

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**5 YAŞ ALTINDAKİ ÇOCUKLARDA
HASTANE KAYNAKLI ROTAVİRUS ENFEKSİYON SIKLIĞI,
ENFEKSİYON GELİŞİMİ ÜZERİNDE ETKİLİ FAKTÖRLER VE
VİRUSUN TIPLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. ŞERİFE MEHTAP (OLCAR) KANBUR**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. BUKET DALGIÇ**

**ANKARA
ARALIK 2010**

İÇİNDEKİLER

İçindekiler	i
Kısaltmalar Dizini	iv
Şekiller Dizini	v
Tablolar Dizini	vii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Rotavirus	3
2.1.1. Tarihçe	3
2.1.2. Rotavirusun sınıflandırılması ve yapısı	4
2.1.2.1. Rotavirus'un yapısı	4
2.1.2.1.1. Yapısal proteinleri	5
2.1.2.1.2. Yapısal olmayan proteinleri	6
2.1.2.1. Rotavirus'un sınıflandırılması	8
2.1.3. Rotavirus enfeksiyonunun epidemiyoloji	10
2.1.4 Rotavirus'un bulaşma yolları	14
2.1.5. Rotavirus ishalinde patogenezi	15
2.1.6. Rotavirus'un immunolojisi	17
2.1.7. Rotavirus enfeksiyonunun klinik özellikleri	20
2.1.8 Rotavirus'un tanı yöntemleri	22
2.1.9. Rotavirus enfeksiyonunun tedavisi	24
2.1.10. Rotavirus hastalığının ekonomik yükü	25
2.1.11. Rotavirus enfeksiyonundan korunma	26
2.2. Hastane kaynaklı enfeksiyonlar	28
2.2.1. Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonlarının sıklığı	30

2.2.2.	Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonlarının risk faktörleri	32
2.2.3.	Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonlarının klinik özellikleri	32
2.2.4.	Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonlarının ekonomik yükü	34
2.2.5.	Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonları için önlemler	34
3.	GEREÇ VE YÖNTEM	36
3.1.	Rotavirus antijen ELISA testinin yapılışı	37
3.2.	Dışkı örneklerinden RNA'nın ekstraksiyonu	39
3.3.	Rotavirusun VP7 ve VP4 genomunun tespiti için iki aşamalı RT-PCR testi	40
3.3.1.	Rotavirusun G genotiplemesi için iki aşamalı RT-PCR testi	41
3.3.2.	Rotavirusun P genotiplemesi için iki aşamalı RT-PCR testi	43
3.4.	Agaroz Jel Elektroforezi	46
3.5.	Poliakrilamid jel elektroforezi ile elektrofenotiplendirme	47
3.5.1.	Poliakrilamid jel elektroforezi solüsyonlarının hazırlanması	48
3.5.2.	Poliakrilamid jel elektroforezinin hazırlanması	50
3.6.	Hastaların gruplandırılması ve değerlendirilmesi	53
3.7.	Verilerin analizi	53
4.	BULGULAR	55
5.	TARTIŞMA	69

6. SONUÇLAR	84
7. KAYNAKLAR	86
8. ÖZET	101
9. SUMMARY	103
10.EKLER	105
11.ÖZGEÇMİŞ	106

KISALTMALAR DİZİNİ

DLP	Double-Layered Particle
ELISA	Enzyme-Linked İmmunsorbent Assay
EM	Elektron mikroskobi
ENS	Enterik Sinir Sistemi
ER	Endoplazmik Retikulum
HT	Hidroksi triptamin
LA	Lateks aglütinasyon
NSP	Non structurel protein
ORS	Oral Rehidratasyon Sıvısı
ORT	Oral Rehidratasyon Tedavisi
ORF	Open reading frame
PCR	Polymerase Chain Reaction
PAGE	Poliakrilamid jel elektroforezi
RNA	Ribonükleik asit
RT	Revers transkripsiyon
SG I	Subgrup I
SG II	Subgrup II
TLP	Triple-Layered Particle
DSÖ	Dünya sağlık örgütü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Rotavirus parçacıklarının dışkıda immun EM tarafından görüntülenmesi	4
Şekil 2.2. Rotavirusun 11 genomik bölgesinin poliakrilemid jel elektroforezindeki görünümü	5
Şekil 2.3. Rotavirusun şematik görünümü	6
Şekil 2.4. Rotavirus suşlarının adlandırılması	9
Şekil 2.5. İnsan grup A rotavirus P-G tiplerinin dağılımı	10
Şekil 2.6. Rotavirus nedeniyle görülen ölümlerin dağılımı	11
Şekil 2.7. Rotavirus enfeksiyonunun dünya çapındaki prevalansı ve sonuçlarına ilişkin veriler	12
Şekil 2.8. Rotavirusla enfekte barsak epitel hücresindeki olaylar	17
Şekil 3.1. ELISA plağı	38
Şekil 3.2. Spektrofotometre	38
Şekil 3.3. ELISA yıkama cihazı	39
Şekil 3.4. Spektrofotometre	39

Şekil 3.5. Thermal Cyclers	40
Şekil 3.6. Dikey jel elektroforez cihazının görünümü	53
Şekil 4.1. Olguların yaş gruplarına ve rotavirus antijen varlığına göre dağılımı	57
Şekil 4.2. Olguların aylara göre dağılımı	58
Şekil 4.3. Rotavirusların G tiplerinin görünümü	66
Şekil 4.4. Rotavirusların P tiplerinin görünümü	67
Şekil 4.5. Rotavirusların PAGE ile dikey elektroforezle elektrofenotiplemeesi	67

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1. Grup A rotaviruslarının yapısal olan ve olmayan proteinlerinin yeri ve fonksiyonu	7
Tablo 2.2. Ülkelerdeki hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonlarının sıklığı	31
Tablo 4.1. Rotavirus görülmesinde yaş ve cinsiyet etkilerinin incelenmesi	56
Tablo 4.2. Olguların mevsimsel dağılımı	58
Tablo 4.3. Olguların yatış nedenlerine göre dağılımı	59
Tablo 4.4. Olguların klinik bulgulara göre karşılaştırılması	61
Tablo 4.5. Rotavirus pozitifliği üzerinde etkili olabilecek faktörlerin etkilerinin incelenmesi	65
Tablo 4.6. Rotavirus saptanan olgularda rotavirus tipleri yönünden olguların dağılımı	68

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Rotavirus bütün dünyada yeni doğan ve küçük çocuklarda görülen akut gastroenteritin en yaygın ve önemli sebeplerinden biridir. Dünyada her yıl yaklaşık 2 milyon çocuk bu nedenle kaybedilmektedir ve bu ölümlerin 600.000 kadarında etken rotavirustur (1).

Rotavirus enfeksiyonları, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde benzer sıklıkta görülür, ancak sonuçları farklıdır. Gelişmiş ülkelerde rotavirus enfeksiyonuna bağlı ölüm oranları düşük olmasına rağmen, hastaneye yatış oranları oldukça yüksektir. Gelişmekte olan ülkelerde ise, ölüm oranları da yüksek olup, bunu etkileyen en önemli faktör malnütrisyonudur. Rotavirus enfeksiyon sıklığının gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde benzer olması, kişisel ve toplumsal hijyenin iyileştirilmesi ve sanitasyon uygulamalarının, rotavirus enfeksiyonunu önlemede çok etkili olmadığını göstermektedir. Bu nedenle aşılanmanın önemi artmaktadır (2).

Çocuklarda hastane kaynaklı gastroenteritler erişkinlere göre daha sıktır. Bu olguların %90'ından fazlası viral nedenlere bağlıdır ve rotavirus ilk sırayı almaktadır. Çeşitli çalışmalarda hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonun görülme sıklığı % 14 ile % 51 arasında değişmektedir (3). Gelişmiş ülkeler için sıklık ortalama %27 (%14-51), gelişmekte olan ülkeler için %32 (%16-43) olarak bildirilmektedir (3). Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu, kış ve ilkbahar başlarında yoğunlaşmaktadır. Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu gelişimi ile ilişkili olduğu düşünülen faktörler, hastanede yatış süresi, altta yatan başka bir

kronik hastalık varlığı, malnütrisyon varlığı, yapılan girişimler, beslenme tipi gibi özellikler olup, bu konuda yapılmış çalışma sayısı fazla değildir. Bu enfeksiyonlar, hastane kalış süresi, ek ilaç tedavileri, servis kapanma/açılış önlemleri, personel kontaminasyonu ve aile bireyleri ve personelin çalışma iş günü kaybı nedeniyle ekonomik kayıplar oluşturur (4). Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonlarının neden olduğu ölümler konusunda yeterli bilgi yoktur (5). Hastane kaynaklı enfeksiyonları oluşturan rotavirus tipleri açısından yapılan araştırmalarda ülkeden ülkeye farklılık görülmekle birlikte en yaygın tipler G9P[8] ve G1P[8] olarak bildirilmiştir (6).

Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu ile ilgili çalışmaların çoğu geriye dönük veya belirli mevsimlere yada salgın dönemlerine kısıtlı olacak biçimde planlanmıştır. İleriye dönük ve iyi planlanmış çalışma sayısı çok azdır. Bu çalışmanın amacı, hastanemizde yatarak izlenen 1-60 ay arası çocuklarda hastane kaynaklı rotavirus ishali sıklığının belirlenmesi, enfeksiyon gelişimini etkileyen faktörlerin saptanması ve bu olgularda rotavirüs serotiplerinin belirlenmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Rotavirus

2.1.1. Tarihçe

Küçük çocuklarda, yüzyıllar boyunca, ölüm nedenlerinin ilk sıralarında akut ishal yer almıştır (7).

1929 yılında çoğunlukla küçük çocuklarda ve mama ile beslenen bebeklerde görülen "kış kusma hastalığı" tanımlanmış ve sebebinin viral enfeksiyon olabileceğini ileri sürülmüştür (8). Ancak, 1970' li yıllara dek ishal ve ağır sıvı kaybı ile hastaneye yatırılan olguların yaklaşık % 80'inde etyolojik ajan tanımlanamamıştır (7).

İlk kez 1943 yılında, Jacob Light ve Horace Hodes, bebekler arasında görülen ishal salgını sırasında dışkılarından filtre edilen ajanların, sığırlarda da ishale neden olduğunu bulmuşlardır (9). Fakat bu ajan mevcut hücre sistemlerinde uzun süre üretilmemiş ve gösterilememiştir (10).

Mayıs 1973'de Ruth Bishop elektron mikroskopisini (EM) kullanarak akut gastroenteritli çocuklarda duodenal mukozanın ultra ince kesitlerini incelemiş ve villuslarda, 70 nm büyüklüğünde viral parçacıkları tanımlamıştır (11). Bu parçacıklar başlangıçta reovirüs benzeri, orbivirüs benzeri, duovirüs, infantil gastroenterit virüs veya 'yeni' virüs gibi yeni isimlerle anılmıştır. Thomas Henry

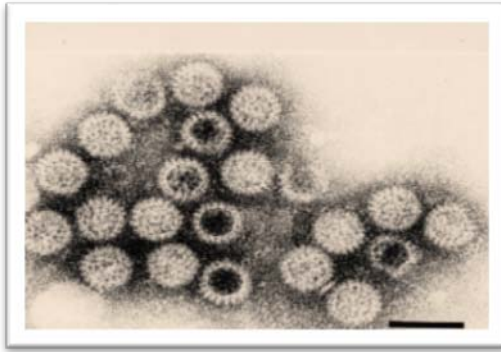
Flewett EM yoluyla virusleri inceledikten sonra tekerleğe benzemesinden dolayı “rotavirus” ismini teklif etmiş ve bu isim Uluslararası Virüslerin Sınıflandırılması Komitesi tarafından resmen kabul edilmiştir (12).

İnsan rotavirusu, ilk kez maymun böbreğinden elde edilen ve tripsin eklenen hücre kültürlerinde üretilmiştir. Rotavirus serotipleri ise ilk kez 1980’de tanımlanmıştır. İlerleyen yıllarda, daha kolay ve uygun tanısal tekniklerin gelişmesi ile birlikte, çocukluk çağı ishalinin en yaygın sebebi olarak bilinen rotavirus hakkında önemli bilgiler elde edilmiştir (13).

2.1.2 Rotavirus’un yapısı ve sınıflandırılması

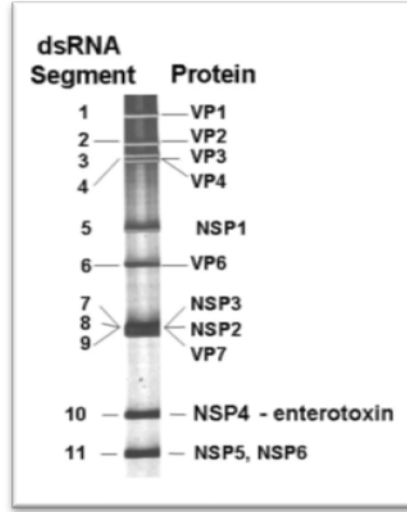
2.1.2.1. Rotavirus’un yapısı

Rotavirus, Reoviridae ailesinin Rotavirus cinsinin üyesidir (14). EM’de rotavirusun tekerleğe benzeyen yapısından dolayı, Latince tekerlek anlamına gelen “rota” ismi verilmiştir (15)(Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Rotavirus parçacıklarının dışkıda immun EM tarafından görüntülenmesi

Rotavirusler, 70 nm çapında, zarfsız, üç tabakadan (TLP= triple layered particle) oluşan ikozohedral virüslerdir. Çift zincirli RNA genomu 11 bölgeden oluşur, 2 open reading frame (ORF) ile 2 proteini kodlayan 11. bölge dışında, her bir bölge bir viral protein kodlar. Viral proteinler, altı yapısal (Viral Proteinler; VP1, VP2, VP3, VP4, VP6, VP7) ve altı yapısal olmayan (Non-strüktürel protein; NSP1, NSP2, NSP3, NSP4, NSP5, NSP6) proteinden oluşur (16)(Şekil 2.2).



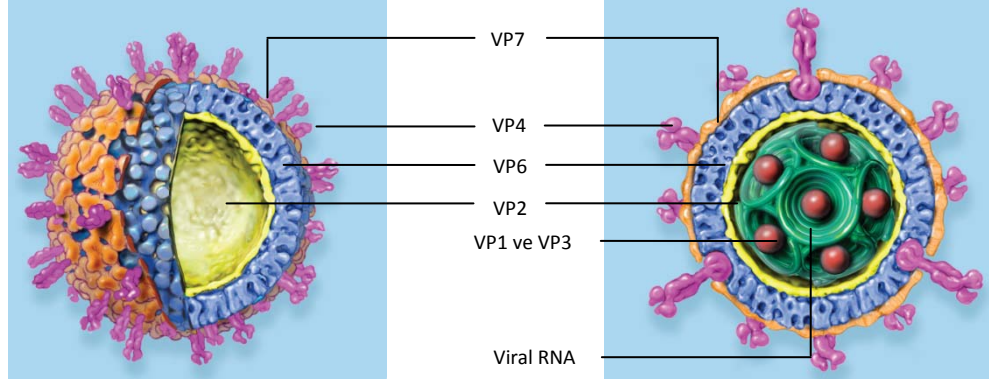
Şekil 2.2. Rotavirusun 11 genomik bölgesinin poliakrilamid jel elektroforezindeki görünümü

2.1.2.1.1. Yapısal proteinleri

Rotavirus'un dış tabakasını, VP4 ve VP7, proteinleri, orta tabakasını VP6 proteini oluşturur (17). Viral çekirdek VP1, VP2, VP3 proteinlerini içerir (18)(Şekil 2.3).

VP1, RNA polimeraz aktivitesine sahiptir. VP2, dsRNA sentezi için gereklidir. VP2 proteininin immunojenitesi yüksektir ve VP2'ye karşı gelişen antikorlar geçirilmiş enfeksiyonların tanınmasında kullanılabilir (19). VP3,

guaniltransferaz ve metiltransferaz aktivitesine sahip proteindir (20). VP4, virionun yüzeyinde dikensi yapı şeklinde çıkıntı oluşturur (21, 22). Proteaza duyarlıdır ve tripsinle VP8 ve VP5'e bölünür ve bu bölünme virusun infektivitesini artırır (23). VP4, VP7 ile birlikte hücreye girişten ve tutunmadan sorumludur ve konağın enfeksiyonu sırasında nötralizan antikörlerin oluşmasını sağlar (24). VP6, virüsün en immunojenik ve en bol bulunan proteindir (16)(Tablo 2.1).



