarını yeni boş 2 ml'lik collection tüplere aktarılmıştır.
15. QIAamp spin kolonların kapakları dikkatlice açıldı, içlerine 500'er µl AW2 eklendi. Daha sonra kapakları kapatılıp 14000 devirde 3 dakika santrifüjlenmiştir.
16. Alttaki sıvı kısmı atılıp filtre kısımlarını yeni boş 2ml'lik collection tüplere aktarıldı. Daha sonra 14000 devirde 1 dakika santrifüjledi. Böylelikle, filtre üzerinde kalan ethanol ve buffer'ın uzaklaştırılması sağlanmıştır.
17. Alttaki sıvı kısmı atılıp, filtre kısımlarını yeni boş 1,5 ml'lik ependorf tüplerine aktarıldı. QIAamp spin kolonların kapakları dikkatlice açılıp, direkt membranların üzerlerine 200'er µl Buffer AE eklendi. Daha sonra

kapakları kapatılıp, 1 dakika oda ısısında inkübe edildi. Ardından 14000 devirde santrifüjlenerek RNA ayrılmıştır.

18. 1,5'lik tüplerin kapakları kapatıldı. Araştırılacak olan RNA'nın amplifikasyonları tamamlanincaya kadar -80°C'de saklanmıştır.

3.3.2 Test Protokolü

Yabancı DNA ile bulaştırma riskini asgariye indirmek için, tüm pipetleme işlemleri temiz bir PCR ortamında yapıldı. Tüm pipetleme adımları için filtreli pipet uçları kullanıldı.

1. Kapaklarını açmadan önce her tüp 14000 devirde döndürüldü. Bu, liyofilize primer ve prob karışımının tüpün tabanında olmasını ve tüp açıldığında dökülmemesini temin etmek için yapıldı.
2. Takımın parçalarını aşağıdaki tabloya göre yeniden düzenlendi: Tam resuspanسیون temin etmek için, her tüp iyice döndürüldü.

Bileşen	Hacim
Ön-PCR transparan zarf	
Patojen Primer/Prob karışımı (KAHVERENGİ)	165 µl
İnternal kontrol primer/prob karışımı (KAHVERENGİ)	165 µl
İnternal kontrol /Patojen/ACTB RT primer karışımı (YEŞİL)	165 µl
Endojenöz ACTB primer/probe karışımı (KAHVERENGİ)	165 µl
PCR-sonrası ısı-sızdırmaz folyo	
İnternal kontrol RNA (MAVI)	600 µl
Pozitif Kontrol Şablon (KIRMIZI) *	500 µl

Pozitif Kontrol Şablon yüksek kopya numaralı şablon içerir ve çok önemli ölçüde bulaştırma riski taşır. Bu nedenle diğer bileşenlerden uzak, başka bir

laboratuvar ortamında açılıp el ile alınmıştır.

3.3.2.1 RNA ekstraksiyonu

İnternal kontrol RNAYA, RNA lizis/ekstraksiyon tamponuna ya da eritme tamponunda bir kez askıya alındıktan sonra RNA örneğine eklenmiştir.

İnternal kontrol RNA işlenmemiş biyolojik örneğe eklenmez çünkü bu bozulma ve sinyal kaybına yol açar.

3.3.2.2 Tek adım RT-PCR Protokolü

En tercih edilen yöntem tek bir kapalı tüp içinde ters transkripsiyon ve amplifikasyonu birleştiren tek adımlık yaklaşımdır.

Optimal performans ve hassasiyet için tüm pipetleme adımları ve araştırma tabakası kurulumu buz üstünde yapıldı. Tabaka döküldükten sonra hemen tek adımlık amplifikasyon protokolüne geçildi.

1. Her RNA örneği için aşağıdaki tabloda yazan şekilde reaksiyon mixi hazırlandı.

Bileşen	Hacim
2 x Precision OneStep™ qRT-PCR MasterMix	10 µl
Patojen Primer/Prob karışım	1 µl
İnternal kontrol primer/prob karışım	1 µl
RNA örnek	X µl
RNase/DNase serbest su	X µl
Son Hacim	20 µl

2. Her RNA örneği için aşağıdaki tabloya göre endojen bir ACTB kontrol reaksiyonu hazırlandı: Bu kontrol reaksiyonu biyolojik örneğin kalitesinin konusunda kritik bilgi verir.

Bileşen	Hacim
2 x Precision OneStep™ qRT-PCR MasterMix	10 µl
Endojenöz ACTB primer/prob karışım	1 µl
RNA örneğ	X µl
RNase/DNase serbest su	X µl
Son Hacim	20 µl

3.3.2.3 Standart eğri protokolü

1. Her standart eğri örneği için aşağıdaki tabloya göre reaksiyon karışımı hazırlandı.

Bileşen	Hacim
2 x Precision™ MasterMix	10 µl
Patojen Primer/Prob karışım	1 µl
RNase/DNase serbest su	4 µl
Son Hacim	15 µl

2. Standart eğri dilüsyon dizgisi hazırlanması.

I) 900µl RNase/DNase serbest su 5 tüp içine pipetlendi ve 2–6 işaretlendi.

II) 2. tüp içine 100µl Pozitif Kontrol pipetlendi.

III) Santrifüj edildi.

IV) Pipet tipi değiştirildi ve 2. tüpten 100µl pipetlenip 3. tüp içine koyuldu.

V) Santrifüj edildi. Dilüsyon serisini tamamlamak için 4. ve 5. adımlar tekrarlandı.

Standart Eğri	Kopya Numarası
1. Tüp 1 Pozitif kontrol	2 x 10 ⁵ /µl
2. Tüp	2 x 10 ⁴ /µl
3. Tüp	2 x 10 ³ /µl
4. Tüp	2 x 10 ² /µl
5. Tüp	20/ µl
6. Tüp	2 / µl

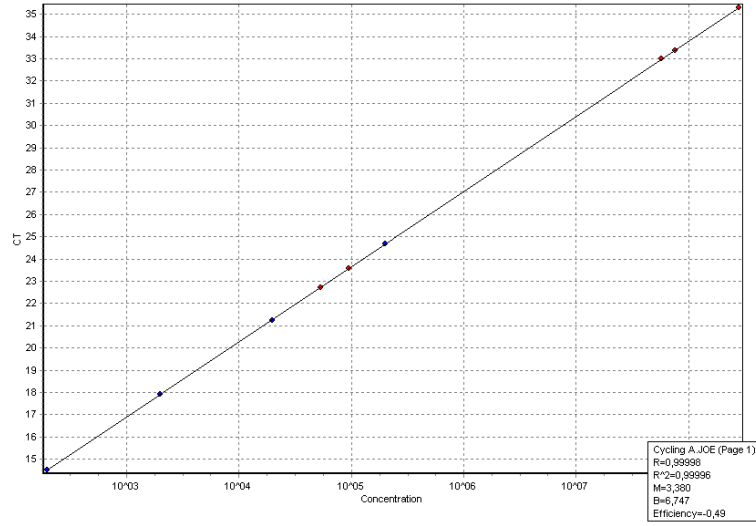
3. Tabaka düzenine göre, standart eğri için her kuyu içine 5µl standart şablon konuldu. Her kuyunun son hacmi 20µl oldu.

3.3.2.4 Tek Adım Amplifikasyon Protokol

	Adım	Zaman	Sıcaklık
	Ters Transkripsiyon	10 dk	55°C

50 Döngü			
	Enzim aktivasyon	8 dk	95°C
	Denaturasyon	10 san	95°C
	BILGI TOPLAMA	60 san	60°C

- Florojenik bilgi bu adımda FAM ve VIC kanalları tarafından toplandı.



Şekil 3.3.2.3.1. Çalışmamızın R değeri.

4. BULGULAR

Bölgemizde akut gastroenteritli çocuklarda rotavirus, adenovirus ve nörovirus infeksiyonlarının prevalansını araştırmak amacıyla Afyonkarahisar Tıp Fakültesi Ahmet Necdet Sezer Araştırma Hastanesi Çocuk Enfeksiyon Bilim Dalı Polikliniğine, Çocuk Acil Tıp Birimine ve Zübeyde Hanım Doğum ve Çocuk Evi Çocuk Servisine 1 Ocak 2009 – 31 Aralık 2009 tarihleri arasında başvuran 6 yaş altı akut gastroenteritli çocuklara ait toplam 150 dışkı örneği çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilen toplam 150 hastanın 86'sı (%57,3) erkek, 64'ü (%42,7) kız çocuklardan oluşmakta idi. Hastaların 48'i (%32) 0 – 6 ay, 43'ü (%28,7) 7 – 12 ay, 33'ü (%22,0) 13 – 18 ay yaş grubunda yer almaktaydı. Rotavirus diarezi olan hastaların gelir durumları çok düşük, düşük, orta ve iyi olarak değişmekte idi. Bu 150 hastadan 8'inin (%5,3) durumu çok düşük, 35'inin (%23,3) düşük, 105'inin (%60) orta ve 2'sinin (%1,3) de iyiydi. Çalışılan 150 hastanın 150'sinde (%100) diare, 94'ünde (%62,7) kusma, 87'sinde (%58) karın ağrısı ve 86'sında (%57,3) ateş vardı.