Şekil 2.3. Rotavirusun şematik görünümü

2.1.2.1.2 Yapısal olmayan proteinleri

Yapısal olmayan proteinlerden NSP1, rotavirusun çoğalmasında önemli role sahiptir ve rotavirus mesenger ribonükleik asitlerine (RNA) karşı özel duyarlılığı vardır. NSP2 genomun çoğalmasında ve paketlenmesinde görev almaktadır (19) ve NSP5 ile birlikte viral enfeksiyonun oluşumu için gereklidir (25). NSP3, RNA'yı bağlayan bir protein olup protein sentezinde görev alır. Viral çoğalmada,

virusun barsak ve diğ er dokulara yayılımında önemli rolü vardır (26). NSP4 viral bir enteretoksindir, rotavirus morfogenez ve patogenezinde birden fazla işlevi vardır (27, 28). NSP5 RNA'yı bağlayan proteindir. NSP2 ile birlikte viroplazm oluşumu için gereklidir (29). NSP6' nın rolü tam olarak belli değildir, fakat rotavirus replikasyonunda anahtar bir rol oynadığı düşünölmektedir ve rotavirus enfeksiyonunda düzenleyici olarak da rol oynamaktadır (29)(Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Grup A rotaviruslarının yapısal olan ve olmayan proteinlerinin yeri ve fonksiyonu.

RNA bölgesi	Gen ürünü	Yeri ve Fonksiyonu
1	VP1	İç kor proteini: RNA polimeraz aktivitesi
2	VP2	İç kor proteini: RNA'nın kapsidle kaplanması
3	VP3	İç kor proteini: Guaniltransferaz, Metiltransferaz aktivitesi
4	VP4	Dış kapsidi proteini: Hücreye bağlanma, virulans, penetrasyon, hemaglünitasyon
6	VP6	İç kapsid protein: Grup ve subgrup antijen
9	VP7	Dış kapsid proteini: Yüzey glikoproteini, serotip spesifik nötralizan antijen
5	NSP1	Yapısal olmayan protein: İnterferon antogonisti
7	NSP3	Yapısal olmayan protein: Translasyon artırıcı
8	NSP2	Yapısal olmayan protein: Replikasyon ve paketleme
10	NSP4	Yapısal olmayan protein: Viral enterotoksin
11	NSP5 ve NSP6	NSP5: Yapısal olmayan protein: Fosfoprotein NSP6: Yapısal olmayan protein: Replikasyon ?

2.1.2.1 Rotavirus'un sınıflandırılması

Rotavirus, kapsid proteinin antijenik özelliğine göre serolojik olarak grup, subgrup ve serotiplere sınıflandırılır. VP6'nın genomik özellikleri temelinde, rotavirus antijenik olarak A dan G ye yedi farklı gruba ayrılır (1). VP6, grup A rotaviruslarına özel farklı alt gruplara ayrılmasına imkan sağlayan farklı epitoplara taşır. Grup A insan rotavirusları iki genogruptan (genogrup I: SGI, genogrup II: SGII) oluşmaktadır (14).

Grup A, B ve C rotavirus insanlarda, diğer gruplar ise yalnız hayvanlarda hastalık yapmaktadır. Grup A rotavirusları insanlarda, kuş türlerinde ve memelerin çoğunda önemli barsak patojenidir ve dünya çapında çocukluk çağı ishallerinin en önemli nedenidir (30).

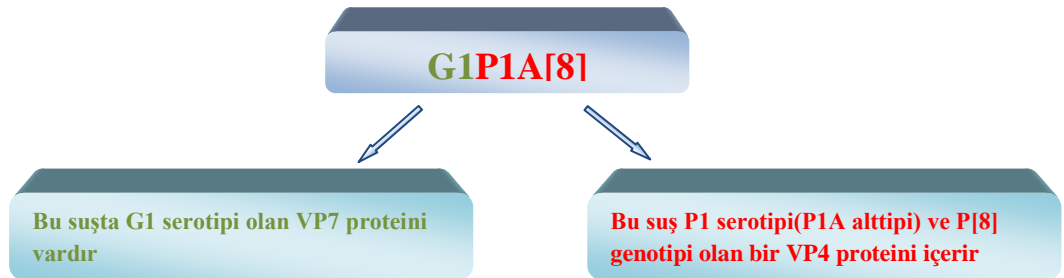
Grup B rotavirusları genetik ve antijenik olarak A grubu rotaviruslardan farklıdır ve yetişkinlerde şiddetli kolera benzeri ishale neden olduğu bilinmektedir (31). Grup B rotavirusu, ilk kez Çin' de 1982-1983 yıllarındaki ishal salgınında yetişkin ishal rotavirusu olarak tanımlanmıştır (32).

Grup C rotavirusu 1980 yılında ilk defa domuzlarda tesbit edilmiş ve daha sonra Bridger ve arkadaşları insan patojeni olduğunu da göstermiştir (33, 34, 35).

NSP4 dizi analizi ile üç farklı NSP4 alleli belirlenmiştir. Bu alleller NSP4 genetik grup I, II, III veya genotip A, B, C olarak adlandırılır. NSP4 genotip A insan, sığır ve maymun suşları; genotip B insan ve domuz suşları; genotip C

insan, maymun, kedi ve köpek suşları içerir, NSP4 genotip E ve F ise kuşlardaki suşlarda bulunur. Genotip B en sık görülen tiptir (28).

Rotavirusların G ve P serotiplerine göre belirlenmesi, hem VP7 hem de VP4 antijenik özelliklerine dayanır. VP7 (glikoprotein olduğu için) G serotipini, VP4 ise (proteaza duyarlı olduğu için) P serotipini belirler. Rotavirusların adlandırılmasında G ve P serotipleri ikili sistem olarak kullanılır. G serotipleri ve G genotiplerinin adlandırılması için verilen numaralar aynıdır. Buna karşın, P serotipleri ve genotipleri için verilen numaralar farklıdır. Bu nedenle, P serotipi P' yi takip eden numara ile, P genotipi ise P'den sonra kapalı parantez içinde verilen numara ile adlandırılmıştır. P serotipleri, her serotip içinde (P1A, P1B) altiplere ayrılmaktadır (1)(Şekil 2.4).

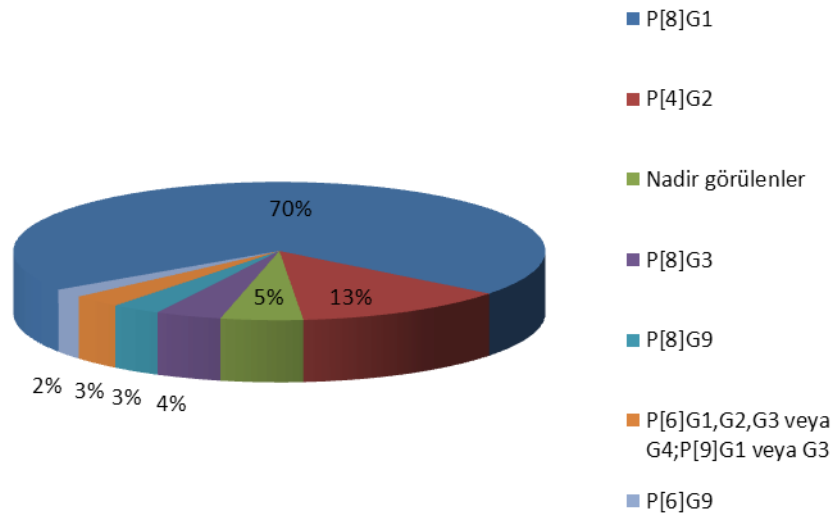


Şekil 2.4. Rotavirus suşlarının adlandırılması

Rotavirus'un 14 G serotipi tespit edilmiştir. Son zamanlarda yeni bir G genotipi (G genotip 15) Hindistan'da sığırlardan elde edilmiş ve henüz serotiplendirilememiştir (36). İnsanlarda G serotiplerinin 10'u (G1-G6, G8-G10, ve G12) ve 14 P serotipinin dokuzu (P1, P2A, P3, P4, P5A, P7, P8, P11 ve P12)

tanımlanmıştır. P genotipi olarak 23 tip tanımlanmış ve bunların da 10'u insanlardan elde edilmiştir (P[3]–P[6], P[8]–P[11], P[14] and P[19]).

P-G kombinasyonları göz önüne alındığında dört P-G kombinasyonlu (P[8]G1, P[4]G2, P[8]G3 ve P[8]G4) rotavirus suşları tüm dünyada çocuklarda rotavirus ishalinin % 88.5'den sorumludur (Şekil 2.5).

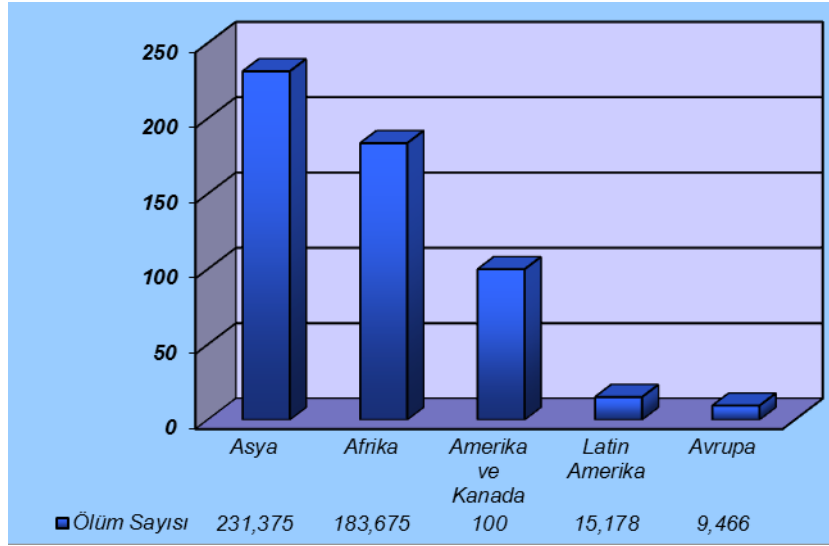


Şekil 2.5. İnsan grup A rotavirus P-G tiplerinin dağılımı

2.1.3. Rotavirus'un epidemiyolojisi

Rotavirüs, tüm dünyada beş yaş altı çocuklarda görülen akut enfeksiyöz ishallerin en sık nedenidir. Rotavirüs ishalleri, gerek gelişmiş gerekse gelişmekte olan ülkelerin sorunudur. Gelişmiş ülkelerde hastalığa neden olurken, gelişmekte olan ülkelerde hem hastalığa hem de ölüme neden olur (37).

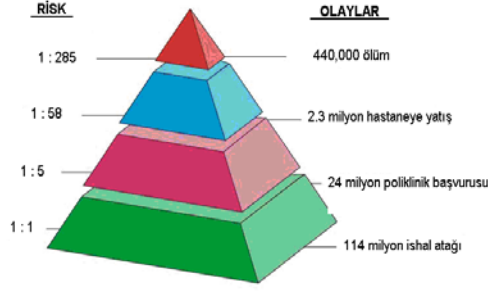
Dünyada her yıl beş yaşın altındaki 2.100.000 çocuk ishal nedeniyle ölmektedir ve bu ölümlerin 440.000'i rotavirus nedeniyle olmaktadır. İshalden ölümlerin yaklaşık %85'i gelişmekte olan ülkelerde gerçekleşmektedir (37, 38). Avrupa ve diğer endüstriyel ülkelerde rotavirus gastroenteritine bağlı ölümler nadirdir (1)(Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Rotavirus nedeniyle görülen ölümlerin dağılımı

Dünyada gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde 1986-2000 yılları arasında beş yaş altı çocuklarda her yıl yaklaşık 138 milyon rotavirus olgusu görülmüştür. Bu vakaların 111 milyonu evde tedavi gerektirmiş, 25 milyonu kliniklere başvurmuş, iki milyonu hastaneye yatırılmış ve ortalama 440.000 çocuk hayatını kaybetmiştir. Başka bir deyişle, beş yaşına kadar rotavirus gastroenteriti geçiren hemen her beş çocuktan biri kliniklere başvurmakta, her 65 çocuktan biri de hastaneye

yatırılmakta ve yaklaşık olarak her 293 çocuktan biri de rotavirus gastroenteriti sebebiyle ölmektedir (38)(Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Rotavirus enfeksiyonunun dünya çapındaki prevalansı ve sonuçlarına ilişkin veriler

Son 25 yılda ishalden çocuk ölümleri oral rehidratasyon tedavisinin (ORT) ve güvenilir içme suyunun sağlanması ve uygulanmasıyla yarı yarıya azalmıştır. Buna rağmen, rotavirus enfeksiyonu ciddi, sıvı kaybına yol açan gastroenteritlerin en sık nedeni olmaya devam etmektedir (39).

Gelişmiş ülkelerde rotavirus enfeksiyonları tipik olarak 6 ile 24 aylar arasında geçirilmektedir (41). İlk enfeksiyonun iki yaşından önce görülmesi, sıvı kaybı ve malnütrisyonla seyretmesi hastalığın mortalitesini artırmaktadır (40). Kuzey Amerika’da yürütülen bir çalışmada, yaşamın ilk yıllarında çocukların %40’nın rotavirusun en az bir suşuyla enfekte olduğu belirlenmiştir. Gelişmekte olan ülkelerde ve kötü sosyoekonomik koşullar altında yaşayanlarda çocukların en az % 30 kadarı ilk 6 aya kadar rotavirus ile enfekte olur (41).

Dünyanın bazı ülkelerinde çocuklarda görülen akut gastroenteritlerde rotavirüs pozitiflik oranları: ABD’de %17-69, Almanya’da %16, Hindistan’da

%20-28, Pakistan'da %20, Kenya'da %11, Suudi Arabistan'da %30 olarak bildirilmektedir (42-48).

Rotavirusa bağlı gastroenteritlerin mevsimsel özelliği olduğu bilinmektedir. Esas olarak ılıman iklimlerde kış aylarında görüldüğü bildirilmiştir. Amerika'da ve Avrupa'da benzer özellikler sergileyerek, enfeksiyon Aralık-Mart döneminde pik yapmaktadır. Mevsimsel değişimin, nemden çok sıcaklıkla ilişkili olduğu düşünölmektedir. Tropikal bölgelerde ise mevsimsel ilişki yoktur ve enfeksiyon tüm yıl boyunca görölebilir (49).

Rotaviruslar gruplara göre değerlendirildiğinde, grup A rotavirus, bebeklerde ağır gastroenterit olgularının %25-65'ne neden olur (40). Grup B rotavirus çoğunlukla yetişkinlerde şiddetli kolera benzeri ishal oluşturur. İnsanlarda rotavirus B enfeksiyonu, sadece Çin, Hindistan ve Bangladeş'den bildirilmiştir (31). Bu grup rotavirus özellikle küçük salgınlarda ve yetişkinlerde ishalden sorumludur (50). Grup C rotavirus seroprevalansının Japonya'da %30, İsveç'te %38, Güney Afrika'da %34,4 olduğunu bildirilmiştir (51). Grup C rotavirusu Japonya, Macaristan, Slovenya, Amerika, İngiltere, Tayland, Brezilya, Çin, İspanya, Bangladeş, Arjantin, İsveç ve Nijerya'da hem sporadik vakalarda hem de salgınlarda tesbit edilmiştir (50).

Türkiye'de küçük çocuklarda ve bebekler arasında rotavirus önemli bir ishal etkenidir (52). Türkiye'nin farklı bölgelerinde yapılan çalışmalarda rotavirüse bağlı gastroenterit insidansı %10-30 arasında bildirilmiştir (53-57). Türkiye'de yapılan ve 0-5 yaş arasındaki olguların değerlendirildiği çalışmalarda, rotavirüs saptanan olguların içinde ilk 12 ayda olan vakaların oranı %26.3-65.4, ilk iki

yaştakilerin oranı ise %46-88.9 arasında değişmektedir (54). Türkiye’de 2000-2001 yıllarında yapılan ilk çalışmada G1 (%75,1) serotipi en baskın olarak bulunurken onu G4 (%6,3), G3 (%3), G2 (%0,8)’ nin izlediği görülmüştür (52, 56). Son alışma 2000-2002 yıllarında yapılmış olup G4 baskın olan serotip, takip eden tipler G1, G2, G9 ve G3 olarak bildirilmiştir (52). Türkiyede rotavirüs enfeksiyonları özellikle kış mevsiminde, soğuk ve yağışlı aylar olan Aralık ile Mart aylarında görülmektedir (54).

2.1.4. Rotavirus’un bulaşma yolları

Rotaviruslar son derece bulaşıcıdır. Enfekte kişilerde dışkının yaklaşık her gramında 10^{11} rotavirus bulunur. Yetişkin gönüllülerde yapılan çalışmalarda, 10 kadar rotavirusun enfeksiyon oluşturabildiği gösterilmiştir. Virus atılımı çocuklarda 10 gün kadar sürer. İmmun yetmezliği olan hastalarda bu atılım 30 günden fazla sürebilir (58).

Rotavirus ortam koşullarına oldukça dayanıklıdır. İnsan elinde en az dört saat, insan vücudunun diğer kısımlarında birkaç gün boyunca ve düşük nem ortamında kuru pürüzsüz yüzeylerde 10 günden fazla canlı kalabilir. İçme sularında haftalar boyunca yaşayabilir (58).

Rotavirusun inkübasyon süresi, bir- gün kadar kısadır. Virusların yayılması klinik bulguların gelişmesinden önce başlar ve bulgular kaybolmadan kısa süre önceye kadar devam edebilir. Hastalığın klinik bulgusunu göstermeyen küçük çocuklardan rotavirus yayılımı bildirilmiştir (58).