150 hastanın 60'ında (%40) rotavirus Latex ELISA ile pozitif bulundu. Yine aynı gruptan çalışılan 95 hastadan 15'i RT PCR ile pozitif bulunmuştur. Test sonuçlarının yöntemlere göre karşılaştırması Tablo 4.1 ve Tablo 4.2'de sunulmuştur.

Tablo 4.1. Rota ELISA ve PCR çalışması karşılaştırma grafiği

	PCR (+)	PCR (-)	Toplam
ELISA (+)	13	26	39
ELISA (-)	2	54	56
Toplam	15	80	95

ELISA Duyarlık $13 / 15 = \% 86,7$

ELISA özgüllük: $54 / 80 = \% 67,5$

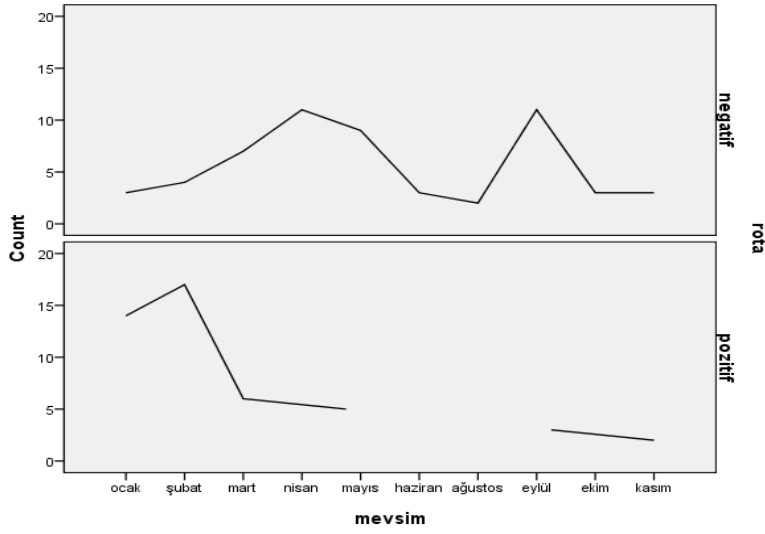
ELISA PPD: $13 / 39 = \% 33,3$

ELISA NPD: $54/56 = \% 96,4$

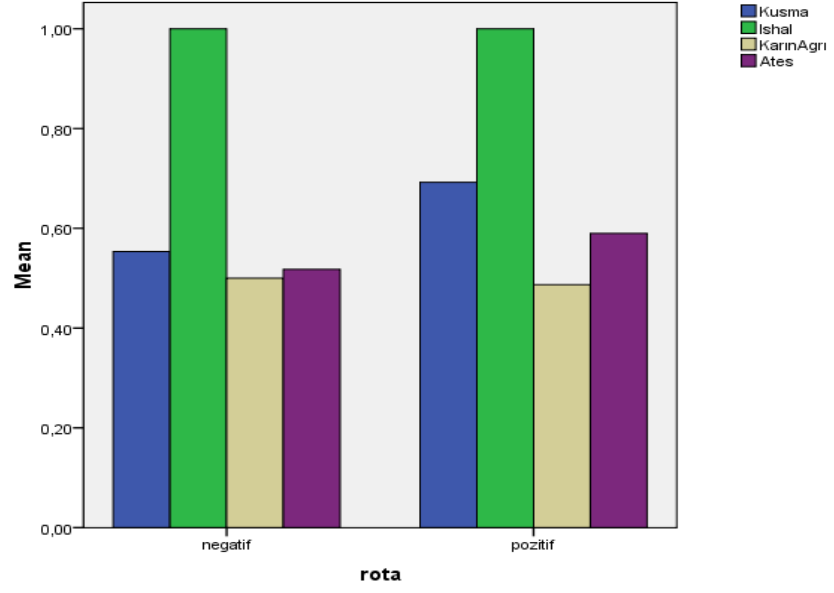
Tablo 4.2. Etken virüslerin ELISA ve PCR ile saptanma düzeyleri.

Yöntem	Rotavirus		Adenovirus		Nörovirus	
	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
ELISA	60	90	6	116	21	71
RT-PCR	15	80	-	-	-	-

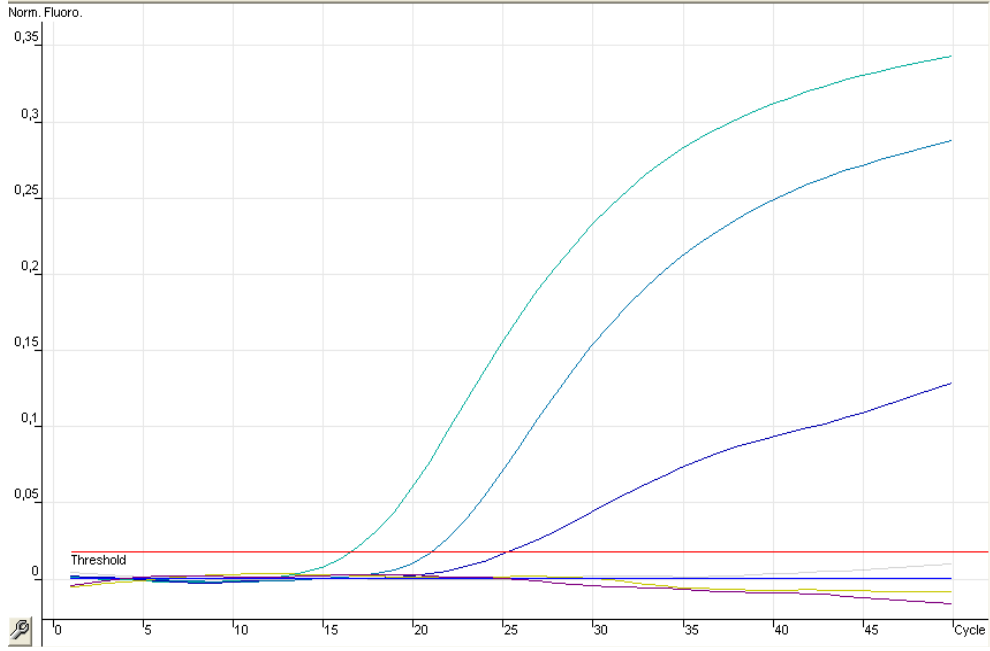
Grafik 4.3.Aylara göre Rotavirus pozitifliği ve negatifliğinin dağılımı



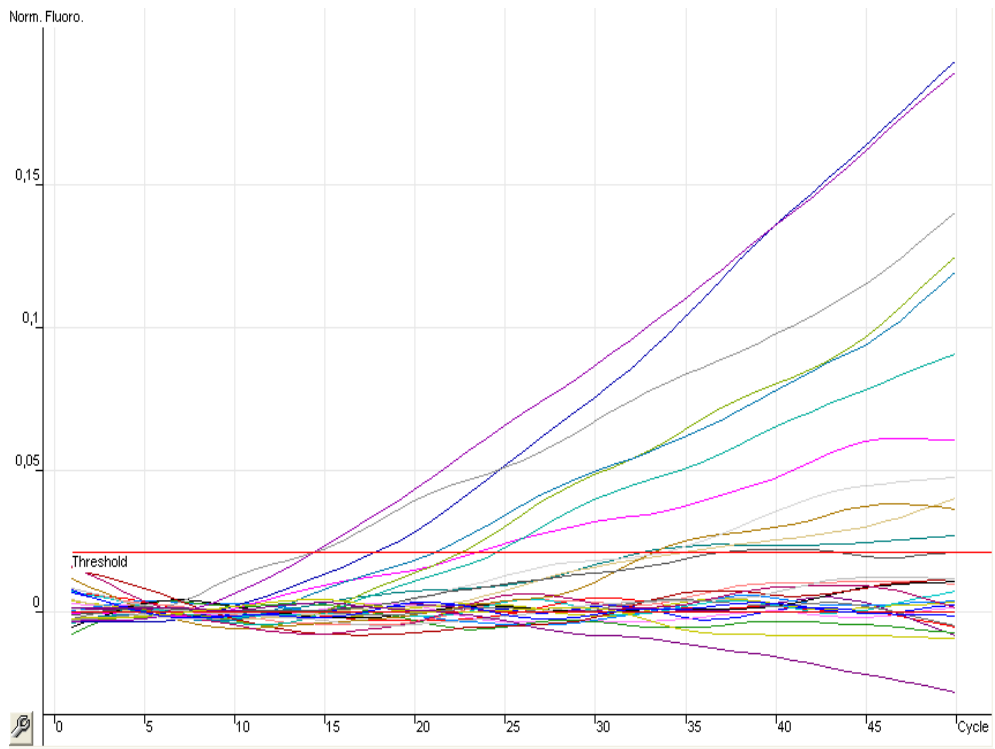
Grafik 4.4. Rotavirus çalışılan ishalleri hastalarda kusma, ishal, karın ağrısı ve ateş görülme oranları



Grafik 4.5. PCR çalışmasında hastaların grafikleri



Grafik 4.6. PCR çalışmasında hastaların grafikleri



Tablo 4.7. Rotavirus infeksiyonunun klinik belirtileri

Klinik belirtiler	Sayı	%
Diare	150	100
Diare süresi (gün)		
<2	22	14,6
2-4	45	30
4>	83	55,3
Diare süresi (1 günde)		
1-4	74	49,3
4-6	65	43,3
6-8	11	7,3
Kusma	94	62
-	56	37,3
<2	72	48
2-4	64	42,6

4>	14	9,3
Ateş	86	57,3
37 °C	12	13,95
38 °C	66	76,7
39 °C	8	9,3

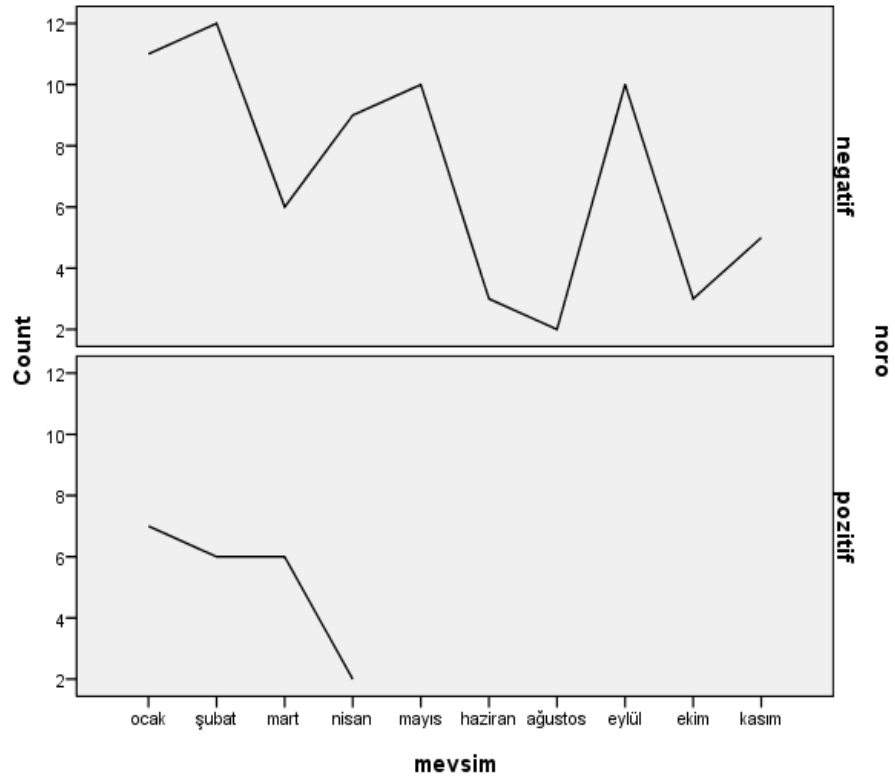
ELISA testi sonucunda toplam 92 hastanın 21'inde (%22,82) nörovirus antijeni pozitif bulundu. Nörovirusun pik yaptığı ay Ocak ayıydı (Grafik 4.6).

Çalıştığımız 92 hastanın 54'ü (%58,6) erkek, 38'i (%41,3) kız çocuğuydu. Ailelerin gelir durumları ise 2'si (%2,1) çok düşük, 20'si (%21,7) düşük, 67'si (%72,8) orta ve 3'ünün (%3,2) yüksekti.

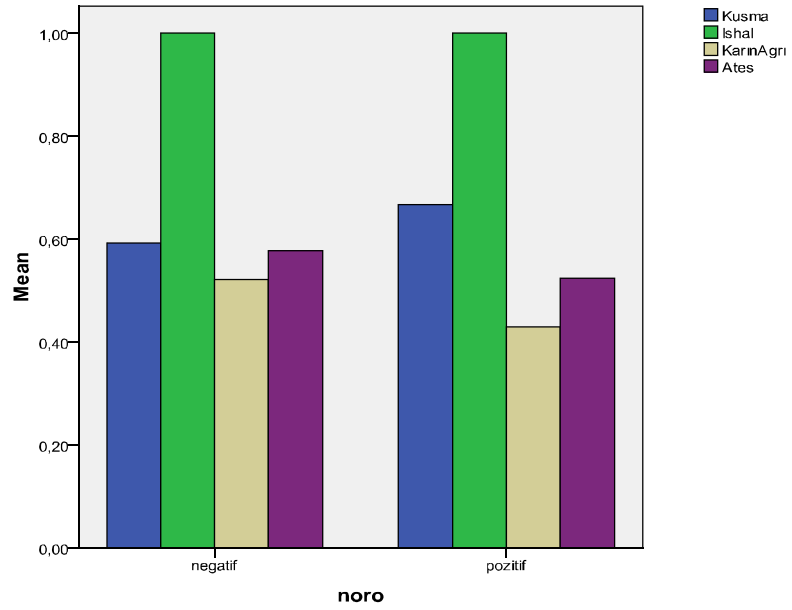
92 hastanın 90'ı (%97,8) anne sütü almış, 2'si (%2,1) almamıştı. Yine bu hastaların 64'ü (%69,5) içme suyu olarak şehir şebekesini ve 28'i (%30,4) hazır damacana su kullanıyordu.

Hastalarımızın 58'inde (%63) kusma, 92'sinde (%100) ishal, 46'sında (%50) karın ağrısı ve 52'sinde (%56,5) ateş görülmekteydi (Grafik 4.7)

Grafik 4.8. Norovirusun aylara göre dağılımı.



Grafik4.9. Nörovirusta görülen klinik semptomlar



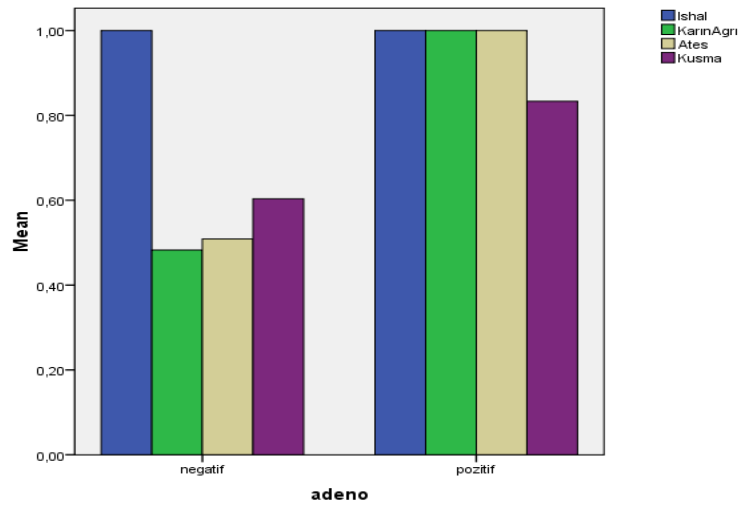
122 hastadan çalışılan pozitif adenovirus sayısı ise 6'dır (%4.91). Çalışılan

122 hastanın 90'nin (%73) gelir durumu orta, 4'ünün (%3,27) yüksek, 5'inin (%4,09) çok düşük, 23'ünün (%18,85) düşüktü.

Yine çalışılan 122 hastanın 116'sı (%95,08) anne sütü almış, 6'sı (%4,91) anne sütü almamıştı. 32 hasta (%26,22) hazır damacana su kullanırken, 88'i (%72,13) şehir şebekesi kullanıyordu.

Hastalarımızın 122'si de (%100) ishaliydi. 75'inde (%61,47) kusma, 62'sinde (%50,81) karın ağrısı ve 65'inde (%53,27) ateş mevcuttu (Grafik 4.8).

Grafik 4.10. Adenovirus çalışılan ishali hastalarda kusma, ishal, karın ağrısı ve ateş görülme oranları



5. TARTIŞMA

Rotavirus bütün dünyada çocukluk çağı akut gastroenteritlerin en yaygın sebebidir. Ilıman bölgelerde rotavirus infeksiyonu genellikle endemik olup özellikle kış ayları boyunca görülür, oysa tropikal bölgelerde rotavirus diarezi bütün yıl boyunca gözlenir. Nadiren salgınlardan sorumlu olabilir (24).