Rotavirusun ana bulaş yolu kişiden kişiye ve fekal oral yoldur. Gelişmekte olan ülkelerde sularla bulaş bir diğer yoldur (59).

Araştırmacılar, bez atılan kutularda, oyuncaklarda, musluklarda, bez değişim yerlerinde, el yıkama yerlerinde rotavirus saptamışlardır. Bulaşma bu yollarla da olabilmektedir (15).

Küçük aerosol partiküller ile solunum yoluyla yayılımdan söz edilmektedir. Ancak, bu yol insanlarda ispatlanmamıştır. Az sayıda hastanın solunum sekresyonlarında da rotavirus tesbit edilmiş ve bu hastalar pnömoni olarak tanımlanmıştır (59).

Hayvan suşlarıyla genetik benzerliği olan insan rotavirus suşları olmasına rağmen hayvanlardan insanlara rotavirus bulaşmaz (60).

Küçük çocuklarla yakın temasta bulunan erişkinler, bakım evlerinde olan ve hastanede yatan yaşlılar ve sık sehayat eden yetişkinler de bulaş açısından risk grubundadır (15).

2.1.5. Rotavirus ishalinde patogenezi

Rotavirus enfeksiyonu sırasında oluşan patolojik değişiklikler temel olarak ince barsakla sınırlıdır (61). Rotavirus ishalinin ince barsakta yarattığı patolojik bulgular, villuslarda atrofi ve kısalma, kript hiperplazisi, endoplazmik redikulumun (ER) sisternasında şişme ile birlikte enterosit vakuolizasyonu ve intestinal lamina propriyada mononükleer hücre infiltrasyonudur (58).

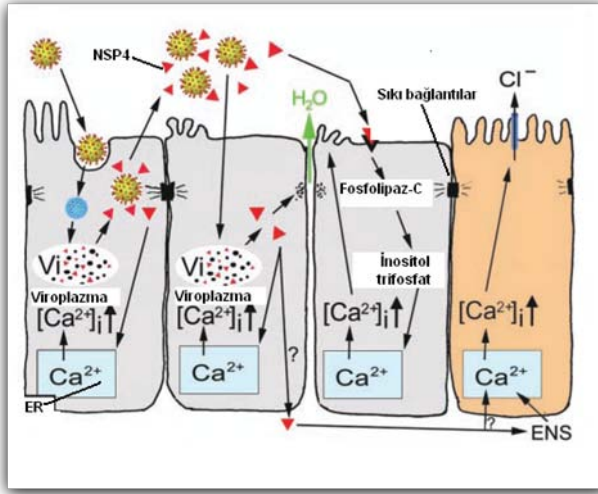
İnflamasyon, diğer intestinal patojenlerle karşılaştırıldığında genellikle daha hafiftir (61). Hastalığın oluşmasında ve seyrinde, hem viral hem de konak faktörleri etkilidir. Rotavirusun oluşturduğu ishalin patogeneğinde malabsorbsiyon, viral enterotoksin ve enterik nöronal sistemin uyarılması etkin faktörlerdir (61).

Villüs enterositlerinin enfeksiyonu, hem plazma membranında hem de ER'de kalsiyum geçirgenliğinin artışı, hücre içi kalsiyum artışı ve hücre ölümüyle sonuçlanan olayları tetikler. Rotavirus enfeksiyonu, hücre içi kalsiyum artışıyla F-aktin, villin ve tubulin proteinlerini etkiler, mikroviller iskeletin bozulmasına neden olur. Enfekte enterositlerin apikal yüzeyinde bulunan alkalın fosfataz, sükroz, maltaz gibi sindirim enzimlerin aktiviteleri azalır. Sindirilmemiş monosakkarit ve disakkaritler, karbonhidratlar, yağlar ve proteinlerin kolona geçmesi sonucunda osmotik ishal oluşur (61).

Rotavirus enfeksiyonu, plazma membran geçirgenliğini artırır. Hücre içi sodyum ve potasyum düzeylerindeki değişiklikler sodyuma bağlı besin emilimini ve elektronötral sodyum klorür emilimini bozar ve sıvı kaybına neden olur (61, 62). Enterositlerden oluşan kemokin sekresyonu, ishale doğrudan katkıda bulunur ve immün cevabı etkinleştirebilir (63).

Enfekte olan hücrelerden salınan ve viral enterotoksin olan NSP4, enfekte olmayan hücrelerde parakrin etki oluşturur. Şekil 2.8'de belirtildiği gibi, NSP4 bu hücrelere reseptör aracılığıyla bağlanarak fosfolipaz C-inositol 1, 2, 3 trifosfat kaskadını tetikler. ER'dan kalsiyumun salınmasına neden olur ve hücre içi

kalsiyum artar (64). NSP4 ün enterositteki diğer etkisi ise sıkı kavşakların bozulmasıdır. Bu etki sonucunda hücrenin çevresinden su ve elektrolit kaybı oluşur. Gastrointestinal kanalda villus epitelinin hemen altında bol miktarda enterik sinir sistemi (ENS) bulunur (65). NSP4 enterokromafin hücrelerine bağlanarak 5- hidroksi triptamin (HT) salınımını indükleyerek ENS'yi uyarır. ENS'nin uyarılmasıyla, kript hücrelerinden su ve elektrolit salınır. Enfekte hücrelerden kemokin ve prostaglandin sekresyonu da ENS'yi uyarabilir. NSP4 ve ENS rotavirus enfeksiyonunda oluşan sekretuar yanıtta önemli rol oynamaktadır (61).



Şekil 2.8. Rotavirusla enfekte barsak epitel hücresindeki olaylar

2.1.6. Rotavirus'un immunolojisi

Rotavirusa karşı oluşan bağışıklık mekanizması tam olarak anlaşılmamıştır ve hayvan modelleri mevcut bilgilerin elde edilmesinde önemli olmuştur (58).

Rotavirus gastroenteritinin iyileşmesi büyük ölçüde konağın immunolojik cevabına bağlıdır (66).

Rotavirusa ilişkin epidemiyolojik çalışmalar doğal bağışıklığın, virusla erken yaşta karşılaşılmasından sonra oluştuğu ve çocukların çoğunda birkaç enfeksiyondan sonra bağışıklığın geliştiğini göstermektedir (67).

Çocuklar genellikle yaşamın ilk 3-5 yılında birden fazla rotavirus enfeksiyonu geçirirler. Genellikle ilk enfeksiyon en şiddetli hastalığa neden olur ve enfeksiyon sayısı artıkça hastalığın şiddeti azalmaktadır (58, 68). İlk enfeksiyon orta ve ağır hastalığa karşı % 87 koruma sağlarken ikinci enfeksiyonun geçirilmesiyle korunma %100'e ulaşır (69).

Malnütrisyon ve yaş gibi konak faktörleri de rotavirus enfeksiyonuna ilişkin immunitiyi etkilemektedir. Villus epitel hücreleri üzerindeki rotavirus bağlayan reseptörlerin yaşla birlikte azaldığı hayvan çalışmalarında gösterilmiştir. Erişkinlerde enfeksiyonun belirtisiz veya hafif seyretmesi ise immunitenin kazanılmasıyla ilişkilidir (61).

Normal konakta, rotaviral antijenler peyer plaklarına taşınır, B hücreleri, makrofajlar, dendritik hücreler tarafından işleme tabi tutulur ve yardımcı T hücrelerine sunulur. Bu süreç sitotoksik T hücrelerinin öncüllerinin artması ve rotavirusa özel B hücrelerinin uyarılmasıyla son bulur (70). Rotavirusa karşı immun cevap, hem doğal hem de hücresel ve humoral bağışıklığı kapsayan kazanılmış immun cevabı içermektedir (16).

Antikorlar, viral enfeksiyona karşı korumaya aracılık eden temel mekanizma olarak görünmektedir. Lokal Ig A antikorları korunmada önemlidir (58).

Rotavirusa karşı oluşan Ig A konsantrasyonları enfeksiyon sonrası 14-17. günlerde dışkıda en yüksek seviye ulaşır ve azalarak bir yıldan fazla süre kalır (70,71).

Enfeksiyon sırasında, ilk iki hafta içinde serotipe özel homotipik nötralizan antikorlar gelişir. Bu immuniteye, VP4 ve VP7 antikorları birbirlerinden bağımsız (homotipik ve hetrotipik) olarak aracılık eder (72). Bebeklerde ve küçük çocuklarda, ilk enfeksiyondan sonra enfekte eden suşların G serotipine (homotipik cevap) karşı nötralizan antikorlar oluşur. Tekrarlayan rotavirus enfeksiyonlarıyla hem homotipik hem de heterotipik (farklı G serotipli suşlara karşı) antikor cevabı gelişir (60). Heterotipik ve homotipik korunmanın etkinliği her yeni enfeksiyonla artar (16). Rotavirus ishaline karşı korunma küçük çocuklarda doğal enfeksiyonu takiben serum antikor titreleriyle doğru orantı gösterir. Enfekte çocuklarda farklı G serotipinden ziyade aynı tiple oluşan reenfeksiyonlara karşı daha fazla korunma sağlanır (60). Ayrıca şiddetli gastroenteritlere karşı tam koruma ikinci enfeksiyondan başlayarak kazanılır (16).

Rotavirus antikor düzeyleri doğumda, plasental yolla anneden geçen antikorlar nedeni ile yüksektir (60). Üç-altı aya kadar azalır, iki-üç yaşında pik yapar. Çocuklarda üç yaşa kadar %90 oranında bir veya daha fazla rotavirus tipine karşı antikorlar gelişir ve dört yaşına kadar bu oran %100'ü bulur. Rotavirus antikorlarının erişkinlerde de yüksek prevalansta seyretmesi virus ile subklinik enfeksiyonların oluştuğunu gösterir (70). Yaşlılar ise muhtemelen immunitenin azalmasına bağlı olarak hastalığı ağır geçirebilmektedir (73).

2.1.7. Rotavirus enfeksiyonunun klinik özellikleri

Rotavirus enfeksiyonunun oluşturduğu temel klinik tablo akut gastroenterittir. Rotavirüs enfeksiyonları belirtisiz enfeksiyondan ağır dehidrasyonla seyreden ölümcül gastroenterite kadar geniş bir klinik yelpaze gösterebilir. Hemen her çocuk beş yaşından önce belirtili veya belirtisiz olarak rotavirus ile enfekte olmaktadır (58). Şiddetli hastalık en sık 6-24 ay arasındaki çocuklarda gelişir (74). Hastalık bulguları çoğunlukla virusla temastan 12 saat ile dört gün sonra başlar ve dört ile sekiz gün sürer (30). Genel olarak, rotavirus gastroenteriti olan çocuklarda hastalığın erken dönemlerinde kusma ve ateş ortaya çıkar. Hafif ateş, çocukların %30 ile %50'sinde görülür. Kusma sık görülür ve diğer enfeksiyon ajanlarının neden olduğu gastroenteritlerle karşılaştırıldığında daha uzun sürer. Dışkı genellikle suludur, kan içermez ama vakaların yaklaşık % 20'sinde mukus vardır (75). Tipik olarak günde 10 ile 20 kez sulu dışkılama olur. İmmun eksikliği olan hastalar, HIV enfeksiyonu olan kişiler, solid organ veya kemik iliği transplantasyonu olgularında ishal daha şiddetli ve daha uzun sürmektedir (16).

Özellikle küçük çocuklarda elektrolit bozuklukları ve dehidratasyon gelişir (76). Uzun süreli ishal, ikincil disakkaridaz eksikliğine neden olabilir (75). Rotavirus enfeksiyonu nedeniyle hastaneye yatan çocukların yaklaşık %67'sinde karaciğer enzimlerinin geçici olarak arttığı görülmüştür (30). Rotaviruslerin üst ve alt solunum yolu enfeksiyonu, invajinasyon, nekrotizan enterokolit, Kawasaki hastalığı, Reye sendromu, karaciğer absesi, pankreatit, myozit, nöbet,

meningoensefalit, ensefalit, polimyelit benzeri sendrom, santral pontin myelinozis, ani bebek ölümüne neden olduğu bildirilmiştir (18, 75).

Yenidoğanlarda rotavirus enfeksiyonunun daha az görüldüğü bildirilmektedir (77). Yenidoğanlarda enfeksiyonlar çoğunlukla asemptomatik veya hafif derece olduğu için tesbit edilemiyebilir (78). Anneden plasenta yolu ile geçen antikolar ve barsağın fizyolojik olgunlaşma eksikliği yenidoğan enfeksiyonunun belirsiz-hafif olmasında önemli rol oynayabilir. Ancak, yenidoğanlarda akut gastroenterit, nekrotizan enterokolit, ve beslenme intoleransı birlikteliği de bildirilmiştir (79). Prematürlerde anneden geçen antikolar eksiktir ve bu nedenle belirtili rotavirus enfeksiyon olasılığı artar. Prematür yenidoğanlarda karında distansiyon, barsak anslarının dilatasyonu, kanlı mukuslu olabilen ishal daha sık görülmektedir (80).

Yetişkinlerde, rotavirus enfeksiyonunun şiddeti ve belirtileri geniş bir dağılım gösterir (70). Rotavirus ishali olan çocuklara bakan yetişkinlerin % 50'si enfekte olabilir ve bunların % 50'sinde genellikle hafif şiddette hastalık oluşur. Erişkinlerde de rotavirus hastalığı ile ilişkili semptomlar tipik olarak ishal, kusma, ateş, bulantı, kırıklık, iştahsızlık ve karın ağrısıdır (74).

Rotavirus genellikle ince barsaktaki epitel hücrelerinde yerleşir (81). Ancak, yeni çalışmalarda hem bağışıklığı normal hem de immun eksikliği olan enfekte çocuklarda ve hayvanlarda, rotavirus antijen veya nükleik asitlerinin kan, lamina propria, mezenterik lenf nodları, akciğer, karaciğer, kalp, santral sinir sistemi, endotelial hücreler, böbrek ve safra kanalları gibi barsak dışı bölgelerde de tespit edildiği bildirilmiştir (82). Enfeksiyon sırasında rotavirusun barsaklarda sınırlı kaldığı varsayımına aykırı olarak, immun sistemi normal, rotavirus gastroenteriti

olan çocukların %67 sinde rotavirus antijenemisi bildirilmiştir. Kanda rotavirus RNA'sının saptanma oranları %0-64'e kadar değişkenlik göstermiştir. Ancak, kanda virusa ilişkin RNA varlığının her zaman hastalık göstergesi olmayacağı noktası da tartışılmaktadır (81).

2.1.8. Rotavirus'un tanı yöntemleri

Rotavirusla oluşan gastroenteritin yalnızca klinik bulgularla, ayırt edilmesi mümkün değildir. Tanının doğrulanması için laboratuvar yöntemlerine gereksinim vardır (83).

Dışkı örneklerinde rotavirusu saptamak için, 1980'lerden önce EM gerekirken, 1980'li yıllarda Enzim-linked immunosorbent assay (ELISA), elektron mikroskopinin yerini almıştır (6). EM, hızlı, etkili, güvenilir bir yöntem olmasına rağmen özel araç-gereç ve deneyim gerektirmesi ve virusun tesbiti için her bir ml dışkı örneğinde en az 100.000 yapısı bozulmamış sağlam viral partikül içermesi gerektiğinden pratik bir yöntem değildir (84).

Pratikte en sık kullanılan testler dışkıda viral antijen tayini yapan Lateks Aglütinasyon (LA), ELISA ve immüno-kromatografik testlerdir. Bu testler çok zor olmayıp özel araç ve deneyim gerektirmezler. Kolay, çabuk sonuçlanan, oldukça duyarlı (%70-98) ve özgül (%71-100) olan testlerdir. Yalnız bu testler yenidoğanlarda ve altta yatan başka barsak hastalığı olanlarda, yanlış pozitiflikler verebilir (54). Bu testlerle sadece rotavirus Grup A tespit edilir. Grup B ve C

rotavirusların tanısı için VP6 antijenlerine karşı grup spesifik monoklonal antikorların kullanıldığı ELISA testleri geliştirilmiştir (85).

Çocuklarda akut gastroenterit yapan viral enfeksiyöz ajanların tanısı için Reverse transkripsiyon polymerase chain reaction (RT-PCR) ve Poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE) gibi yeni moleküler yöntemler bunların yanında hücre kültürü teknikleri geliştirilmiştir (86).

Rotavirus grup A'nın tespit edildiği tanı testleri arasında RT-PCR epidemiyolojik çalışmalarda kullanılan esas tanı tekniğidir. Rotavirusların P ve G serotiplerinin tanımlanmasını sağlar. İshalin başlangıcından 4-57 gün sonrasına kadar virusun atılımı belirlenebilir (86).

Virus izolasyonu, LA ve ELISA ya göre daha duyarlıdır ancak virusun hücre kültüründe büyütülmesi zor olduğu için tanıda nadiren kullanılır (18, 84).

PAGE, rotavirus RNA bölümlerinin göç biçimine bağlı olarak sınıflandırılmasında ve epidemiyolojik çalışmalarda kullanılabilir (87).