Akut ciddi gastroenteritin başlıca sebebi olan rotavirus infeksiyonları beş yaş altı çocuklarda hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde benzer insidanda görülür. Ancak mortalite sonuçları farklıdır. Dünyada her yıl rotavirus infeksiyonuna bağlı 600.000 ölümden %80'den fazlası tıbbi bakımın zayıf olduğu Güney Asya ve Güney Afrika gibi gelişmekte olan ülkelere görülürken Avrupa'da yılda rotavirus infeksiyonuna bağlı 231 ölüm görülür ki bu sayı 14.000'de 1'e karşılık gelir. Gelişmekte olan ülkelere ise bu oran 250'de 1'dir. Buna karşılık

morbidite, kliniğe başvuru ve hospitalizasyon oranları benzerdir (24).

Gelişmiş ülkelerde mortalite düşük olmasına rağmen morbidite oranı yüksektir ve hospitalizasyon oranları da %20–60 gibi oldukça yüksek olup gelişmekte olan ülkelere benzer bulunmuştur. Ancak rotavirus enfeksiyon oranlarının benzer olması kişisel ve toplumsal hijyenin iyileştirilmesi ve sanitasyon uygulamalarının rotavirus enfeksiyonunu önlemede çok etkili olmadığını göstermektedir. Tüm dünyada hemen hemen çocukların hepsi 5 yaşına kadar rotavirus ile enfekte olur. İlk enfeksiyonun sıklıkla iki yaşından önce görülmesi, dehidratasyon ve malnutrisyonla seyretmesi hastalığın mortalitesini artırmaktadır. Bu sebeple rotavirus enfeksiyonuna karşı başlıca korunma yöntemi aşılama değildir. Hastalığın önlenmesinde aşı kullanımının gündemde olması etkenin genotiplendirilmesini önemli kılmaktadır (24).

Subgrup ve serotip sınıflandırmaları genellikle araştırma amaçlı gerçekleştirilir. Serotipler insan ve diğer türler arasında olduğu gibi coğrafik olarak da çeşitlilik göstermektedir (25).

Rotavirus kan dolaşımına geçebilir. Ancak ekstra intestinal bölgede çoğaldığına dair deliller yoktur. Rotavirusun serebrospinal sıvıda ve hatta santral sinir sistemi ile ilişkili hastalık belirtisi olan vakalarda saptandığı rapor edilmiştir. Ancak sistemik yayılımın klinik önemi bilinmemektedir (25).

Dünya genelindeki araştırmalara göre grup A rotavirusunun sebep olduğu diareli çocuklardan izole edilen G1-G4 ve P1A[8] ve P1B[4] (G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8], G9P[8]) en yaygın G ve P genotip kombinasyonlarıdır. Grup A rotavirusun baskın genotipleri yıldan yıla ve bölgeden bölgeye değişiklik göstermektedir. Kuzey Amerika, Avrupa ve Avustralya'da 1973–2003 yılları arasında toplanan rotavirus suşlarında enfeksiyonların %90'dan fazlasına G1–G4, P1A[8] ve P1B[4] tiplerinin sebep olduğu gösterilmiştir. Buna karşılık bu genotipler Güney Amerika ve Asya ülkelerinde %68 ve Afrika'da % 50 oranında tespit edilmiştir. Yapılan araştırmalarda 1973 ve 2003 yılları arasında yapılan araştırmalarda en yaygın G1P[8] tipi rotavirus enfeksiyonlarının %69,4'ünü oluşturmaktadır. Avrupa'da 2004–2005 yılları arasında rotavirus gastroenterit vakalarının %98'den fazlasını G1, G2, G3, G4 ve G9 tiplerinin oluşturduğu

gösterilmiştir (26).

Farklı tipler farklı coğrafik bölgelerde baskındır. Rotavirus G ve P genotiplerinin global dağılımı ile ilgili olarak 1989–2004 yılları arasında 52 ülkeden 124 çalışmanın verileri G1P[8] tipinin Kuzey Amerika, Avrupa ve Avusturalya’da suşların %70’inden fazlasını oluşturduğunu oysa Güney Amerika ve Asya’da ise suşların yalnızca %30’nu oluşturduğunu göstermektedir (26).

Bir ülke genelinde baskın olan suşlar yıldan yıla da değişiklik gösterebilmektedir. Yoshinaga ve arkadaşlarının Japonya’da 2000–2003 yılları arasında beş farklı bölgede akut gastroenteritli çocuklarda ve yeni doğanlarda rotavirus grup A infeksiyonunun insidansını belirlemek ve rotavirus genotiplerine göre karakterizasyonunu tespit ederek gruplar arasındaki genetik farklılıkları tanımlamak amacıyla yaptıkları çalışmada 2000–2001 yılları arasında en yüksek prevalansı sırasıyla G1 %45,5, G2 %32,5, G3 %12,3 ve G4 %2,6 oluştururken G9’u yalnızca 9 (%5,9) vakada tespit ettiklerini ancak 2001–2002 yılları arasında ise bu oranların değişerek en baskın suş olarak G2 tipini %40, ardından G1 tipini %20 oranında bulduklarını belirtmişlerdir. G9 oranı ise %17,8’e yükselmiştir. Yine Japonya’da 2002–2003 yılları arasında da G tiplerinden G3 %34 ve G4 %28 oranında tespit edilmiştir. Önceki yıllarda çok yüksek bulunan G1 %6 ve G2 ise %5,2 oranında tespit edilerek hızla bir düşüş olduğu görülmüştür. Yine 2000 yılından önce Avrupa’da en yaygın G1 iken 2005 yılında pek çok Avrupa ülkesinde dışkı örneklerinin %50’sinden fazlasında G9 baskın olarak bulunmuştur (27).

Dünya genelinde 1990’ların erken dönemlerinde pek çok epidemiyolojik çalışma G1-G4 suşlarının yüksek prevalansta olduğunu göstermiştir, fakat daha sonra G9P[8] veya G9P[6] suşları tüm dünyada görülmeye başlamıştır. Afrika’da G8P[6], Brezilya’da G5P[8] ve Hindistan’da yeni G10P[11] ve G12P[6] suşları artan sıklıkta tespit edilmeye başlanmıştır. Bu suşlar yeni ortaya çıkan rotavirus genotiplerini temsil etmektedir. Bu durumda görülen insan ve hayvan rotavirusları arasında reassortment’in daha fazla olması günümüzdeki ve gelecekteki aşı çalışmaları için zorluk yaratacaktır (28).

Rotavirus iki mekanizma ile çeşitlilik göstermektedir. Nokta mutasyonları antikordan kaçan mutantların ortaya çıkmasına sebep olur. Rotavirusun iki farklı suşunun bir hücreyi infekte etmesiyle rotavirusun gen segmentlerinin değişmesi sonucu reassortant virus oluşabilir. Rotavirusun reassortment özelliği daha önce hiç görülmemiş antijenik yapısı farklı yeni rotavirus genotiplerinin ortaya çıkmasına sebep olur ki bu aşu gelişimi için oldukça önemlidir (29).

Dünyadaki hemen hemen bütün rotavirus suşlarına ait G1, G3, G4 ve G9 serotipleri tercihen P[8] ile ilişkili olmasına rağmen G2 serotip suşları daha çok P[4] genotipi ile ilişkilidir (29).

ABD ve Japonya'da pek çok salgın G2 tipi ile (çoğu P1B[4] suşları) ortaya çıkmıştır. Rotavirus serotipleri ve virulansı arasındaki ilişki tam olarak anlaşılmasına rağmen, çocuklarda G2 virusu ile infeksiyonun daha şiddetli geçtiği ile ilişkili bazı çalışmalar vardır ve bu virusun P1A[8], G1, G3, G4 ve G9 viruslarından farklı bir genogrup oluşturduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalar P1B[4]G2 olmayan viruslar ile infeksiyonların P1B[4]G2 infeksiyonlarına karşı uzun süreli koruma sağlamayacağını ve P[4]G2 tiplerin monovalan aşular için problem oluşturacağını ileri sürmüştür (29).

Tcheremenskaia ve arkadaşları 2004–2006 yılları arasında Roma, Çek Cumhuriyeti, Slovenya, Hırvatistan, Arnavutluk ve Bulgaristan'da hastanede yatan ve kliniklere başvuran ciddi akut gastroenteriti olan çocuklarda rotavirus insidansını ve rotavirus genotiplerinin dağılımındaki coğrafik farklılıkları araştırmak amacıyla toplam 1500 rotavirus pozitif dışkı örneğinde RT nested PCR ile G ve P genotipleri belirlemiştir. Çalışma sonucunda katılımcı ülkeler arasında rotavirus genotiplerinin dağılımında coğrafik olarak önemli farklılıklar bulunmuştur. En yaygın genotip kombinasyonları olarak G1P[8], G3P[8], G4P[8] ve G2P[4] %50–85 arasında değişen oranlarda tespit edilmiştir. G9 genotipi % 2–35 oranları arasındadır. G1 veya G4 ile P[4] ve G2 ve P[8] arasında oluşan kombinasyonlar hastaların %3-20'sinde görülen ve muhtemelen reassortment sonucu oluşan nadir görülen kombinasyonlar olarak bildirilmiştir. Nadir görülen genotipler olarak belirlenen G8P[8] ve G10P[6] suşlarının muhtemelen hayvan orjinli olabileceği sonucuna varılmıştır. İki rotavirus suşu ile meydana gelen miks

infeksiyonlar çalışılan hastaların %1,7-14'ünü oluşturmuştur (30).

Yang ve arkadaşlarının Çin'de Ekim 2005-Eylül 2006 tarihleri arasında rotavirus insidansını ve prevalan suşları belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada 322 dışkı örneğinin 101'inde (%31,4) grup A rotavirusları identifiye edilmiştir. En yaygın rotavirus genotiplerini G3P[8] (%62,6) bunu takiben G1P[8] (17,6%), G1+G3P[8] (8,8%), G3P[4] (6,6%), G1P[4] (2,2%) ve G9P[8] (2,2%) olarak belirlemişlerdir. Çalışılan 101 suşun G tiplerinden 67'si G3 (%66,3), 19'u G1 (%18,8), 8'i G1 ve G3 miks infeksiyon (%7,9), 1'i G4 (%1) ve 2'si G9 (%2) olarak bulunmuş ve 4'ü (%4) tiplendirilememiştir. Her iki G ve P tipleri 91 örnekte belirlenebilmiş ve 6 farklı kombinasyon elde edilmiştir (31).

Espul ve arkadaşlarının rotavirus aşısının ortaya çıkmasından önce rotavirus sirkülasyonunun antijenik çeşitliliği hakkında bilgi edinmek amacıyla Arjantin'de yaptıkları çalışmada toplanan 151 rotavirus pozitif dışkı örneğinin 92'sinin G ve P tipleri RT-PCR testi ile belirlenmiştir. Bu 92 örneğin %89'unun tek bir G/P kombinasyonuna sahip olup %9'u G1[P4], %1'i G1[P6], %24'ü G1[P8], %70'i G2[P4] ve %2'si G2[P6] suşlardan oluştuğunu bulmuşlardır. Dokuz örneğin birden fazla G tipi ile tek bir P tipi, 1 örnek iki P tipi ile bir G tipi ve 1 örneğin birçok G ve P tipleri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (32).

Amerika'da Detroit'de Abdel-Haq ve arkadaşlarının çocuklar arasında rotavirusla ilişkili gastroenteriti araştırmak amacıyla yaptıkları bir çalışmada ise 100 çocuktan toplanan dışkı örnekleri ELISA yöntemi ile çalışılmıştır. Rotavirus pozitif örneklerin rotavirus G ve P genotiplerini RT-PCR testi ve nükleotit dizi analizi ile belirlenmiştir. En yaygın genotip prevalansını G1[P4] (%41), bunu takiben G1[P8] (%16) ve G4[P4] (%14) bulunmuştur. G genotiplerinden G1 (%73), G4 (%17,4), G9 (%6,3) ve G2 (%2,8) tespit edilmiştir. P genotipleri ise P[4] (%71) ve P[8] (%29) olarak gözlenmiştir. Örneklerin %20'sinde birden fazla G genotipi olduğunu ve bunlardan 7 tanesinin G1/G9, 3'ünün G1/G2 ve 2'sinin G1/G4 olduğunu bildirmişlerdir. Buldukları bütün miks infeksiyonlar G1 genotipi içermiştir (33).

Rotavirus G9 serotipi bütün dünyada 1996 yılından beri pek çok ülkede yeni

doğan ve çocuklarda Şiddetli akut gastroenteritlerde yüksek oranlarda bildirilmektedir. Japonya'da 1998–1999 yıllarında G9 suşu %11,6 ve 1999–2000 yıllarında %15,6 oranında bulunmuştur. Orta ve Güneydoğu Avrupa'da rotavirusun moleküler epidemiyolojisi ile ilgili çalışmada G9 genotipleri farklı ülkelerde %2–35 arasında tanınmış olup yalnızca Bulgaristan'da G9 suşunun prevalansı %34,3'tür(34).

Dünya genelinde G9 rotavirusları son zamanlardaki yapılan çalışmalarda tüm izolatların %4,1'ini oluşturmaktadır. Çalışmamızda ise dünyada artan sıklıkla görülen G9 rotavirus suşu %17 oranında identifiye edildi (35).

Son yıllarda Avrupa dahil birçok ülkede rotavirus G9 genotipinden başka diğer G1P[4], G2P[8], G6P[9] gibi yaygın olmayan yeni rotavirus suşları sirküle etmekte olup oldukça yüksek oranda bildirilmiştir. Avrupa lkelerinde bu yaygın olmayan rotavirus tiplerinin sıklığı %0–11,3 arasında deđiŐmektedir(39). Arguelles ve arkadaşları Arjantin'de 1996–1998 yılları arasında akut diarezi olan çocuklardan alınan 500 dışkı örneğinin %62'sinde ELISA ile rotavirus antijenini pozitif bulmuŐtur. En yaygın G tipleri G1 %39, G2 %43, G4 %4, P8 %16 ve P4 %71 oranlarında gözlenmiştir. Beklenmeyen en yaygın G-P kombinasyonu G2P[4] %43, oysa dünyada en yaygın bulunan G1P[8] ise %12 oranında bulunmuştur. G1P[4] gibi pek rastlanmayan suşların oranı %14 olup örneklerin %10'unda miks infeksiyon görülmüştür (35).

Antunes ve arkadaşları ise Portekiz'de 2007 kış sezonunda 424 çocuktan %55,2'sinde rotavirus pozitifliğini tespit etmiŐlerdir. En prevalan rotavirus genotipini %68,6 oranla G2P[4] olarak açıklamıŐlardır. Çalışma popülasyonu aŐsız olduğundan G2P[4] baskınlığının aşılama ile ortaya çıkmayacağını ve bu yüksek prevalan rotavirus genotiplerinin normal dolaŐımdaki suşlar olduğunu ileri sürmüşlerdir. Rotavirus genotiplerinin taranmasının rotavirus aşı programlarını bilgilendirmek yönünden önemli olduğunu savunmuŐlardır (36).

Kim ve arkadaşlarının Kore'de 2002–2004 yılları arasında rotavirus aşısının etkinliğini araştırmak amacıyla yaptıkları bir çalışmada Kore'nin farklı bölgelerinde çeşitli hastane, acil servis ve kliniklerinde aktif srveyans çalışması

yürütülmüştür. Çalışmaya dahil edilen 2232 dışkı örneğinin 460'ı (%20.6) rotavirus pozitif bulunmuştur. Rotavirus infeskiyonunun pik yaptığı ay Şubat (%49,5) ayı olarak belirlenmiştir. Rotavirus pozitif olan 460 örneğin 366'sı kliniklere başvuran ve 94'ü hastanede yatan hastalardan oluşmuştur. Genotipleme yapılan rotavirus suşlarının %39'u G9P[8], %24'ü G1P[8], %17'si G3P[8] ve %13'ü G2P[4] olarak bulunmuştur.

Tablo 5.1. Ülkemizde farklı illerde yapılmış Rotavirus prevelans çalışmaları (47)

Şehir	Yıl	Çalışma Ayı	Metot	Yaş (yıl)	Rotavirus sıklığı (%)	Araştırmacı
Ankara	1996	-	ELISA	0 – 14	21,25	Albay ve ark.
Ankara	1995	Kış	ELISA	0 – 14	16,85	Başustaoğlu ve ark.
Ankara	1995	Şubat/Haziran	PAGE	0 – 18	22,09	Özsan ve ark.
İstanbul	2000	Haziran	LA	0 - 5	22,3	Çetin ve ark.
İstanbul	1993	-	EIA, LA, PAGE	0 – 5	25,4	Türkoğlu ve ark.
Eskişehir	1998	Ocak-Şubat	ELISA	0 – 5	17,5	Doğan ve Akgün
İzmir	1999	Eylül	ELISA	0 – 4	35,6	Kurugöl ve ark.
Denizli	2000	Ekim-Nisan	LA	1,5 – 9	40,5	Polat ve ark.

Manisa	2000	Ocak-Aralık	ELISA	0 – 2	17,4	Tünger ve ark.
Şanlıurfa	2001	Haziran 1999- Mayıs 2000	LA	0 – 5	41,1	Ulukanlıgil ve ark.
Konya	2002	Kasım 2000- Nisan 2001	LA, ELISA, PAGE	0 – 3	11, 8 (PAGE)	Altındış ve ark.