Pratikte kullanılan testler altı aydan küçük bebeklerde yanlış sonuç verebildiğinden, altı aydan küçük bebeklerde, ELISA IgG, ELISA IgM ve ELISA IgA tanıda daha değerlidir. Rotavirus ELISA IgA, yenidoğanlarda serolojik cevabın gösterilmesinde oldukça etkilidir (88).

2.1.9. Rotavirus enfeksiyonunun tedavisi

Rotavirus hastalığının temel tedavisi, kusma ve ishale kaybedilen sıvıların ağızdan veya intravenöz yolla yerine koyulmasıdır. Tedaviye erken başlamak ciddi dehidratasyon gelişmesinin önlenmesinde önemlidir (15).

Oral rehidratasyon sıvısı (ORS) ishalin tedavisinde başarıyla kullanılmaktadır ve beş yaş altındaki çocuklarda ishalin neden olduğu mortalite ve morbiditeyi azaltmıştır (89). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün önerdiği standart ORS'de, sodyum (90 mmol/ L), potasyum (20 mmol/L), klor (80 mmol/L), sitrat (10 mmol/L), ve glukoz (111 mmol/L) bulunur. Standart ORS ishale kaybedilen sıvı ve elektrolit kaybını yerine koyar. Standart ORS yanısıra, hipo-osmolar, pirinç bazlı, çinko ilaveli, alanin, glutamin, glisin aminoasitleri içeren farklı ORS çeşitleri geliştirilmiştir (90). Hastalar ORS' yi ağızdan alamaz ise nazogastrik tüp ile verilebilir (91).

Şiddetli dehidratasyon ve şok durumunda, ciddi elektrolit ve kan gazı bozukluğunda, paralitik ileusta, kayıpların ORS ile karşılanamadığı durumlarda siyanotik kalp hastalığı, böbrek yetmezliği gibi eşlik eden hastalık varlığında intravenöz yol kullanılmalıdır (89).

ORT ile ishale bağlı ölümlerde belirgin azalma görülmüştür. ORT düşük kalorili olduğu için, dehidratasyon düzeltildikten sonra mümkün olduğu kadar kısa sürede beslenmeye başlanması gerekir (89). Çocuklara yaşına uygun kompleks karbonhidrat içeren besinler verilmeli, şeker oranı yüksek gıdalar osmotik yükünden dolayı tercih edilmemelidir (92).

Anne sütünde antirotaviral özelliği olan laktoferrin ve laktadherin ve IgA bulunduğundan anne sütü alan bebekler, anne sütüyle beslenmeye devam etmelidir (15).

Antiemetikler, sedasyon ve distoni gibi yan etkileri olduğundan gastroenterit tedavisinde önerilmemektedir. Ondansetron, 5-HT3 reseptörlerini bloke ederek kusmayı önler ancak kusmanın tekrarlamasını azaltmaz. Bu ilaçlar üzerine yeterli çalışmalar yapılmadığı için akut gastroenteritlerin tedavisinde kullanılması önerilmemektedir (93). İmmunglobulin preparatlarının virusün atılım süresi ve ishal süresinde etkili olduğu gösterilmiştir ama rutin olarak kullanılmamaktadır (15).

Özetle; sıvı, elektrolit ve beslenme önerileri dışında, antibiyotikler, ishal kesici ilaçlar gibi diğer tedavilerin rotavirus gastroenteritin tedavisinde rolü yoktur (15).

2.1.10. Rotavirus hastalığının ekonomik yükü

Hastalıkların genel ekonomik yükü değerlendirildiğinde, doğrudan maliyetler (medikal ve medikal dışı) ve dolaylı maliyetler akla gelmelidir. Medikal maliyetler; doktora veya acil servise başvuru, hastaneye yatış ve laboratuvar tanı maliyeti, medikal dışı maliyetler ise; çocuk bezi, reçetesiz ilaç, taşıma maliyeti ve bebek bakımı maliyeti gibi birçok gideri içermektedir. Dolaylı maliyetler kazanç kaybı, çalışma zamanının kaybı ve hasta çocuğa bakmak gibi maliyetleri içine alır (4).

Avrupa’da 2000-2003 yılları arasında 25 ülkede yapılan bir çalışmada, beş yaş altı çocuklarda rotavirus gastroenteriti nedeniyle hastaneye yatışların toplam yıllık maliyeti 106 milyon dolar bulunmuştur (1). Finlandiya’da 1990 yıllarında yapılan bir çalışmada rotavirus hastalığının doğrudan maliyet hesabı yapılmış ve bunun %75’inin hastaneye yatışla ilişkili olduğu gösterilmiştir (94). Ayrıca Amerika Bileşik Devletlerinde doğrudan ve dolaylı masraflar, yıllık yaklaşık bir milyon dolar olarak tahmin edilmektedir (95). Rotavirus enfeksiyonu nedeniyle hastanede yatanlarda yapılan prospektif bir çalışmada, dolaylı masraflar vaka başına yaklaşık 450 dolar olarak hesaplanmış ve bu maliyetin %80’nin iş kaybına bağlı olduğu görülmüştür. Kalan maliyetlerin yaklaşık 54 doları taşıma masrafları, 10 doları bez masrafları, yedi doları çocuk bakım değişiklikleri, 17 dolarının ise özel yiyecekler, ORS için olan harcamalar olduğu gösterilmiştir (83).

2.11.1 Rotavirus enfeksiyonundan korunma

Rotavirus gastroenteritinin ağır sağlık ve ekonomik yükü nedeni ile hastalıktan korunma gereksinimi vardır. Anne sütü, el yıkama ve oyuncakların dezenfeksiyonu gibi genel önlemler akut gastroenteritlerden korunmada önemlidir. Ancak, rotavirus enfeksiyonlarının tam olarak önlenmesini sağlamaz. Rotavirusların sebep olduğu gastroenteritler, hijyen koşullarından bağımsız olarak, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde benzer sıklıkta görülür. Bu sebeple rotavirus ishalinin önlenmesinde esas etkili yöntem rotavirusa karşı aşılama (75).

Rotavirus aşısından beklenen, doğal rotavirus enfeksiyonuna benzer bağışıklık oluşturarak, orta/ciddi enfeksiyona karşı korunma, morbidite ve ekonomik kayıpların azaltılması ve hastalığın süre ve ciddiyetinin hafifletmesidir (96).

İlk Rotavirus aşıları değişik hayvan rotavirus suşlarından elde edilmiştir. Klinik çalışmalarda bu aşuların etkinliği değişken bulunmuş ve bu nedenle "reassortant" (üretilmiş yeni cins) aşı çalışmaları başlatılmıştır (95).

Rotavirusa karşı ilk canlı "oral reassortant" aşısı, "Rotashield tetravalan rhesus rotavirus reassortant aşısıdır" (RRV-TV). Rotashield, en sık görülen G1, G2, G3, G4 serotiplerini içeren dördü bir aşıdır (97). ABD' de Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi 31 Ağustos 1998'de 2, 4 ve 6. aylarda üç doz halinde kullanılmasını onaylamıştır (98). Aşı yapılan 15 hastada invajinasyon geliştiğinin bildirilmesinden sonra Temmuz 1999'da aşı geri çekilmiştir (98, 99).

Rotashield aşısının geri çekilmesi, yeni aşı geliştirme çabalarını artırmıştır. Son zamanlarda lisans almış iki yeni rotavirus aşısı RIX4414 suşundan hazırlanan "Monovalan Human Rotavirus" (HRV) aşısı olan Rotarix ve "Pentavalan Human - Bovine Reassortant Rotavirus" (PRV) aşısı olan RotaTeq'dir (16).

RotaTeq, G1- G4 ve P1A[8] antijenlerine karşı antikorları ortaya çıkarmak için tasarlanmıştır (100). Herhangi bir rotavirus ishaline karşı % 74, şiddetli rotavirus ishaline karşı ise % 98 koruma sağladığı gösterilmiştir. Yaşamın 2, 4, 6 aylarında uygulanması önerilmektedir (58).

Rotarix, doğal enfeksiyonların tekrarlaması sonrasında oluşan çapraz koruma temel alınarak üretilmiştir. Şiddetli rotavirus enfeksiyonuna karşı hem homolog

hem de heterolog koruma sağlar. G1P1A[8] monovalan şusu içeren aşının ikinci ile altıncı aylarda uygulanması önerilmektedir (100). Herhangi bir rotavirus ishaline karşı %79, şiddetli rotavirus ishaline karşı ise % 96 koruma sağladığı gösterilmiştir (101).

2.2. Hastane kaynaklı enfeksiyonlar

Hastanede kazanılan, klinik belirti/bulguları hastaneye yatış sırasında olmayıp, hastanede veya taburcu olduktan sonra ortaya çıkan enfeksiyonlar “hastane kaynaklı enfeksiyon” olarak tanımlanır. Hastane enfeksiyonlarının mortalite ve morbidite oranları toplum kökenli enfeksiyonlara göre daha yüksektir. Bu enfeksiyonlar hastanede yatış süresini belirgin olarak uzatır ve tedavi maliyetini artırır. Hasta yaşınının bir yaşın altında olması, bağışıklık sisteminin yetersizliğine neden olan durumlar gibi konağa ait faktörler ile cerrahi ve invaziv girişimler, yaygın katater kullanımı gibi çevresel faktörler hastane kaynaklı enfeksiyonların gelişimindeki risk faktörleridir. Gelişmekte olan ülkelerde çocuk servislerinde koğuş sisteminin uygulanması, refekatçi varlığı, kalabalık hasta koğuşlarında yetersiz sağlık personelinin hizmet vermesi, yeterli sayıda izolasyon odasının bulunmaması, el hijyeni ve dezenfeksiyon için yeterli malzeme sağlanamamasının yanı sıra, enfeksiyon kontrol konusundaki bilgi ve eğitim eksikliği, hastane kaynaklı enfeksiyon sıklığını artırmaktadır (102).

Gelişmiş olan ülkelerde çocuk hastalarda, hastane kaynaklı enfeksiyonların sıklığı yetişkenlere göre daha düşüktür. Gelişmekte olan ülkelerde ise durum

tersine olup hastane kaynaklı enfeksiyon hızı çocuklarda daha yüksek oranlardadır (102). Çocuklarda hastane kaynaklı enfeksiyonların sıklığı yaşla orantılı olarak azalmaktadır (103).

Tüm yaş grupları göz önüne alındığında hastane kaynaklı enfeksiyonlar genellikle idrar yolu enfeksiyonları, solunum yolu enfeksiyonları, cerrahi alan enfeksiyonları şeklinde olup, gastrointestinal enfeksiyonlar daha az sıklıkta görülmektedir. En sık görülen enfeksiyöz etkenler, gram pozitif ve negatif bakteriler ve mantarlardır. Viruslar daha nadir görülür (5).

Çocuklarda ise gastrointestinal ve solunum yolu enfeksiyonları hastane kaynaklı enfeksiyonların en sık görülen iki nedenidir (104). Çocuklarda virusla oluşan hastane kaynaklı enfeksiyonlar sıktır ve % 23 ile 34 oranlarında bildirilmektedir (5).

Hastane kaynaklı gastroenterit, ishal dışında başka bir nedenle hastaneye yatan bir hastada yatıştan 72 saat sonra veya taburcu olduktan sonra 48 saat içinde günde üçden fazla sulu dışıklama ve/veya 24 saatlik süreç içerisinde etkili kusmanın gelişmesi olarak tanımlanmaktadır (105). Çocuklarda hastane kaynaklı gastroenteritlerin % 90'ından fazlası viral nedenlere bağlıdır ve rotaviruslar ilk sıralardadır (106, 107). Diğer viral etkenler ise norovirus, astrovirus ve adenovirüslerdir (5).

2.2.1. Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonların sıklığı

Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonunun görülme yüzdesi % 14 ile % 51 arasında değişmektedir (3). Ülkelerin gelişmişlik seviyelerine göre değerlendirildiğinde gelişmiş ülkeler için sıklık ortalama %27 (%14-51), gelişmekte olan ülkeler için %32 (%16-43) bulunmuştur (3). Almanya, Fransa, İspanya ve Birleşik Krallıkta yapılan çalışmalarda, hastanede yatan beş yaşın altında çocuklarda, hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonunun insidans dansitesi 0-1,87/1000 hastane yatış günü, İtalya, Polonya, Almanya, Fransa, İspanya ve Birleşik Krallıklardaki çalışmalarda ise 160-630/1000 çocuk olarak bildirilmektedir (5, 108). İspanya'da Gutiérrez-Gimeno ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonunun sıklığı, 6.1/100 yatan hasta ve sıklık hızı 1.05/100 hastaneye yatış günü olarak saptanmıştır (109). Kış ve ilkbahar ayları boyunca hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonunu hızı yüksektir (1.6/1000 hastaneye yatış günü) (110).

Yapılan çalışmalarda hastane kaynaklı enfeksiyon sıklığında gözlenen farklılıklar, kullanılan metod, çalışmaya alınan yaş grupları ve çalışma sürelerinin değişken olmasına bağlanmıştır (Tablo 2.2)(3,6).

Tablo 2.2. Ülkelerdeki hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonlarının sıklığı

Ülke	Araştırmacı	Araştırma zaman aralığı	Yaş aralığı	HKRV Tanımı	HKRV insidansı	Toplam RV olguları arasında HKRV %
İtalya	Giano ark[111]	12/1999-5/2000	1-18 ay	>24 saat hastaneye kabul < 72 saat taburcu	%27,7	%32,6
ABD,Californiya	Rodriguez-Baez ark[112]	1998-2000	<5 yaş	>72 saat hastaneye kabul	%0,97	%14,3
Hollanda	Widdowson ark[113]	10/1999-2/2000	Yenidoğan	>48 saat hastaneye kabul	%100	%39,8
Almanya	Berner ark[114]	1/1987-5/1998	<15 yaş	>72 saat hastaneye kabul	%12,5	%50,8
Brezilya	Gusmao ark[115]	11/1992-11/1994	<5 yaş	>72 saat hastaneye kabul	%5,8	%50,8
Polonya	Mrukowicz ark[116]	1994-1996	<60 ay	≥72 saat hastaneye kabul	%14,6	%38,7
Hindistan	Bhan ark[117]	11/1986-10/1988	Yenidoğan	Doğumdan 4 gün sonra Taburcu	%73	%100
Güney Afrika	Steele ark[118]	1/1989-12/1989	>6 ay-<12 yaş	>72 saat hastaneye kabul <48 saat taburcu	%6,1	%43
İspanya	Gutiérrez-Gimeno ark[109]	10/2006-3/2007	1-23 ay	>72 saat hastaneye kabul <48 saat taburcu	%6,1	-
Guinea Bissau	Rodrigues ark[110]	4/2001-5/2002	<5 yaş	>72 saat hastaneye kabul	1,6/1000 yatış günü	-
Nijerya	Abiodun ark[119]	10/1989-4/1990	4 gün-15 yaş	>72 saat hastaneye kabul	%12,1	%28,1
Hong Kong	Lam ark[120]	10/1982-4/1985	<5 yaş	>24 saat hastaneye kabul	%5,8	%20
Fransa	Piednoir ark[121]	12/2001-3/2002	1-24 ay	>48 saat hastaneye kabul >48 saat taburcu	%14,2	%42,8

HKRV: Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu, RV: Rotavirus

2.2.2. Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu için risk faktörleri

Hastane enfeksiyonu için risk faktörlerin en önemlisi hastanede yatış süresidir. Hastanede kalış süresinin altı günden fazla olmasının hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu oluşma oranını %70 artırabileceği gösterilmiştir. İkinci risk faktörü ise küçük yaştır. Bez değiştirme ve hemşire bakım ihtiyacının ve rotavirusa olan duyarlılığın daha fazla olması, bu yaş grubunu riskli kılmaktadır. Diğer risk faktörleri ise yetersiz sayıda personel nedeniyle çocuk servislerinde düzenleme eksikliği, hijyen önlemlerine sınırlı uyum ve servislerde çalışanların dışında kişilerin (aile ve yakınları) varlığıdır. Hastane kaynaklı enfeksiyonlar için başka risk faktörleri de tanımlanmıştır. Bunlar, prematürite ve düşük doğum ağırlığı, ciddi immun yetmezlik, malnütrisyon ve hastane kalış süresini uzatan diğer hastalıkların varlığıdır (4, 5). Ara yoğun bakımlarda hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonlarının gelişmesine neden olan faktörler, çevrenin aşırı kalabalık olması, hasta yatış-çıkışının hızlı olması, aile ziyaretleri, izolasyon önlemlerinin uygun olmaması, personel yetersizliği, el hijyeninde eksik uygulamadır (122).

2.2.3. Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonlarının klinik özellikleri

Enfeksiyon bulguları çoğunlukla hastane yatışının ikinci ile altıncı günleri arasında ortaya çıkar. Tipik bulgular, ateş, ishal ve kusmadır. Belirtisiz enfeksiyon

yenidoğanlarda ve üç aydan küçük bebeklerde siktir, bu olgular hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonların %18 ile % 39'nu oluşturur (5).

Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonları toplum kaynaklı rotavirus enfeksiyonlarına göre daha küçük yaş gruplarını daha fazla etkilemektedir. Toplum kaynaklı rotavirus enfeksiyonları 6-23 ay, hastane kaynaklı enfeksiyonları ise 0-11 ay arasında daha sık görülmektedir (5).

Toplumdan kazanılan rotavirus enfeksiyonlarında G1, G2, G3, G4, ve G9 serotipleri ile kombine P[4] veya P[8] genotipleri yaygın olarak görülmektedir. Hastane kaynaklı enfeksiyonlarda ise G9P[8] ve G1P[8] en sık görülen rotavirus tipleridir. Yenidoğanlarda hastane kaynaklı enfeksiyona neden olan bazı şuşların toplumdan kazanılan enfeksiyonlarda nadir görüldüğü bildirilmiştir (5).

Ilıman iklime sahip ülkelerde toplumsal ve hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonlarının mevsimsel özelliği benzer olarak görünmektedir ve ağırlıklı olarak kış ve ilkbahar başlarında meydana gelmektedir (5).

Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonunun ana bulaşma şekli doğrudan veya dolaylı fekal-oral yoldur. Kusma bir diğer bulaşma yoludur. Ayrıca, solunum damlacıkları ile bulaşma bildirilmesine rağmen bu yol halen tartışmalıdır. Bulaşmanın esas araçları kontamine olan sağlık personelleridir. Toplumdan kazanılan rotavirus enfeksiyonu nedeniyle hastanede yatan hastaların bakımını yapan, sağlık çalışanlarının %76-78'nin ellerinde rotavirus bulunmuştur. Rotavirus düşük nemli ortamda, pürüzsüz ve kuru yüzeylerde bir ile 10 gün, ellerde ise birkaç gün canlı kalabilir. Belirtisiz taşıyıcılar rotavirusun yayılımına katkıda bulunurlar (5).

2.2.4. Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonlarının ekonomik yükü

Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonlarının neden olduğu tahmini ölüm konusunda yeterli bilgi yoktur. Gelişmekte olan ülkelerde, morbitite yüküyle ilişkili etkenler üzerinde daha fazla durulmaktadır (5). Hastane içinde yayılma, yatış süresinin uzaması ve medikal tedavi açısından artan masraflar temel problemlerdir. Hastanede rotavirus salgınları hastalığın yayılmasını önlemek için servislerin haftalarca tamamen kapatılmasına neden olur (3). Bir çalışmada hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonunun hastanede kalış süresini 4 ile 9 gün kadar uzattığı gösterilmiştir (107). Hastane kalış süresi, ek ilaç tedavileri, servis kapanma/açılış önlemleri, personel kontaminasyonu ve aile bireyleri ve personelin çalışma iş günü kaybı, hastaların kabul edilememesi önemli ekonomik giderleri oluşturur (4).

2.2.5. Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonları için önlemler

Sağlık çalışanlarının el hijyenlerine özen göstermemesi, kalabalık hasta odaları, kontamine aletlerin ortak kullanımı, küçük çocuklardaki belirtisiz enfeksiyonlar, immun sistemi baskılanmış çocuklarda rotavirusun yayılımının uzun sürmesi, rotavirus virulansının yüksek olması, hava ile bulaşmanın potansiyel bir yol olması nedeniyle hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonlarının kontrolü ve önlenmesi oldukça zordur (120,122,123).

Hastalar ve işlemler arasında el hijyenine dikkat edilmesi, maske takılması, önlük giyme, ishal olgularının ayrı odaya alınması ve izole edilmesi, ziyaretlerin azaltılması gibi önlemler hastane enfeksiyonlarını azaltır. Aileler ve sağlıklı personeli bu konuda eğitilmeli ve uygulamaları denetlenmelidir (5).

Rotaviruslar, hastanelerde sıklıkla kullanılan antiseptik ve kimyasal dezenfektanlara kısmen dayanıklıdır. Rotavirusa etkin olan klorheksidin glukonat ve kuarterner amonyum bileşenleri yüksek oranda alkol içeren preparatlarda kullanılabilir (59,116). Yapılan çalışmalarda, el yıkamada alkol bazlı jellerin, çevre temizliğinde ise yüksek alkol içeren dezenfektanların daha etkili olduğu gösterilmiştir (6).

Hastane kaynaklı enfeksiyonun yayılımının ve şiddetinin azaltılması için emzirme teşvik edilmelidir (6). Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonların yayılmasını önlemede aşı uygulamasının etkinliğini gösteren çalışma bulunmamaktadır (5).

3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

Bu çalışma, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Süt Çocuğu Servisi ve Oyun Çocuğu Servisinde, 15 Nisan 2009 ile 15 Nisan 2010 tarihleri arasında yatan 1-60 ay arası çocukları kapsamaktadır. Hastaneye herhangi bir nedenle yatan, yatışının üçüncü gününden sonra veya taburcu olduktan sonra 48 saat içinde gastroenterit bulguları geliştiren hastalar çalışmaya alındı. Taburcu olan hastalar telefonla takip edildi ve gastroenteriti olanlar hastaneye tekrar çağrılarak değerlendirildi.

Her hasta için, demografik bilgileri (adı, soyadı, yaşı, cinsiyeti), kronik hastalık varlığı, yatış nedeni, beslenme özellikleri, malnütrisyon varlığı,antiyotik kullanımı, odadaki yatak sayısı, nebulizatör kullanımı gibi risk faktörleri ile ilgili bilgileri ve klinik bilgileri içeren form dolduruldu (ek-1). Olguların malnütrisyon derecesi Gomez sınıflamasına göre belirlendi. Yaşa göre ağırlığı; %90-110 arası olanlar normal, %75-89 arası olanlar hafif, %60-74 arası olanlar orta ve %60'ın altında olanlar ağır malnütrisyonlu kabul edildi (124).

Hastane kaynaklı gastroenterit olduğuna karar verilen tüm çocuklardan toplanan dışkı örnekleri laboratuara gönderilene dek +4°C'de, laboratuarda ise test edilinceye kadar -80°C'de saklandı. Dışkı örnekleri öncelikle Grup A rotavirus antijen tespitine yönelik Rotavirus Antigen ELISA (Premier™ Rotaclone, Meridian Diagnostics, Inc.,Cincinnati, Ohio, ABD) kiti ile değerlendirildi. Rotavirus antijen pozitif bulunan dışkı örneklerinin eş zamanlı

olarak RNA ekstraksiyonları gerçekleştirildi. Ekstrakte edilen RNA örnekleri RT-PCR ile değerlendirilene kadar -80°C 'de bekletildi. Rotavirusun G ve P tiplendirilmesi aşağıda tanımlanan yöntemlerle Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı tarafından gerçekleştirildi.

3.1. Rotavirus antijen ELISA testinin yapılışı:

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

Kitin içindekiler:

1. ELISA plağı: Rotavirus antikoru ile kaplı 48 kuyulu mikropalak
2. Substrat A: Organik peroxide 6.0mL.
3. Substrat B: Tetramethylbenzidine 6.0mL.
4. Pozitif kontrol:2.0mL
5. Negatif Kontrol:2.0mL(Samplediluent)50mL
6. Enzim konjugat:6.0mL
7. Stop solusyonu: 1M H₂SO₄ 6.0mL

ELISA testinin uygulanması:

- 1.ELISA kiti kullanılmadan önce yarım saat oda ısısında bekletildi.
- 2.100 ml gaitaya 900 ml fosfatla tamponlanmış salin solüsyonu ilave edildi.
- 3.Vortekslendikten (Velp Scientifica, İtalya) (Şekil 3.2) sonra 1.5 dakika 13.000 rpm'de santrifüj (Heraus Biofuge Pico,Almanya) edildi.

4.Mikroplağın her kuyucuğuna 100µl dil üe edilmiş dışkı örneklerinden ilave edildi. Üzerine iki damla enzim konjugattan eklendi. Oda ısısında bir saat gün ışığından koruyarak inkübe edildi.

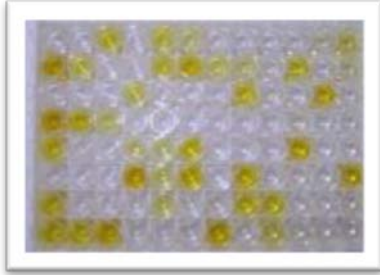
5.İnkübasyonun ardından plak ELISA yıkama cihazında (TECAN,Mannedorf,İsviçre) beş kez distile suyla yıkandı ve sonunda iki kez aspire edilip iyice kurutuldu (Şekil 3.3). Hiç sıvı kalmaması için kurutma kağıdı üzerinde plak ters çevrilip birkaç kez tap yapıldı.

6.Substrat A'dan(peroxidan) iki damla damlatıldı.

7.Substrat B'den(tetrabenzin) iki damla damlatıldı.

8.Oda ısısında 10 dakika gün ışığından koruyarak inkübe edildi.

9.İnkübasyonun ardından her bir kuyucuğa iki damla stop solüsyonu damlatıldı. Maviden sarıya dönen renk değişimi görüldü (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. ELISA mikroplağı



Şekil 3.2: Vortex cihazı

10.Plaklar hafifçe sallanarak homojen bir solüsyon elde edilmeye çalışıldı.

11.Sonuçlar spektrofotometrede (BioTekELX808,ABD) 450 nm dalga boyunda okunarak değerlendirildi (Şekil 3.4).

12.ELISA kiti protokolünün önerisine göre optik yoğunluğu 0.50> büyük olan örnekler pozitif, 0.50< olan örnekler negatif kabul edildi.



Şekil 3.3. ELISA yıkama cihazı



Şekil 3.4. Spektrofotometre

3.2. Dışkı örneklerinden RNA'nın ekstraksiyonu

1. Ekstraksiyon için -80°C 'de saklanan dışkı örnekleri çıkarıldı ve çözünmesi için oda ısısında bekletildi. Çözünen dışkı örnekleri %10 oranında fosfat tamponlu su ile sulandırıldı. Sulandırılan örneklerden 500 ml eppendorf tüpüne alınarak vortekslendi ve ardından 12,000 rpm'de bir dakika santrifüj edildi ve santrifüj sonrası üstte kalan sıvı kısımdan mikropipetle 400 μl alınarak eppendorf tüplerine aktarıldı.
2. Bunların üzerine 400 μl fenol kloroform izoamil alkol solüsyonu (25:24:1) eklendi ve yaklaşık bir dakika vortekslendi.
3. 15 dakika 12,000 santrifüje edildi.
4. Santrifüj sonrası üstteki sıvı yeni eppendorf tübüne alındı.
5. 50 mikrol sodyum asetat ve bir ml etanol eklendi.
6. -40°C 'de 3-4 saat bekletildi.
7. 12,000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi.
8. Olabilirdiğince süpernatant aspire edildi.

9.Oda ısısında kurumaya bırakıldı.

10.40 µl TE (10 mMTris-HCl, 1mM EDTA) bufferla tamponlandı.

Gaita örneklerinden dsRNA ekstrakte edildi.

3.3. Rotavirusun VP7 ve VP4 genomunun tespiti için iki aşamalı RT-PCR testi

Amplifikasyon aşamalarının gerçekleştirilmesi için Termal Cycler kullanıldı

(Şekil 3.5)



Şekil 3.5. Thermal Cycler

Rotavirus G genotiplenmesi için rotavirusun VP7 bölgesine ait genom bölgesini hedef alan Beg 9 (5'-GGC TTT AAA AGA GAG AAT TTC CGT CTG G-3') End 9 (5'-GGT CAC ATC ATA CAA TTC TAA TCT AAG-3') ve P genotiplenmesi için ise için rotavirusun VP4 bölgesine ait genom bölgesini hedef alan Con 2 (5'-ATT TCG GAC CAT TTA TAA CC-3') ve Con 3 (5'-TGG CTT CGC CAT TTT ATA GAC A-3') konsensus primerler kullanılarak iki aşamalı RT-PCR testi yapıldı. İki aşamada yapılan RT-PCR testinin I. aşamasında; RT

(Reverse transkripsiyon) işlemi ile cDNA'lar elde edildi. İkinci aşamasında ise, bu cDNA'lar kullanılarak PCR işlemi gerçekleştirildi.

3.3.1. Rotavirusun G genotiplenmesi için iki aşamalı RT-PCR testi

Rotavirus G genotiplenmesi için rotavirusun VP7 bölgesine ait 1062 bp uzunluğundaki genom bölgesini hedef alan Beg9 - End9 konsensus primerler kullanılarak iki aşamalı RT-PCR testi gerçekleştirildi.

Çalışmada II aşamadan oluşan RT-PCR testinin I. (RT) aşamasında denatürasyon işlemi yapılmadan önce RT PCR Master Mix hazırlandı.

Her tüp için primer Beg 9 ve End 9 kullanılarak RT Master Mix hazırlanması:

2X Access Quick Master Mix	25 µl
Beg9(10µM)	5 µl
AMV	1 µl
RNAazsız su	12 µl
<hr/>	
Toplam	48 µl

dsRNA kalıplarından iik µl alınarak Thermal Cycler içerisinde 97°C de beş dakika bekleterek denatüre edildi, daha sonra buz kalıplarında beş dakika bekletildi. Daha önce hazırlanan RT Mastermixle hazırlanan eppendorf tüplerinin her birine kalıptan iki µl ilave edildi.

45°C' de	45 dakika	}	1 siklus
95°C' de	2 dakika		
50°C' de	1 dakika		
72°C' de	1 dakika 30 saniye	}	39 siklus
94°C' de	1 dakika		
50°C' de	1 dakika		
72°C' de	1 dakika 30 saniye	}	1 siklus
72°C' de	5 dakika		
4°C' de	muhafaza edildi.		

G0 cDNA lar elde edildi.

Elde edilen tek zincirli cDNA'lar Promega PCR Master Mix kullanılarak G tiplendirilmesi yapıldı.

Promega PCR Mastermix'in hazırlanması:

2X PCR Master Mix(Promega)	25 µl
VP7-R(10 µM)	1 µl
aBT1(10 µM)	1 µl
aCT2(10 µM)	1 µl
aDT3(10 µM)	1 µl
G3(10 µM)	1 µl
G9(10 µM)	1 µl
Nukleazsız su	18 µl
<hr/>	
Toplam	49 µl

Her bir örnek için 49 µl'lik solüsyon hazırlanarak eppendorf tüplerine kondu. Üzerine kalıp cDNA'dan bir µl ilave edildi.

95°C'de 1 dakika
42°C'de 2 dakika
72°C'de 1 dakika

} 30 siklus

Elde edilen ürün agaroz jel elektroforez yürütülerek G tiplendirilmesi yapıldı.

Beg9(1-28)Wa 5'- GGC TTT AAA AGA GAG ATT TCC GTC TGG-3'

End9(1062-1036) 5'- GGT CAC ATC ATA CAA TTC TAA TCT AAG-3'

VP7-R(914-932) 5'- AAC TTG CCA CCA TTT TTT CC-3'

aBT1(314-335)Wa5'- CAA GTA CTC AAA TCA ATG ATG G-3'

aCT2(411-435)DS-1 5'- CAA TGA TAT TAA CAC ATT TTC TGT G-3'

aDT4(480-498)ST3 5'- CGT TTC TGG TGA GGA GTT G-3'

G3(250-269) 5'- ACG AAC TCA ACA CGA GAG G-3'

G9(757-776) 5'- CTT GAT GTG ACT AYA AAT AC-3'

3.3.2. Rotavirusun P genotiplenmesi için iki aşamalı RT-PCR testi

Rotavirus P genotiplenmesi için rotavirusun VP4 bölgesine ait 876 bp uzunluğundaki genom bölgesini hedef alan Con 2- Con 3 konsensus ile yukarıda anlatılan G genotiplenmesi için kullanılan aynı protokol gerçekleştirildi.

VP4 amplikasyonu için Primer Con 2 ve Con 3 kullanılarak RT MasterMix

hazırlanması:

2X Access Quick Master Mix	25µl
Con2(10µM)	1µl
Con3(10µM)	1µl
AMV	1µl
RNA'sız su	21µl
<hr/>	
Toplam	49 µl

dsRNA kalıplarından 1.25 µl alınarak Thermal Cycler içerisinde 97°C de beş dakika bekleterek denatüre edildi, daha sonra buz kalıplarında beş dakika bekletildi. Daha önce hazırlanan RT Mastermixle hazırlanan eppendorf tüplerinin her birine kalıptan bir µl ilave edildi.

45°C'de	45 dakika	}	1 siklus
95°C'de	2 dakika		
50°C'de	30 saniye		
72°C'de	1 dakika		
94°C'de	15 saniye	}	29 siklus
50°C'de	30 saniye		
72°C'de	1 dakika		
72°C'de	5 dakika	→	1siklus
4°C'de	muhafaza edildi.		

P0 cDNA elde edildi.

Elde edilen tek zincirli cDNA'lar P tipleri(P[4][6][8][9]) PCR Master Mix kullanılarak P tiplendirilmesi yapıldı.