Tablo 5.2. Farklı ülkelerde yapılmış Rotavirus prevelans çalışmaları (47)

Ülke	Yıl	Metot	Yaş	Rotavirus sıklığı (%)	Araştırmacı
Çek Cumhuriyeti	1999		0 – 5	23,4	Pazdiora ve ark
Hollanda	Ekim 1999	ELISA	0 – 1	40	Widdowson ve ark
Hindistan	2000	LA, PCR	0 – 5	18,9	Saravanan ve ark
İspanya	1995 – 96	ELISA, PAGE, EM	0 – 5	30	Buesa ve ark
Güney Afrika	1994	RT-PCR, EM	0 – 3	32	Steele ve ark
İngiltere	1990	ELISA, LA	0 – 3	30	İbrahim ve ark
Venezuela	1994	PAGE, ELISA, PCR	0 – 3	14	Callejas ve ark
Slovakya	2000	ELISA	0 – 5	29	Tietzova ve Petrovicon

Güney Nijerya	2001	PAGE	0 – 5	14,3	Adah ve ark
Çin	1998 - 2000	PCR	0 - 3	41	Fang ve ark

Rotavirus diresinin pik yaptığı yaş grubu 13–24 aylık çocuklar olup vakaların %94'ü yaşamın ilk 3 yılında görülmüştür. Kore gibi ılıman iklime sahip ülkelerde rotavirus enfeksiyonu tipik olarak Aralık, Ocak aylarında görülürken bu çalışmada rotavirus enfeksiyonunun Şubat ayında pik yapması ile rotavirusun transmisyonunun gecikmiş olduğunu ve rotavirus transmisyonunun yavaş bir şekilde her yıl kış aylarından bahar aylarına doğru kaydığını ileri sürmüşlerdir (37).

Rotavirus diresinin mevsimsel karakterizasyonu iyi bilinmekte olup ABD'de bu enfeksiyon tipik olarak sonbaharın başlarında başlar ve bahar aylarının başına kadar devam eder. Avrupa'da ise kış ayları boyunca görülür. Karadağ ve arkadaşları Ankara'da rotavirus enfeksiyonunun dağılımını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada rotavirus enfeksiyonunu en yüksek Aralık ayında %55,4 oranında bulmuşlardır (38).

Bölgemizde 2009 yılında altı yaş altı akut gastroenteritli çocuklardan toplanan 150 dışkı örneğinden hızlı, kalitatif kromatografik test yöntemiyle 60 (%40) rotavirus antijeni pozitif bulundu. 95 hastadan çalıştığımız PCR çalışmamızda ise 15 PCR pozitif hastamız oldu. PCR'da pozitif çıkan 15 hastanın 13'ü ELISA'da da pozitif çıkmıştı. ELISA'da 150 hastada 60 pozitif hastamız vardı, PCR'da sayının az çıkması yanlış saklama koşulları, ELISA'da yalancı pozitiflik gibi sebepler olabilir.

Literatürle uyumlu olarak bizim çalışmamızda da Rotavirusun en sık görüldüğü dönem Şubat ayıydı. Hastalarımızın hepsinde en sık görülen semptom ishaldi ve bununla birlikte kusma, karın ağrısı ve ateşte görülmekteydi.

Norovirusla ilişkili salgınlar son birkaç yılda çok önem kazanmıştır. Özellikle Avrupa Birliği Ülkeleri, ABD, Çin ve Japonya'da norovirus ile ilgili detaylı çalışmalar yapılmaktadır. Hollanda Ulusal Halk Sağlığı ve Çevre Enstitüsü

(RIVM), 2004 yılı sonlarında Hollanda'nın farklı yerlerinden ve diğer ülkelerden bildirilen Norovirus olgularındaki (salgınlarındaki) beklenmedik artışa dikkat çekmiştir. Enstitünün hazırlamış olduğu raporda 2002 yılında da benzer bir durumla karşılaşıldığı ve hem Avrupa hem de Amerika'dan bildirilen Norovirus salgınlarında o yıl bir artış kaydedildiği ifade edilmektedir. Salgınlarda 2002 yılındaki büyük artış G II.4 genotipinde yeni bir varyant norovirusu ile ilişkilendirilmiştir. Hollanda'da 2004 yılında analizi yapılmış salgınlarda ise saptanan Norovirus türünün G II.4 genotipi içinde yeni bir dal (GII.4-2004) olduğu bildirilmiştir. Yapılan araştırmalar, G II.4 genotipinin epidemiyolojik eğilimli olduğunu düşündürmektedir (40).

Danimarka'da Haziran-Eylül 2005'te Polonya'dan ithal dondurulmuş ahududu kaynaklı altı farklı noktada norovirus salgınları saptanmıştır. Bu salgınlarda etken olan Norovirus türleri G II.7, G II.4 ve G II.b olarak belirlenmiştir. Her salgında izole edilen türlerin kendi içinde identik ancak farklı salgınlarda ise farklı genotiplerin tanımlanması kaynağın aynı olmadığını düşündürmüştür daha sonra tek bir seri olarak üretilen ahududuların aslında farklı çiftliklerden toplanarak hazırlandığı anlaşılmıştır. Kaynağın kanalizasyon ile karışmış sulama suyu olabileceği ya da virusun çiftliklerde veya ürünün işlenmesi aşamasında çalışan işçilerden fekal-oral yol ile bulaşmış olabileceği üzerinde durulmaktadır. Avusturya'nın Salzburg şehrinde meydana gelen salgında ise bir turist grubu etkilenmiş, salgının önce gıda kaynaklı olduğu düşünülse de yapılan epidemiyolojik çalışmalar sonucunda salgından etkilenen kişilerde yağış sonrası şehirde meydana gelen su baskınları sırasında kanalizasyon suyu ile temas etme öyküsü tespit edildikten sonra salgının su kaynaklı olduğuna karar verilmiştir (41).

Haziran- Ağustos 1998 yılları arasında, Mexico City'nin varoşlarında yaşayan 63 çocuk asemptomatik norovirüs (NoV) enfeksiyonu için incelendi. NoV 161 dışkı örneğinin 48'inde saptandı. (%29,8). 31 çocuğa (%49,2) en az bir pozitif dışkı tesbit edildi. Meksika pediatrik popülasyonunda asemptomatik NoV enfeksiyonu yaz mevsiminde sıklıkla gözlemlendi. (42)

Haziran – Kasım 2004 tarihleri arasında Brezilya'nın güneydoğusunda, Espirito Santo eyaletinde, Victoria city'deki bir pediatrik hastanede NoV ve RV'nin

68 hospitalize çocuktaki prevalansını saptamak amacı ile yapıldı. Guanidin silika işlemini takiben fekal suspansiyondan nükleik asit ekstrakte edildi. Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) ve poliakrilamid jel elektroforezi NoV ve RV saptanması amacı ile uygulandı. RV genotiplemesi, en prevalan tipler olan G ve P için, RT-PCR yöntemini takiben yarıkümeli, spesifik primerli multipleks PCR kullanılarak gerçekleştirildi. Fekal örnekler NoV ve RV için sırasıyla % 39,7(27/68) ve % 20,5 (14/68) pozitif izlendi. Bu iki virus birlikte tüm vakaların %60'ından (41/68) sorumlu idi. RV genotipleri: %50 G9P(8), % 28,7 G2P(4), % 7,1 G1P(8), G2P(8) ve G?P(8) idi. Kusma, sırasıyla NoV ve RV vakalarının % 92 ve %85'inde gözlenen bir semptomdu. NoV ve RV ile enfekte hastaların median hospitalizasyonu sırasıyla 5 ve 5,5 gündü. Veriler, NoV'un RV'den daha üstün olduğunu ve G2P(4)'ün takip ettiği RV G9 genotipinin ortaya çıkmasını doğruladığını ve RV genotipinin gözetme gerekliliğini pekiştirdiğini gösterdi (43).

Ocak 2003 ile Haziran 2005 arasında yapılan prospektif çalışma, diyare nedeni ile dispanserlere başvuran (380 çocuk) ya da hospitalize edilmiş (252 çocuk) 632 Tunuslu çocukta, infantil gastroenteritten sorumlu çeşitli enterik virüslerin insidansını ve klinik rolünü araştırdı. Her 276 örnekte en az bir enterik virüs bulundu. (%43.7) 234 örnekte tek bir patojen, 42 örnekte ise mikst enfeksiyon tesbit edildi. Sıklık sırası ile rotavirüs (%22,5) ve norovirüs (% 17,4) , astrovirüs (%4,1), Aichi virüs (%3,5), adenovirüs tip 40 ve 41 (%2,7) ve sapovirüs (%1,0) örnekte tespit edildi. Viral gastroenteritin mevsimsel dağılımına bakılacak olursa, kış aylarında pik yaptığı ancak Mayıs – Aralık ayları arasında da beklenmedik bir pik yaptığı görüldü. Hospitalize infantlarda diyarenin şiddeti değerlendirildi. İnsidans ve hastalığın klinik şiddeti - özellikle dehidratasyon - bakımından rotavirüs ve norovirüs arasında belirgin bir fark gözlenmedi (44).

Bölgemizde 2009 yılında altı yaş altı akut gastroenteritli çocuklardan toplanan 92 dışkı örneğinden ELISA testi sonucu 18 (%19,5) nörovirus antijeni pozitif bulundu. Hastalarımızın hepsi ishaldi ve eşlik edem semptomlar olarak ateş, karın ağrısı ve kusma da görülmekteydi. Çalışmamızda Norovirusun pik yaptığı ay aşağıdaki şekilde görüldüğü gibi Ocak ayıydı.

Adenovirüsler toplumda akut diyare episodlarının %4'ünde (%2 – 6), hastaneye kaldırılan çocukların %2 – 22'sinde tanınır. Ayrıca asemptomatik kontrollerin %1 – 2'si adenovirüs yayar. Hastanelerde salgınlar bildirilmiştir. Enterik adenovirüs infeksiyonunun en sık 2 yaşın altındaki çocuklarda olur. Adenovirüs tip 40 ve 41 infeksiyonuna yakalanma için ortalama yaş sırasıyla 12 ve 19 aydır. Fakat daha büyük çocuklar ve erişkinler de infekte olur. Enterik adenovirüsler tip 40 ve 41 infeksiyonları mevsimsel bir özellik göstermeksizin bütün yıl boyunca görülebilir.

Bölgemizde 2009 yılında altı yaş altı akut gastroenteritli çocuklardan toplanan 122 dışkı örneğinden hızlı, kalitatif kromatografik test yöntemiyle 6 (%4.9) adenovirüs antijeni pozitif bulundu. Pozitif hastaların 2'si Ocak, 2'si Mart, 1'i Eylül, 1'i de Aralık ayında pozitif bulundu. 122 hastanın hepsinde ishal mevcuttu. Pozitif hastaların hepsinde karın ağrısı ve ateş vardı.

Bölgemizde bu etkenin mevsimsel olarak önceki çalışmalar ile uyumlu bir seyir gösterdiği ve bu tip semptomu olan hastalarda dikkate alınması gereken bir etyolojik ajan olarak kabul edilmesi faydalı olacaktır. Şüpheli olgularda bu etkene yönelik örnek toplama ve testler yapılamıyorsa bile referans bir merkeze gönderilerek incelemenin yapılmasının yerinde olduğu düşünülmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çocukluk dönemi enfeksiyonları arasında morbidite bakımından solunum yolu enfeksiyonlarından sonra gastroenteritler gelmektedir. Gastroenteritlerin büyük bir kısmından da virüsler sorumludur. Gastroenteritlerin yenidoğan ve çocuklarda sporadik olarak görülen klinik formunda major patojenin virüsler olduğu bildirilmektedir. Rotavirüs tüm dünyada özellikle beş yaş altındaki ishallerde en sık görülen etiyolojik ajandır. Bebekler ve çocuklardaki gastroenteritlerin rotavirüslerden sonra diğer sık görülen nedenlerinden ikisi de adenovirus ve nörovirustur.

Bölgemizde 2009 yılında 6 yaş altı akut gastroenteriti olan 150 çocukta rotavirus, 122 çocukta adenovirus ve 96 çocukta nörovirus çalışıldı.

1. Altı yaş altı akut gastroenteritli çocuklarda rotavirus enfeksiyonunun insidansı %40 olup hemen hemen her çocuk 6 yaşına kadar rotavirus enfeksiyonuna maruz kalmıştır.
2. Çalışmaya dahi edilen toplam 150 hastanın yaş grupları 10 günlükten 6 yaşına kadar değişmekte olup rotavirus enfeksiyonu en çok 6 – 24 ay arasındadır. Rotavirus enfeksiyonunun pik yaptığı aylar Ocak ve Şubat ayları arasında belirlenmiştir.
3. ELISA testi sonucu toplam 92 hastanın 21'inde (%22.8) nörovirus antijeni pozitif bulundu ve Ocak ayı nörovirusun en çok görüldüğü aydı.
4. Adenovirus çalışmamızda ise 122 hastanın 6'sında(%4.9) pozitif bulunmuştur.

Sonuç olarak; Afyonkarahisar bölgesindeki viral gastroenteritlerde en sık rastlanan virus rotavirustur, ikinci sıklıkta nörovirus ve üçüncü sıklıkta adenovirustur.

Öneriler; Özellikle kış aylarında ishal ve kusma ile gelen çocuklarda öncelikle rotavirus ardından da nörovirusun çalışılması gerektiği düşünülmüştür.

7. KAYNAKLAR

1. Altındış M “*Rotavirus infeksiyonları ve Epidemiyolojisi*” *TMC Mikrobiyoloji Haber Dergisi* **3:8–10 (2006)**.
2. Bishop RF, Davidson GP, Holmes IH. *Detection of a new virus by electron microscopy of fecal extracts from children with acute gastroenteritis*. *Lancet*, **1974; 1: 149 – 151**
3. Entes MK, Kapikian AZ. *Virology*. Hong Kong, **2007, 1917 – 1952**
4. Bishop RF. *Natural history of human rotavirus infections*. *Arch Virol Spp*, **1996; 12: 119 – 128**

5. Flewett T, Bryden A, Davies H. *Relation between viruses from acute gastroenteritis children and newborn calves. Lancet, 1974; 2: 61 – 63*
6. Franco MA, Angel J, Greenberg HB. *Immunity and correlates of protection for rotavirus vaccines. Vaccine, 2006; 24(15): 2718 – 31*
7. Manuel A. Franco A, Angel J, Harry B. Greenberg. *Immunity and correlates of protection for rotavirus vaccines, Vaccine, 2006; 2718 – 2731*
8. Perez N. *Rotavirus gastroenteritis; why to back up the development of new vaccines? Comp immunol Microbiol Infect Dis, 2008; 31(2 – 3): 253 – 69*
9. Manuel A, Franco A, Angel J, Harry B. Greenberg. *Immunity and correlates of protection for rotavirus vaccines, Vaccine, 2006; 2718 – 2731*
10. Bernstein DI, Smith VE Sander DS. *Evaluation of WC3 rotavirus vaccine and correlates of protection in healthy infants. J Infect Dis 1990; 162: 1055- 62*
11. Perez – Schael I. *Efficacy of the rhesus rotavirusbased quadrivalent vaccine in infants and young children in Venezuela. N. Engl. J. Med. 1997; 337, 1181 – 118*
12. Murphy T, Gargiullo PM, Massoudi MS. *Intussusception among infants given an oral rotavirus vaccine. N. Engl. J. Med. 2001; 344: 564 – 72*
13. Ceyhan M. *Rotavirus aşılıarı. ANKEM Derg 2006;20(Ek 2): 52 – 55*
14. Altındış M. *Nörovirus, medimagazin.com.tr/img/haber/norovirus.doc*
15. Vesikari T. *Safety and efficacy of a pentavalent human – bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine. N. Engl. J. Med.2006; 354, 23 – 33*
16. Clark A. *The cost – effectiveness of rotavirus vaccine in Peru and Bengaldes. 7th International Rotairus Symposium, Lisbon; 2006. p. 12 – 3*
17. Vesikari T. *Effects of the potency and composition of the multivalent human – bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine on efficacy, safety and immunogenicity in healthy infants. Vaccine 24, 2006; 4821 – 4829*

18. Hyser JM, Estes MK. *Rotavirus vaccines and pathogenesis*, 2008. *Curr Opin Gastroenterol*, **2009**; **25(1)**: 36 – 43
19. Wood D. *WHO informal consultation on quality, safety and efficacy specifications for live attenuated rotavirus vaccines Mexico City, Mexico, 8 – 9 February 2005*. *Vaccine*, **2005**; **23**: 5478 – 87
20. Dennehy PH, *Rotavirus vaccines: an Overview*. *Clin Microbiol Rev*, **2008**; **21(1)**: 198 – 208
21. Buttery JP, Kirkwood C. *Rotavirus vaccines in developed countries*. *Curr Opin Infect Dis*, **2007**; **20(3)**: 253 – 8
22. Vesikari T, Karvonen A, Puustinen L. *Efficacy of RIX4414 live attenuated human rotavirus vaccine in Finnish infants*. *Pediatr Infect Dis J*, **2004**; **23**: 937–43.
23. Ruiz Palacios G, Perez Schael I, Velazquez FR. *Safety and efficacy of an attenuated vaccine against severe rotavirus gastroenteritis*. *N Engl J Med*, **2006**; **354**: 11–22.
24. Dennehy PH, *Rotavirus Vaccines: an Overview*. *Clin Microbiol Rev*, **2008**; **21(1)**: 198–208.
25. Yarkın F. *Gastroenterit virusları*. *Moleküler, klinik tanısal viroloji*, **2006**; **S233–262**.
26. Brown KA, Kriss JA, Moser CA, Wenner WJ, Offit PA. *Circulating rotavirus-specific antibody-secreting cells (ASCs) predict the presence of rotavirus-specific ASCs in the human small intestinal lamina propria*. *J Infect Dis*, 2000; **182(4)**: 1039–43.
27. Gray J, Vesikari T, Van Damme P, Giaquinto C, Mrukowicz J, Guarino A, Dagan R, Szajewska H, Usonis V. *Rotavirus*. *J Pediatr Gastroenterol Nu*, **2008**; **46**: S24–31.