P tipleri(P[4][6][8][9]) PCR Master Mix'in hazırlanması:

2 X PCR Master Mix(Promega)	25µl
HumCom5(10µM)	1µl
P[4](10µM)	1µl
P[6](10µM)	1µl
P[8](10µM)	1µl
P[9](10µM)	1µl
Nukleazsız su	19µl
<hr/>	
Toplam	49µl

Her bir örnek için 49 µl'lik solüsyon hazırlanarak eppendorf tüplerine kondu. Üzerine kalıp cDNA'dan bir µl ilave edildi.

94°C'de	10 saniye	}	30 siklus
42°C'de	30 saniye		
72°C'de	30 saniye		
72°C'de	5 dakika	→	30 siklus

Elde edilen ürün agaroz jel elektroforez yürütülerek P tiplendirilmesi yapıldı.

Con3(nt11-32) 5'-TGG CTT CGC CAT TTT TAT AGA CA-3'

Con2(nt868-887) 5'-ATT TCG GAC CAT TTA TAA CC-3'

HumCom5(nt200-221) 5'-CTC TCG ATG GTC CAT ATC AAC C-3'

P[8]P1A:Wa(nt456-480) 5'-TGT ACG TCT ATT ATA AAA TTC ATT T-3'

P[4]P1B:DS-1(nt347-368) 5'-ATA TAT TGC CTA TTT GTT TGA C-3'

P[6]P2:M37(nt592-613) 5'-GTA TTA CAG TTT CTA CTT CAG A-3'

P[9]P3:AU-1(nt533-552) 5'-CGT CGC TCC TTG ATA CCA GT-3'

3.4. Agaroz Jel Elektrofrez

G ve P tiplendirilmesi için elde edilen ürünleri Agaroz jel elektrofrezinde yürütüldü.

% 2'lik agaroz jel hazırlamak için;

1.2 gram agaroz hassas terazide tartıldı. 100 ml 1x TAE(Tris-asetik asit-EDTA)/TBE(Tris-borik asit-EDTA) içeren solüsyon erlenmayer içeresine ilave edildi.

2. Mikrodalga fırında agaroz tamamen çözülünceye kadar ısıtıldı. En düşük sıcaklık tercih edildi.

3. Jelin taşmasına engel olmak için 250 veya 500 ml'lik bir erlen kullanıldı.

4. Agaroz tamamen çözüldükten sonra katılaştıktan biraz soğuması beklendi

5. Jel elektroforez tankı içindeki kalıba dökülmeden önce içine renklendirici olarak DNA boyası Etidyum bromid (5µl(10mg/ml)) eklendi.
6. Kuyucuklara örnek yüklemesi için yükleme tamponu kullanıldı. Yükleme tamponu orange G, gliserol veya bromfenol mavisi, gliserol şeklinde hazırlandı.
7. Yükleme için düz bir aliminyum folyo üzerine veya 96 kuyucuklu mikroplak kuyucuklarına üç µl yükleme tamponu dağıtıldı. DNA veya RNA örneğinden dokuz µl alındı, yükleme tamponuyla karıştırıldı.
8. Her agaroz jel kuyucuğuna dokuz µl yükleme tamponu + DNA veya RNA karışımı yüklendi.
9. Bir kuyucuğa DNA parçalarının moleküler yüklerini tanımlamada yol gösterecek olan büyüklük belirteci yüklendi.
10. Ortalama olarak 90-100, arasında 30 dakika yürütülebilmekle birlikte jelin yürütülme süresi kullanılan elektroforez tankının büyüklüğüne, kullanılan agaroz çeşidine ve analiz edilen bant büyüklüğüne bağlı olarak farklılık göstermektedir.
11. Etidyum bromid içeren tank 20 dakikada boyandı.
12. UV ışık altında görüntüleme sistemi ile bantların değerlendirilmesi yapıldı.

3.5. Poliakrilamid jel elektroforezi ile elektrofenotiplendirme

Ekstraksiyon ürünleri Poliakrilamid jel elektroforezinde (Hofer®, San Francisco, ABD) yürütülerek elektrofenotiplendirme gerçekleştirildi.

3.5.1.Poliakrilamid jel elektroforez solüsyonlarının hazırlanması:

1-%30'luk Akrilamid hazırlanması

Akrilamid	29.2 gr (Merck, Almanya)
Bis akrilamid	0.8 gr (AppliChem, Almanya)
Distile su	100ml' ye tamamlanarak, +4°C'de bekletildi.

2- Koşurma Jel (Lower jel) tamponu (pH 8.8) hazırlanması

Tris Base	74.1gr (Amresco, ABD)
Tris HCL	21.7 gr (Sigma, Almanya)
Distile su	500 ml 'ye tamamlandı

Hazırlanan karışım otoklavlandı ve oda sıcaklığında bekletildi.

3-Yükleme Jel (Upper Jel) tamponu hazırlanması

Tris Base	0.254gr
Tris HCL	7.57gr
Distile su	100ml'ye tamamlandı.

Hazırlanan karışım otoklavlandı ve oda sıcaklığında bekletildi.

4-Amonyum Persulfat 100mg/ml

Amonyum Persulfat	1gr (Gibco BRL, ABD)
Distile su	10ml'ye tamamlandı ve +4°C'de bekletildi.

5-Örnek Tamponunun hazırlanması

Gliserol	2ml (Scharlau, İspanya)
Tris 0.635 M pH6.8 (0.76gr/10ml)	2ml (Amresco, ABD)
2 mercaptoethanol	1ml (Merck, Almanya)
%10SDS	5ml (Scharlau, İspanya)

Karışım hazırlandıktan sonra pipet ucuyla Bromofenol Blue (Carlo ERBA, İtalya) eklenerek mavi bir renk alması sağlandı ve 4°C'de bekletildi.

6-Elektroforez Tamponu 10X hazırlanması

Glisin	144gr (Merck, Almanya)
Tris Base	30.3 gr

Balon Jojeye hazırlanan tampon daha sonra 1X'e çevrilerek kullanıldı.

3.5.2.Poliakrilamid Jel Elektroforezinin hazırlanması

Koşturma jelinin hazırlanması (Resolving-Ayırıcı jel)

Koşturma Jel tamponu	7.5 ml
Distile su	10ml
Akrilamid (%30)	10ml
TEMED	15 µL (Sigma, Almanya)
Amonyum Persulfat	150 µL

Yükleme Jelinin hazırlanması (Steaking Jel)

Yükleme jel tamponu	2.5 ml
Distille su	6.2 ml
Akrilamid	1.33 ml
TEMED	10 µL
Amonyum persulfat	30 µL

Uygulama:

1-Dikey jel elektroforez camları distile su ile yıkandı, alkolle silindi ve kurularak, yüzeyde kir ve partikül kalması engellendi.

2-Cam tabakaların iki yanına jelin kalınlığı ölçüsünde teflondan yapılmış birer ayırıcı yerleştirildikten sonra birbirine bakacak şekilde sabitlendi ve yanlardan vidalarla sıkıştırılarak jelin döküleceği boşluk oluşturuldu.

3-Aparat hazırlandıktan sonra önceden hazırlanmış olan %10'luk koşturma jeli enjektör ile iki cam arasına döküldü. Burada jelin hava ile temasını kesmek için üzeri tamamen saf su ile dolduruldu. Jelin polimerize olması için yaklaşık 30 dakika beklenildi.

4-Koşturma jeli polimerize olduktan sonra üzerindeki saf su aparat ters çevrilerek boşaltıldı.

5-Camlar arasına dsRNA'ların yükleneceği çukurluklar hazırlanması için plastik taraklar yerleştirildi.

6-Bu işlemten sonra yükleme jeli, koşturma jeli üzerine döküldü. Taraklar etrafında baloncuk kalmayacak şekilde sabitlendi ve 30 dakika beklenildi.

7-Jel polimerize olduktan sonra taraklar çıkarıldı. Üst aparat camlar üzerine vidalandıktan sonra çukurlukların içi elektroforez tamponu ile yıkandı.

8- Tankının içi elektroforez tamponu ile dolduruldu ve örnek sekiz μL örnek tamponu ile karıştırılıp tüm numune elektroforez iğnesi yardımı ile jel

çukurluklarına yüklendi. İlk kuyucuğa marker dsRNA yüklendi. Tüm bu işlemler esnasında jellerin içinde ve arasında hava kabarcıklarının olmamasına dikkat edildi.

9-Yüklenmiş örnekler çift jel yürütüldüğünde güç kaynağı (LABNET International Power Station 300, Edison, ABD) ile 16 mA'de, tek jel yürütüldüğünde 8 mA'de 16 saat elektroforeze tabi tutuldu.

10-Brom Fenol Mavisinin jeldeki görüntüsü takip edildi. Koşurma işlemi tamamlandığında elektroforez durduruldu ve jel camların arasından dikkatlice çıkarılarak Etidyum bromidle boyanmış elektroforez tamponu içinde 20 dakika hafifçe sağa sola hareket ettirilerek boyandı.

11-Boyama sonucunda görüntüleme sistemi (UVITEC, Cambridge, İngiltere) ile jelin fotoğrafları çekildi.

12-Oluşan bantlar marker bantları ile karşılaştırıldı. Bantlar arasındaki benzerlik ve farklılıklar tespit edildi.



Şekil 3.6: Dikey Jel Elektroforez Cihazının Görüntüsü

3.6. Hastaların gruplanması ve değerlendirilmesi

Dışkıda rotavirus pozitif ve negatif bulunan hastane kaynaklı gastroenterit olguları daha önce belirtilen klinik özellikler ve risk faktörleri açısından karşılaştırıldı.

3.7. Verilerin analizi

Verilerin analizi "SPSS for Windows 11.5" paket programında yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler; sürekli değişkenler için ortalama \pm standart sapma (minimum-maksimum) şeklinde, nominal değişkenler ise vaka sayısı ve (%) biçiminde gösterildi. Cinsiyet oranları ve olguların kendi içinde

değerlendirilmesinde "Binom testi" uygulandı. Nominal değişkenler "Pearson'un Ki-Kare" testi ve çapraz tablolar (crosstabs) ile analiz edildi.

Rotavirusünün görülmesi üzerinde etkili olabileceği düşünülen sürekli ve nominal değişkenlerin istatistiksel olarak anlamlı etkilerinin olup olmadığı "Tek Değişkenli Lojistik Regresyon" analiziyle değerlendirildi.

P değerinin <0,05 olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Hastane kaynaklı gastroenteritin ve rotavirus enfeksiyonunun insidansı ve insidans dansitesi aşağıdaki formüllere göre hesaplandı.

$$\text{Enfeksiyon insidansı} = \frac{\text{Hastane kaynaklı gastroenterit/rotavirus sayısı}}{\text{Taburcu edilen (ölen dahil) hasta sayısı}} \times 100$$

$$\text{İnsidans dansitesi} = \frac{\text{Hastane kaynaklı gastroenterit/rotavirus sayısı}}{\text{Hasta günü}} \times 1000$$

4.BULGULAR

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Oyun Çocuğu ve Süt Çocuğu Servislerinde 15 Nisan 2009-15 Nisan 2010 tarihleri arasında çeşitli nedenlerle yatırılan, 1-60 ay yaş aralığındaki 467 olgunun 51'inde (%11) hastane kaynaklı gastroenterit saptandı.

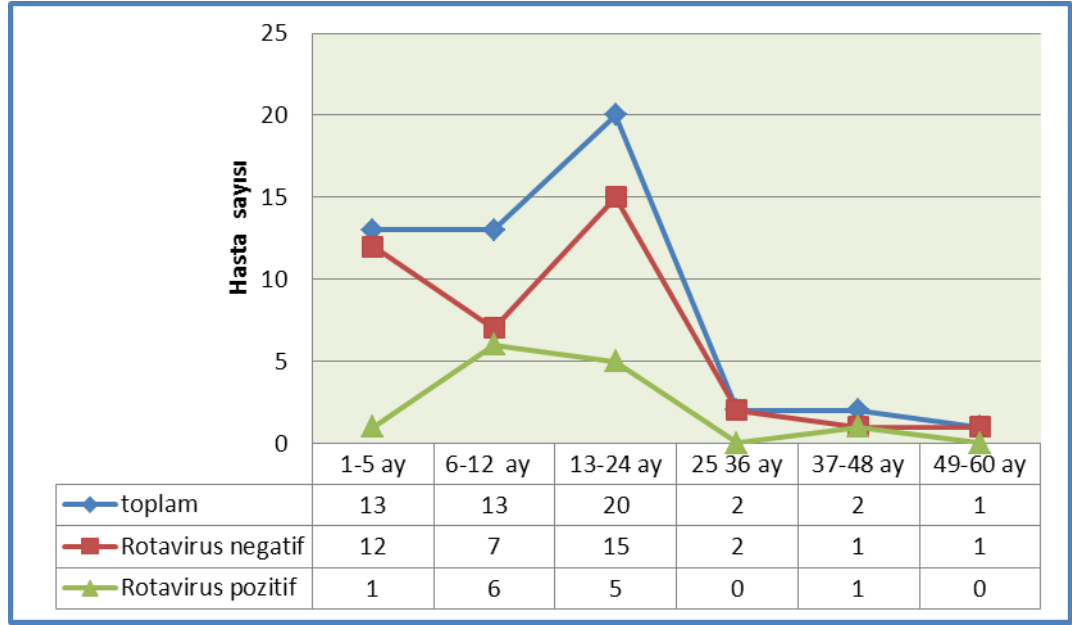
Hastane kaynaklı gastroenterit insidansı 100 yatan hasta başına 11, insidans dansitesi ise 1000 hasta günü için 5,6 olarak belirlendi. Bu 51 hastanın 13'ünde (%21,8) dışkıda rotavirus grup A antijeni pozitif bulundu. Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonunu insidansı 100 yatan hasta başına 2,8 ve insidans dansitesi ise 1000 hasta günü için 1,42 olarak saptandı.

Hastane kaynaklı gastroenterit olan olguların 33'ü (%64,7) erkek, 18'i (%35,3) kız ve yaş aralığı 1-58 ay (ort:14,7±12,3) idi. Rotavirus antijeni negatif olan 38 olgunun 24'ü (%63,2) erkek, 14'ü (%36,8) kız ve yaş aralığı 1-58 ay (ort:14,46±12,8) idi. Rotavirus antijeni pozitif olan olguların dokuzu (%69,2) erkek, dördü (%30,8) kız çocuklardan oluşmakta olup, yaş aralığı 5-48 ay (ort:15,4±11,2) bulundu. Rotavirusu antijeni pozitif ve negatif saptanan olgular arasında yaş ve cinsiyet açısından fark bulunmadı (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Rotavirus görülmesinde yaş ve cinsiyet etkilerinin incelenmesi

Değişkenler	Rotavirus (-) n(%)	Rotavirus (+) n(%)	P
Yaş(ay, ort±sd)	14,8±14,2	15,4±11,2	>0,05
Cinsiyet			
Kız	14 (%36,8)	4 (%30,8)	>0,05
Erkek	24 (%63,2)	9 (%69,2)	>0,05

Gastroenterit olgularının 13'ü (%25,5) 1-5 ay, 13'ü (%25,5) 6-12 ay, 20'si (%39,2) 13-24 ay, ikisi (%3,9) 25-36 ay, ikisi (%3,9) 37-48 ay, biri (%2) 49-60 ay yaş grubunda idi. Rotavirus antijeni negatif olan olguların 12'si (%31,6) 1-5ay, yedisi (%18,4) 6-12 ay, 15'i (%39,5) 13-24 ay, ikisi (%5,3) 25-36 ay, biri (%2,6) 37-48 ay, biri (%2,6) 49 ile 72 ay grubunda yer alıyordu. Rotavirus antijeni pozitif olan olgulardaki yaş dağılımı ise; 1-5 ay grubunda bir (%7,7), 6-12 ay grubunda altı (%46,2), 13-24 ay grubunda beş (%38,5), 37-48 ay grubunda bir (%7,7) hasta şeklinde idi. Yirmibeş-36 ay ve 49-60 ay arasındaki gruplarda dışkıda rotavirus antijeni pozitif bulunan hasta yoktu. Rotavirus antijeni pozitifliği açısından yaş grupları arasında fark bulunmadı (Şekil 4.1).