28. Parez N. *Rotavirus gastroenteritis: why to back up the development of new vaccines? Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 2008;**31(2-3):253-69.**
29. Flewett T, Bryden A, Davies H. *Relation between viruses from acute gastroenteritis of children and newborn calves. Lancet*, 1974;**2:61-63.**
30. Brown KA, Kriss JA, Moser CA, Wenner WJ, Offit PA. *Circulating rotavirus-specific antibody-secreting cells (ASCs) predict the presence of rotavirus-specific ASCs in the human small intestinal lamina propria. J Infect Dis*, 2000; **182(4):1039-43.**
31. Matthijnssens J, Ciarlet M, Rahman M, Attoui H, Bányai K, Estes MK, Gentsch JR, Iturriza-Gómara M. *Recommendations for the classification of group A rotaviruses using all 11 genomic RNA segments. Arch Virol*, 2008; **153:1621-1629.**
32. Flewett T, Bryden A, Davies H. *Relation between viruses from acute gastroenteritis of children and newborn calves. Lancet*, 1974;**2:61-63.**
33. Tcheremenskaia O, Marucci G, Ruggeri FM, Dovecar D. *Molecular Epidemiology of Rotavirus in Central and Southeastern Europe. J. Clin. Microb.*2007; **2197-2204, Vol. 45, No. 7.**
34. Wuhan, China. Yang J, Wang T, Wang Y, Lu B, Bai X, Zhang L, Wang M, Wang H. *Emergence of human rotavirus group a genotype G9 strains. Emerg Infect Dis.* 2007;**13(10):1587-9.**
35. Iturriza-Gómara M, Isherwood B, Desselberger U, Gray J. *Reassortment in vivo: driving force for diversity of human rotavirus strains isolated in the United Kingdom between 1995 and 1999. J Virol.*2001;**75(8):3696-705.**
36. Abdel-Haq NM, Thomas RA, Asmar BI, Zacharova V, Lyman WD. *Increased prevalence of G1P[4] genotype among children with rotavirus-associated gastroenteritis in metropolitan Detroit. J Clin Microbiol.* 2003; **41(6):2680-2.**

37. Zhou, Y, Okitsu S, Maneekarn N. *Distribution of human rotaviruses, especiall G9 strains, in Japan from 1996 to 2000. Microbiol. Immunol, 2003; 47:591–599.*
38. Kim JS, Kang JO, Cho SC, Jang YT, Min SA, Park TH, Nyambat B, Jo DS, Gentsch J, Bresee JS, Mast TC, Kilgore PE. *Epidemiological profile of rotavirus infection in the Republic of Korea: results from prospective surveillance in the Jeongeub District, J Infect Dis. 2005; 1:S49-56.*
39. Karadag A, Acikgoz ZC, Avcı Z, Catal F, Gocer S, Gamberzade S, Ura. *Childhood diarrhoea in Ankara, Turkey: epidemiological and clinical features of rotavirus-positive versus rotavirus-negative cases. J Infect Dis, 2005;37(4):269–75.*
40. Desselberger U, Wolleswinkel-van den Bosch J, Mrukowicz J. *Rotavirus types in Europe and their significance for vaccination. Pediatr Infect Dis J, 2006;25:S30–41.*
41. Anthony C. Ike, Stefan O. Brockmann, Kathrin Hartelt. *Molecular epidemiology of Norovirus in Outbreaks of Gastroenteritis in Southwest Germany from 2001 to 2004. Journal of Virological Methods 137 (2006) 259 – 265*
42. A. Angelica Trujillo, Karen A. McCaustland, Du-Ping Zheng, Leslie A. Hadley. *Use of TaqMan Real-Time Reverse Transcription-PCR for Rapid Detection. Journal of Clinical Microbiology, Oct. 2006, p. 3695 – 3702*
43. Garnt S, Katayama K, Maneekarn N, Peerakome S. *Genetic Diversity of Norovirus and sapovirus in Hospitalized Infants with sporadic Cases of Acute Gastroenteritis in Chiang Mai. Journal of Clinical Microbiology, Mar. 2004, p. 1305 - 1307*
44. Leandro Rua ribeiro, Rafeal Souto de Oliveira Guiberti, Debora Maris Pires Gonçalves Barreira. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 101(7): 721 – 724, november 2006*

45. Chiris I Gallimore, David Cubitt, Nelita Du Plessis, and Jim J Gray. *Asymptomatic and Symptomatic Excretion of Noroviruses during a Hospital Outbreak of Gastroenteritis. Journal of Clinical Microbiology, May 2004, p. 2271 – 2274*
46. Altindis M, S Yavru, A Simsek, A Ozkul, A Ceri and H Koc “*Rotavirus Infection in Children with Acute Diarrhea as Detected by Latex Agglutination, ELISA and Polyacrylamide Gel Electrophoresis*” *Indian Pediatrics* **41(6):590-4, (2004).**
47. Altındış M, G Beştepe, A Çeri, S Yavru, R Kalaycı “*Akut İshal yakınmalı çocuklarda rota ve enterik adenovirus sıklığı*” *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg.* **15(2): 17-2 (2008).**
48. Altindis M, K Bányai, R Kalayci, C Gulamber, R Koken, T Apan, E Koçoğlu, A Bukulmez, Y Yoldas, P Aykurt. *Rotavirus surveillance in mid-western Turkey, 2006-2007. Central European J Of Medicine.* **2009. DOI. 10.2478/s11536-009-0130-6.**
49. Altındış M, Baştepe G, Çeri A, Yavru S, Kalaycı R. *Akut ishal yakınmalı çocuklarda rota ve enterik adenovirus sıklığı.* *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg.* **15(2): 17 – 2 (2008)**

Ek 1. Çocuklarda viral gastroenterit sorgulama formu

Sıra no:

ÇOCUKLARDA VİRAL GASTROENTERİT SORGULAMA FORMU

Ad soyad : **Dosya No:**
Cinsiyet :
Yaş :
Adres-tel :
Evde yaşayan kişi sayısı:

Ailenin gelir düzeyi: () Çok Düşük () Düşük () Orta () İyi () Çok İyi
Anne eğitim düzeyi: () Okur yazar değil () okur yazar () İlkokul () Orta-lise
() Üniversite
Baba eğitim düzeyi: () Okur yazar değil () okur yazar () İlkokul () Orta-lise
() Üniversite
Anne sütü alıp almadığı : () almadı () aldı Süresi:
Beslenme şekli: () Ek gıda () Anne sütü () Hazır mama () Bisküvi-cikolata
() Erişkin gıdası
İçme suyu : () Şehir şebekesi () Kuyu () Şişe-Damacana suyu
() Kaynatılıyor mu
Daha önce ishal oldu mu? Hangi tarihte:..... Özellikleri:.....
Son bir ay içinde ailede ishal geçiren oldu mu: () Evet () hayır
Oldu ise kim ?....., Hastalık nasıl tedavi edildi?.....
Son bir ay içinde başka bir nedenle hastaneye yatırıldı mı : () Evet () hayır
Halen Şikayeti : İshal : () kaç günden beri.....Günde kaç Kez:.....
Kusma : () kaç günden beri..... Günde kaç Kez:.....
Karın ağrısı : () kaç günden beri.....
Ateş varsa kaç derece :.....() kaç günden beri.....
Dehidratasyon : () yok () %1-5 arası () % 6-10 %10
üzeri
Tedavisi : () almadı () IV rehidratasyon () ORS
Davranışsal yakınmalar : () Letarji () kaç gün.....
() irritabilite () kaç gün.....
() Konvulzyon () kaç gün.....

İshal :
Makroskopi : Kanlı() Mukuslu() Bol sulu()

Mikroskopi :Rengi :
:Lokosit.....
Eritrosit.....
Kist-trofozoit.....