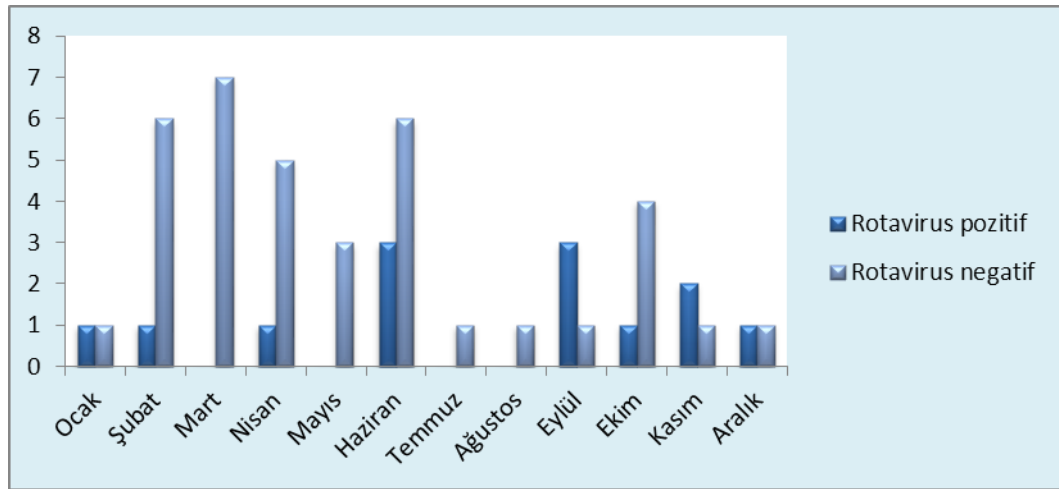
$p>0,05$

Şekil 4.1. Olguların yaş gruplarına ve rotavirus antijen varlığına göre dağılımı

Çalışma dönemi boyunca, hasta yatışlarının mevsimsel dağılımı, ilkbahar-yaz aylarında 232 (%49,6), sonbahar-kış aylarında ise 235 (%54,6) hasta yatışı şeklinde idi. Hastane kaynaklı gastroenteritlerin 27'si (%53) ilkbahar-yaz aylarında, 24'ü (%47) sonbahar-kış aylarında görüldü. Gastroenterit gelişimi açısından mevsimsel dağılım farkı görülmedi. İlkbahar-yaz aylarında dört (%30,8) olgunun dışkısında rotavirus antijeni pozitif; sonbahar-kış aylarında ise dokuz (%69,2) olgunun dışkısında rotavirus antijeni pozitif saptandı. Olguların mevsimsel dağılımı Tablo 4.2'de, aylara göre dağılım ise Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Rotavirus negatif hastane kaynaklı gastroenteritler daha çok ilkbahar yaz aylarında, rotavirus pozitif olanlar ise sonbahar ve kış aylarında görülmesine rağmen, mevsimsel dağılım açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Tablo 4.2.Olguların mevsimsel dağılımı

Mevsimler	Yatan hastalar n(%)	Hastane kaynaklı gastroenterit n(%)	Rotavirus negatif n(%)	Rotavirus pozitif n(%)	P
<i>İlkbahar-yaz</i>	232(%49,6)	27(%53)	23(%60,5)	4(%30,8)	>0,05
<i>Sonbahar-kış</i>	235(%54,6)	24(%47)	15(%39,5)	9(%69,2)	>0,05
Toplam	467(%100)	51(%100)	38(%100)	13(%100)	>0,05



Şekil 4.2. Olguların aylara göre dağılımı

Çalışmaya alınan olguların yatış nedenleri incelendiğinde, hastane kaynaklı gastroenterit saptanan 21 (%41,2) hasta tetkik amaçlı, 23 (%45,1) hasta enfeksiyon nedeniyle ve yedi (%13,7) hasta sıvı elektrolit bozukluğu, kalp yetmezliği, malnütrisyon gibi diğer nedenler ile yatırılmıştı. Rotavirus antijeni

negatif saptanan olguların 18'i (%47,4) tetkik amaçlı, 14'ü (%36,8) enfeksiyon nedeniyle, altısı (%15,8) diğer nedenlerden dolayı; rotavirus antijeni pozitif saptananların ise üçü (23,1) tetkik amaçlı, dokuzu (%69,2) enfeksiyon nedeniyle ve biri (%7,7) diğer nedenlerle yatırıldı. Yatış nedenleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Rotavirus pozitif grup yatış nedenleri açısından kendi içinde tekrar değerlendirildi, enfeksiyon nedeniyle yatan hastalarda, diğer nedenlerle yatan hastalara göre, rotavirus enfeksiyonu gelişimi istatistiksel olarak anlamlı yükseklik sıklık gösterdi ($p=0,021$)(Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Olguların yatış nedenlere göre dağılımı

Yatış Nedeni	Hastane kaynaklı gastroenterit n(%)	Rotavirus (-) n(%)	Rotavirus (+) n(%)	P
<i>Tetkik Amaçlı</i>	21 (%41,2)	18 (%47,4)	3 (%23,1)	>0,05
<i>Enfeksiyon</i>	23 (%45)	14 (%36,8)	9 (%69,2)*	>0,05
<i>Diğer</i>	7 (%13,8)	6 (%15,8)	1 (%7,7)*	>0,05

*: rotavirus pozitif grubun kendi içerisinde değerlendirilmesi $p=0,021$

Çalışmaya alınan hastaların 47'sinin (%92) gastrointestinal bulguları hastaneye yatışından ortalama $13,6\pm 20,6$ (3-92) gün sonra, dördünün (%8) gastrointestinal bulguları ise taburcu olduktan ortalama $1,75\pm 0,5$ (1-2) gün sonra ortaya çıktı. Rotavirus antijeni pozitif saptanan olguların 12'sinin (%92) gastrointestinal bulguları yatışından ortalama $24\pm 35,2$ (3-92) gün sonra, birinin (%8) ise taburcu olduktan iki gün sonra ortaya çıktı. Rotavirus antijeni negatif

olguların ise 35'inin (%92) gastrointestinal bulguları hastaneye yatışından ortalama 10 ± 11 (3-56) gün sonra, üçünün (%8) ise taburcu olduktan ortalama $1,67 \pm 0,57$ (1-2) gün sonra görüldü. Taburcu olduktan sonra gastrointestinal bulguları ortaya çıkan rotavirus antijeni pozitif saptanan olgulardan birinin tekrar hastaneye yatırılması gerekti. Gastrointestinal bulguların ortaya çıkış süresi açısından değerlendirildiğinde, her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$).

Çalışmaya alınan olguların klinik bulguları değerlendirildiğinde, hastane kaynaklı gastroenteritli hastaların 17'sinde (%33,3), rotavirus antijeni negatif olan olguların 10'nunda (%26,3); rotavirus antijeni pozitif olan olguların ise yedisinde (%53,8) kusma belirtisi mevcuttu. Rotavirus antijeni pozitif olan grupta, kusma daha sık görülen bir yakınma olmasına rağmen, bu açıdan her iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 4.4).

Ateş yüksekliği açısından olgular incelendiğinde, hastane kaynaklı gastroenteritli olan hastaların 15'inin (%29,4) ateşi 38°C ve üstünde tesbit edildi. Rotavirus antijeni pozitif grupta sekiz (%61,5) olguda, rotavirus negatif saptanan grupta ise yedi (%18,4) olguda yüksek ateş vardı. Ateş, rotavirus antijeni pozitif olanlarda rotavirus antijeni negatif olan gruba göre daha sık olmakla birlikte, ateş yönünden iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 4.4).

Çalışmaya alınan hastaların dehidratasyon dereceleri değerlendirildiğinde, hastane kaynaklı gastroenteritli olguların 21'inde (%41,2) hafif dehidratasyon, 19'unda (%37,3) orta-ağır dehidratasyon mevcuttu. Onbir (%21,5) olguda dehidratasyon

bulgusu saptanmadı. Hafif dehidratasyonu olan olguların 17'sinde (%44,7) rotavirus antijeni negatif, dördünde (%30,8) ise rotavirus antijeni pozitif saptandı. Orta-ağır dehidratasyonu olan olguların 12'sinin (%31,6) rotavirus antijeni negatif iken yedisinin (%53,8) pozitif. Dehidratasyon bulgusu saptanmayan 11 hastanın dokuzunun (%23,7) dışkısında rotavirus antijeni negatif, ikisinin (%15,4) dışkısında ise pozitif saptandı. Dehidratasyon varlığı ve dereceleri açısından gruplar arasında fark saptanmadı (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Olguların klinik bulgulara göre karşılaştırılması

Değişkenler	Hastane kaynaklı gastroenterit n(%)	Rotavirus (-) n(%)	Rotavirus (+) n(%)	P
Ateş				
<38 °C	36 (%70,6)	31 (%81,6)	5 (%38,5)	>0,05
>38 °C	15 (%29,4)	7 (%18,4)	8 (%61,5)	>0,05
Kusma				
Yok	34 (%66,7)	28 (%73,7)	6 (%46,2)	>0,05
Var	17 (%33,3)	10 (%26,3)	7 (%53,8)	>0,05
Dehidratasyon				
Yok	11 (%21,6)	9 (%23,7)	2 (%15,4)	>0,05
Hafif	21 (%41,2)	17 (%44,7)	4 (%30,8)	>0,05
Orta/Ağır	19 (%37,2)	12 (%31,6)	7 (%53,8)	>0,05

Hastane kaynaklı gastroenterit gelişmesinde etkili olabileceği düşünülen risk faktörleri değerlendirildi. Hastane kaynaklı gastroenterit olan olguların 38'inin (%68,6) altta yatan başka bir kronik hastalığı mevcut idi. Rotavirus antijeni

negatif saptanan olguların 26'sının (%68,4); rotavirus antijeni pozitif saptananların dokuzunun (%69,2) başka kronik hastalığı mevcuttu. Kronik hastalık varlığı açısından rotavirus antijeni pozitif ve negatif saptanan olgular arasında fark saptanmadı (Tablo 4.5).

Hastane kaynaklı gastroenterit geliştiren olguların beslenme şekilleri incelediğinde, sadece anne sütü ile beslenen dokuz (%17,6) hasta saptandı. Dokuzu (%17,6) anne sütü yanısıra ek gıda, 33'ü (%64,7) sadece ek gıda almaktaydı. Bu oranlar, rotavirus antijeni negatif olgularda sırayla %23,6, %15,9 ve %60,5 idi. Rotavirus antijeni pozitif grupta sadece anne sütü ile beslenen olgu yoktu. Üç olgu (%23) ek gıda ve anne sütü alırken, 10'u (%76,9) sadece ek gıda almakta idi. Rotavirus pozitif ve negatif grup arasında beslenme şekilleri açısından fark yoktu. Rotavirus pozitif grup kendi içinde değerlendirildiğinde, ek gıda ile beslenenlerde, sadece anne sütü ile beslenenlere göre hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu gelişme riski daha yüksek bulundu ($p=0,002$)(Tablo 4.5).

Çalışmaya alınan hastaların malnütrisyon durumları değerlendirildiğinde, hastane kaynaklı gastroenteritli olguların 20'si (%39,2) malnütre bulundu. Bu olguların yedisi (%13,7) hafif, 13'ü (%25,5) orta-ağır malnütrisyonluydu. Rotavirus antijeni pozitif olguların beşi (%38,5) malnütre, bunlarında ikisi (%15,4) hafif, üçü (%23,1) orta-ağır malnütre idi. Rotavirus antijeni negatif olanlarda ise bu oranlar sırasıyla; 15 (% 39,5), beş (%13,2), 10 (%26,3)'du. Malnütrisyonu olan ve olmayan gruplarda rotavirus görülme oranları istatistiksel olarak benzerdi ($p=0,581$)(Tablo 4.5).

Nebulizatör kullanımı açısından hastalar incelendiğinde, hastane kaynaklı gastroenteritli olanların 20'si (%39,2), rotavirus antijeni pozitif saptananlarının sekizi (%61,5), negatif olanların ise 12'si (%31,6) nebulizatör kullanmaktaydı. Nebulizatör kullananlarda hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyon oranı daha fazla olmakla birlikte bu açıdan her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 4.5).

Diğer bir risk faktörü olabileceği düşünülen antibiyotik kullanımı değerlendirildiğinde, olguların 30'unda (%58,8) antibiyotik kullanımı mevcuttu. Rotavirus negatif olanların 20'si (%52,6) ve rotavirus pozitif olanların ise 10'u (%76,9) antibiyotik kullanmaktaydı. Her iki grup karşılaştırıldığında bu açıdan istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Tablo 4.5).

Tüm olgular değerlendirildiğinde 10 (%19,6) olguda nazogastrik sonda kullanımı vardı. Rotavirus antijeni negatif olanların sekizi (% 21,1) ve rotavirus antijeni pozitif olanların ikisi (%15,4) nazogastrik sonda kullanmaktaydı. Rotavirus antijeni pozitif ve negatif olan gruplar arasında nasogastrik kullanım açısından anlamlı fark saptanmadı (Tablo 4.5).

Odadaki yatak sayıları açısından olgular değerlendirildiğinde, olguların 38'i (%74,5) birden fazla yataklı, 13'ü (%25,6) tek yataklı odalarda kalmakta idi. Rotavirus antijeni pozitif saptananların dördü (%30,8) tek yataklı, dokuzu (%69,2) birden fazla yataklı odalarda; rotavirus antijeni negatif olanlarda ise sırasıyla dokuz olgu (%23,7) ve 29 olgu (%76,3) tek ve birden fazla yataklı odalarda kalmaktaydı. Birden fazla yataklı odalarda yatan hastalarda gastroenteritli hasta

sayısı daha fazla olmakla beraber, odadaki yatak sayısı açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Tablo 4.5).

Olguların hastanede yatış süreleri değerlendirildiğinde, hastane kaynaklı gastroenteritlerin ortalama yatış süresi $28,6 \pm 53,3$ (4-318) gün, rotavirus antijeni pozitif olanların ortalama yatış süresi $58,2 \pm 98,9$ (7-318) gün, rotavirus antijeni negatif olanlarda ise bu süre $18,5 \pm 15,9$ (4-84) gün bulundu. Yatış süresi açısından rotavirus pozitif ve negatif grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Tablo 4.5).

Hastane kaynaklı enfeksiyonu olan olguların hepsinde periferik katater, iki hastada periferik kataterle birlikte santral katater de vardı. Çalışma grubundaki hastaların hiçbirine rotavirus aşısı uygulanmamıştı ve immünsüpresif ilaç kullanımı yoktu.

Tablo 4.5. Rotavirus pozitifliği üzerinde etkili olabilecek faktörlerin etkilerinin incelenmesi

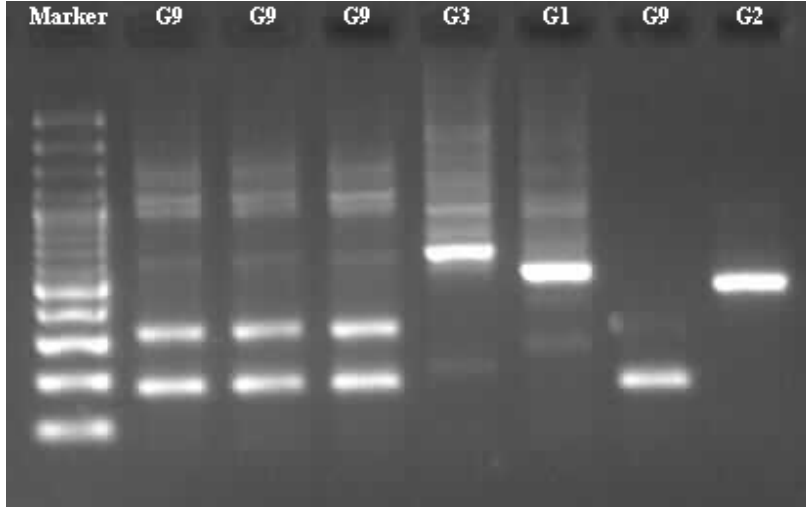
Değişkenler	Rotavirus (-) n(%)	Rotavirus (+) n(%)	P
Kronik Hastalık			
Yok	12 (%31,6)	4 (%30,8)	>0,05
Var	26 (%68,4)	9 (%69,2)	>0,05
Beslenme şekli			
Sadece anne sütü	9 (%23,6)	*	>0,05
Anne sütü+ek gıda	6 (%15,9)	3 (%23)	>0,05
Sadece ek gıda	23 (%60,5)	10 (%76,9)*	>0,05
Malnütrisyon			
Yok	23 (%60,5)	8 (%61,5)	>0,05
Var	15 (%39,5)	5 (%38,5)	>0,05
Nebulizatör			
Yok	26 (%68,4)	5 (%38,5)	>0,05
Var	12 (%31,6)	8 (%61,5)	>0,05
Nazogastrik			
Yok	30 (%78,9)	11 (%84,6)	>0,05
Var	8 (%21,1)	2 (%15,4)	>0,05
Antibiyotik Öyküsü			
Yok	18 (%47,4)	3 (%23,1)	>0,05
Var	20 (%52,6)	10 (%76,9)	>0,05
Odadaki Yatak Sayısı			
Tek Yatak	9 (%23,7)	4 (%30,8)	>0,05
Birden Fazla Yatak	29 (%76,3)	9 (%69,2)	>0,05
Yatış Süresi			
(gün ort±sd)	18,5±15,9	58,2±98,9	>0,05

*:rotavirus pozitif grubun kendi içinde beslenme şekillerine göre karşılaştırılması p=0.002

Hastane kaynaklı rotavirus gastroenteriti olan olgularının sekizi hem VP7 (G genotip) hem de VP4 (P genotip) varlığı yönünden incelendi. Rotavirusun VP7 bölgesine ait G genotiplerinden G1 %12,5, G2 %12,5, G3 %12,5 ve G9 %50

olarak belirlendi. Geriye kalan bir örnekte (%12,5) G genotipi belirlenemedi. Rotavirusun VP4 bölgesine ait P genotiplerinden %62,5'i P8 olarak belirlendi. Geriye kalan üç örnekte (%37,5) P genotipi belirlenemedi (Tablo 4.6). PAGE ile dikey elektroforez yöntemi kullanılarak yapılan elektrofenotipleme, üç örnekte E1 olarak belirlenirken beş örnekte elektrofenotiplendirme yapılamadı.

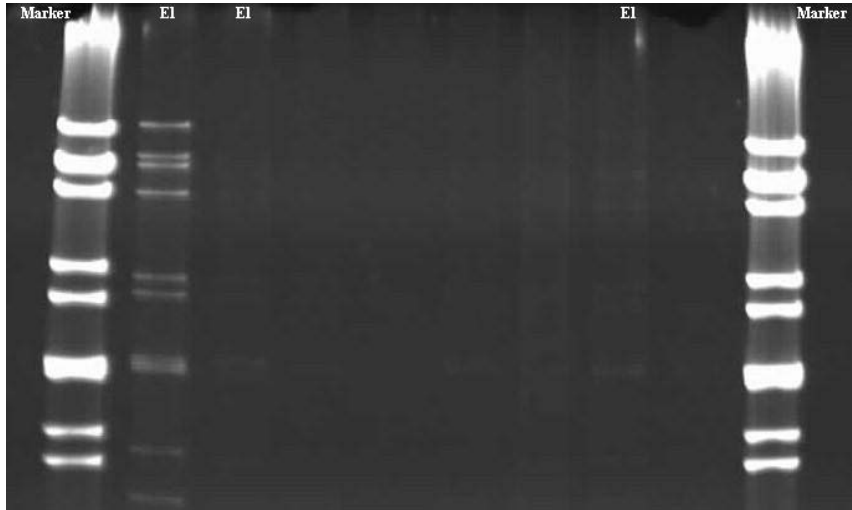
Dışkı örneklerinden RT-PCR ve PCR testi ile G ve P genotiplerinin ve PAGE ile dikey elektroforezle de elektrofenotipleme görüntüleri Şekil 4.3,4.4,4.5 'de görülmektedir.



Şekil 4.3. Rotavirusların G tiplerinin görünümü



Şekil 4.4. Rotavirusların P tiplerinin görünümü



Şekil 4.5. Rotavirusların PAGE ile dikey elektroforezle elektrofenotiplenmesi

Tablo 4.6. Rotavirus saptanan olgularda rotavirus tipleri yönünden olguların dağılımı

G tipi n(%)	P tipi n(%)		
	P8	Tiplendirilemeyen	Toplam
G9	2(%25)	2(%25)	4(%50)
G1	0	1(%12,5)	1(%12,5)
G2	1(%12,5)	0	1(%12,5)
G3	1(%12,5)	0	1(%12,5)
Tiplendirilmeyen	1(%12,5)	0	1(%12,5)
Toplam	5(%62,5)	3(%37,5)	8(%100)

5.TARTIŞMA

Akut gastroenterit, çocuklarda mortalite ve morbitenin en önemli nedenlerinden biridir (125). Her yıl beş yaş altındaki 700 milyon çocuk ishale yakalanırken, yaklaşık 2.100.000 çocuk ishal nedeni ile ölmektedir (37). Çocukluk çağı akut gastroenteritlerin en sık nedeni (%12-20) rotavirus olup, gelişmekte olan ve gelişmiş ülkelerde benzer sıklıkta görülmektedir (126). Rotavirus gastroenteriti nedeniyle yılda 2 milyon çocuk hastaneye yatırılmakta ve ortalama 440.000 çocuk hayatını kaybetmektedir (37).

Hastane kaynaklı gastroenteritler, ishal dışında başka bir nedenle hastaneye yatan bir hastada, yatıştan üç gün sonra veya taburcu olduktan sonra 48 saat içinde gastrointestinal semptomların ortaya çıkması olarak tanımlanır ve çocuklarda sık görülür. Çalışmamızda hastane kaynaklı gastroenteritin insidansı 100 yatan hasta başına 11, insidans dansitesi ise 1000 hasta günü için 5,6 olarak bulundu. Literatür bu açıdan incelendiğinde, Gutiérroz-Gimeno ve arkadaşları tarafından 2006-2007 yıllarında, İspanya'da 1-23 aylık çocuklarda yapılan çalışmada, hastane kaynaklı gastroentrit insidansı 100 yatan hasta başına 6,1, insidans dansitesi ise 1000 hasta günü başına 1,05 olarak bildirilmiştir (109). Román Riechmann ve arkadaşları tarafından İspanya'dan bildirilen hastane kaynaklı gastroentrit insidansı 9/100 yatan hasta, insidans dansitesi 1,75/1000 hasta gündür (127). Fransa'da beş yaş altındaki çocuklarda, 1999 yılında Ocak-Mart aylarında yapılan bir çalışmada hastane kaynaklı gastroenteritin insidansı ve insidans dansitesi sırasıyla 3,3/100 ve 0,81/1000 hasta gün olarak belirtilmiştir (128). Moreira ve arkadaşlarının

Brezilya’da, Kasım 2002-Eylül 2005 tarihleri arasında 18 yaş altında yaptıkları çalışmada bu hızlar sırasıyla, 4,2/100 yatan hasta, 3,8/1000 hasta günüdür (106). Fröhvirth ve arkadaşları, dört yaş altındaki çocuklarda Aralık 1997- Mayıs 1998 tarihlerinde yaptıkları çalışmada, hastane kaynaklı gastroenterit insidans dansitesini Almanya’da 4,5/1000 hasta günü, Avusturya’da 4,1/1000 hasta günü, İsviçre’de 1/1000 hasta günü olarak bildirilmişlerdir (129). Ülkemizde çocukluk yaş grubunu kapsayan hastane kaynaklı gastroenterit insidansı ve insidans dansitesi ile ilgili başka çalışmalara ulaşılamadı. Bizim çalışmamızda hastane kaynaklı gastroenterit insidansı ve insidans dansitesi diğer ülkelerden yapılan çalışmalardan yüksek bulunmuştur. Çalışmalarda kullanılan hastane kaynaklı gastroenterit vaka tanımları, çalışmaya alınan yaş grubu, çalışma sürelerinin ve mevsimlerinin farklı olmasından dolayı bu oranların değişkenlik gösterebileceği düşünülmüştür.

Rotavirus, çocukluk döneminin hastane kaynaklı gastroenteritlerinde çok sık karşılaşılan bir etkidir. Fisher ve arkadaşları hastane kaynaklı ishallerde rotavirus enfeksiyonunun görülme yüzdesinin gelişmiş ülkelerde ortalama %27, gelişmekte olan ülkelerde ise %32 olduğunu bildirmişlerdir (3). Çalışmamızda hastane kaynaklı gastroenteritli 51 hastanın 13’ünde (%25,5) rotavirus antijeni pozitif saptandı ve hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonunun insidansı 2,8/100 hasta ve insidans dansitesi 1,42/1000 hasta günü olarak hesaplandı. 2006 yılında İstanbul’da Yasa ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, yatarak izlenen bir ay-17 yaş arasındaki çocuklar değerlendirilmiş ve 73 rotavirus gastroenteritli hastanın 31’inin hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu olduğu tesbit edilmiştir

(130). Literatürde, ülkemizde bu konuda yapılan başka çalışmaya ulaşılamamıştır. İsrail’de Ocak 2003-Aralık 2006 tarihlerinde 0-18 yaş arasındaki çocukları kapsayan çalışmada, hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonunun insidansı 1/100 hasta, insidans dansitesi 2,4/1000 yatış günü olarak belirtilmiştir (131). Rodrigues ve arkadaşları Nisan 2001-Mayıs 2002 yıllarında 0-5 yaş arasındaki çocuklarda hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonunun insidans dansitesi 1,6/1000 hasta günü olarak bildirmiştir (110). İspanya’da, Gutiérroz-Gimeno ve arkadaşlarının 1-23 ay arasında çocuklarda yaptığı çalışmada hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonunun insidansı ve insidans dansitesi sırayla, 6,1/100 hasta ve 4,8/1000 hasta günü, Fransa’da, Aralık 2001-Mart 2002 yıllarında, bir ile 24 ay arasındaki çocuklarda yapılan çalışmada ise hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonunun insidansı 6,6/100 hasta, insidans dansitesi ise 15,8/1000 hasta günü olarak belirtilmiştir (109, 121). Almanya, Avusturya ve İsviçre’de, Frühwirth ve arkadaşlarının Aralık 1997-Mayıs 1998 tarihlerinde dört yaş altındaki çocuklarda yürüttükleri hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu çalışmasında, insidans dansitesinin 1-2,3/1000 hasta günü olarak değiştiği gösterilmiştir (129). Steele ve arkadaşları tarafından, Güney Afrika’da, Ocak -Aralık 1989 tarihlerinde, 6 ay-12 yaş arası çocuklarda yapılan çalışmada, 605 hastane kaynaklı gastroenterit olgusunun 37’sinde (%6,1) rotavirus antijeni pozitif saptanmıştır (118). İtalya’da Gianino ve arkadaşları, Aralık 1999-Mayıs 2000 tarihlerinde 1-18 aylık dönemdeki çocuklarda hastane kaynaklı gastroenteritli 220 hastanın 61’inde (%27,7) rotavirus antijenini pozitif bulmuşlardır (112). Yine İtalya’da Biermann ve arkadaşları, beş yaş altındaki çocuklarda hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonunun insidansını 1,9/100 hasta

olarak bulmuşlardır (132). Gusmão ve arkadaşlarının Brezilya’da yaptıkları çalışmada, Kasım 1992-Kasım 1994 yıllarında beş yaş altındaki çocuklarda hastane kaynaklı gastroenteriti olan 310 hastanın 18’inde (%5,8) rotavirus antijeninin pozitif olduğu bildirmişlerdir (115). Literatürdeki çalışmaların çoğu geriye dönük veya belirli mevsimlere yada salgın dönemlerine kısıtlı olacak biçimde planlanmıştır. Ülkeler arasındaki insidans ve insidans dansitesindeki farklılıklar, yapılan çalışmaların süresine, hedef aldığı yaş grubuna, hastadan örnek alma zamanının farklı olmasına bağlı olabilir. Benzer özellikteki çalışmalara bakıldığında, rotavirus pozitifliği yönünden çalışmamızın sonuçları gelişmiş ülkelerin sonuçları ile benzeşmektedir.

Çalışmamızda, hastane kaynaklı gastroenteritlerde rotavirus pozitif tesbit edilenlerin %69,2’si erkek, %30,8’i kız idi. Hastane kaynaklı ishal olan olgularda rotavirus pozitif ve negatif olgular arasında cinsiyet dağılımı açısından fark olmadığı görülmüştür. Herruzo ve arkadaşlarının 131, Moreira ve arkadaşlarının 66, Rodrigues ve arkadaşlarının 25, Frühwirth ve arkadaşlarının 159 çocuğu kapsayan çalışmalarında da benzer biçimde cinsiyet dağılımı açısından fark bulunmamıştır (78, 105, 110,129).

Toplum kaynaklı rotavirus enfeksiyonlarına göre hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonları küçük yaş gruplarını daha fazla etkilemektedir (5). Bizim çalışmamızda hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonunun ortalama görülme yaşı $15,4 \pm 11,2$ aydır. Rotavirus negatif olguların ortalama yaşı $14,8 \pm 14,2$ aydı ve bu açıdan her iki grup arasında fark olmadığı görüldü. Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu görülme yaşı, Moreira ve arkadaşlarının 0-18 yaş arası çocukları

kapsayan çalışmalarında ortalama 11 ± 13 ay, Fröhwhirth ve arkadaşlarının dört yaş altını kapsayan çalışmasında, Almanya'da ortalama 5,9 ay, Avusturya'da 7,4 ay ve İsviçre'de 2,8 ay olarak bulunmuştur (106, 129). Piednoir ve arkadaşlarının 0-5 yaş arasındaki çocuklarda yaptığı çalışmada, hastane kaynaklı rotavirus gastroenteriti olan hastaların ortalama yaşı 5,9 ay, Lee ve arkadaşlarının 0-19 yaş arası çocuklarda yaptığı çalışmada ortalama sekiz ay, Dennehy ve arkadaşlarının 0-2 yaş arasındaki çocukları kapsayan çalışmasında ise ortalama 4,1 ay bulunmuştur (121, 122, 133). Bu çalışmalarda, toplum kaynaklı rotavirus enfeksiyonlarının ortalama görülme yaşının hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonuna benzer olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonunun ortalama görülme yaşının diğer çalışmaların çoğundan daha yüksek olduğu görülmektedir. Çalışmamızın yenidoğanları içermemesi bu bulgunun nedeni olabilir.

Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonları daha çok bir yaş altındaki çocuklarda görülmektedir (5). Çalışmamızda, hastane kaynaklı gastroenteritlerde rotavirus antijeni pozitif saptanların %46,2'si 6-12 ay grubunda, %38,5'u 13-24 ay grubundaydı. Bu açıdan rotavirus negatif grupla arasında anlamlı fark saptanmadı. Yasa ve arkadaşları çalışmalarında, 1 ay-17 yaş grubundaki hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonlu çocukların %64'ünün 2-24 ay arasında yer aldığını bildirmişlerdir (130). Gutiérroz-Gimeno ve arkadaşlarının 1 ay-23 ay arasındaki çocukları kapsayan çalışmasında, hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu olanların %60'ı 6-23 ay arasındaydı (109). Bu çalışmalarda, toplum kaynaklı rotavirus enfeksiyonları bu açıdan değerlendirilmemiştir. Çalışmalarda

görüldüğü gibi hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonları çalışmamıza benzer biçimde daha çok iki yaş altındaki çocuklarda görülmektedir. Rotavirusun fekal oral yol ile bulaşı, virusun fiziksel şartlara dirençli olması, bulaşa olanak sağlayacak şekilde oyuncaklarda, ellerde uzun süre yaşayabilmesi ve iki yaş altındaki çocuklarda hemşire bakımı ve bez değiştirmenin daha fazla olması rotavirusun küçük yaş grubundaki çocukları daha fazla etkileme nedenleri olarak sayılabilir.

Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu ılıman iklimli ülkelerde, toplumsal kaynaklı rotavirus enfeksiyonlarının mevsimsel özelliğine benzer şekilde daha çok kış aylarında görülmektedir (6). Çalışmamızda, rotavirus antijeni pozitif saptanan olgular daha çok kış ve sonbahar aylarında görülmüştür. İspanya'da Herruzo ve arkadaşları Mayıs ve Eylül ayında, Gutiérroz-Gimeno ve arkadaşları Aralık-Ocak ayında, Dennehy ve arkadaşları Amerika Birleşik Devletlerinde Kasım ve Mayıs aylarında yürüttükleri çalışmada rotavirus enfeksiyonunun Şubat ayında pik yaptığını bildirmiştir (78, 109, 133). Guinea-Bissau'da Rodrigues ve arkadaşları ilkbahar ve kış aylarında, Lee ve arkadaşları Taiwan'da Şubat ve Nisan aylarında, Frühwirtz ve arkadaşları Almanya, Avusturya ve İsviçre'de hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyon sıklığını Şubat-Mart aylarında en yüksek düzeyde saptarken, İsrail'de Waisbourd-Zinman ve arkadaşları ile Florida'da Raad ve arkadaşları daha çok kış aylarında yoğunlaştığına dikkat çekmiştir (110, 122, 129, 131, 134). Çalışmalar genellikle salgın dönemlerine kısıtlı olacak biçimde yapılmıştır. Bu nedenle hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonların mevsimsel özelliğini yansıtan daha fazla çalışmanın yapılması gerekmektedir.

Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu gelişme riski üzerine etkili faktörler incelenirken, olgular yatış nedenlerine göre değerlendirildiğinde, hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu gelişen olguların, %69,2'si enfeksiyon, % 23'ü tetkik amaçlı, %7,7'si ise sıvı elektrolit, malnütrisyon ve kardiyolojik sorunlar gibi diğer nedenlerle yatırılmıştı. Bu açıdan; rotavirus negatif ve pozitif gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü. Rotavirus pozitif grup kendi içerisinde değerlendirildiğinde, enfeksiyon nedeniyle yatanlarda diğer nedenlerle yatanlara göre, rotavirus görülme oranı daha yüksek bulundu ($p=0,021$). Gutiérrroz-Gimeno ve arkadaşları hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu olan olguların %51,4'ünün solunum sistemi hastalıkları ve %14,3'ünün nörolojik problemler nedeniyle hastaneye yatırıldığı bildirilmiştir (109). Çalışmamızdaki enfeksiyonların büyük kısmını solunum sistemi enfeksiyonu oluşturmaktaydı. Enfeksiyon nedeniyle yatan hastalarda rotavirus enfeksiyonunun daha fazla görülmesi, rotavirus vakalarının pik yaptığı mevsimlerde tesadüfi olarak influenza ve "respiratuar sinsityal virus" gibi diğer hastalıklarında sıklığının artmasına bağlı olabilir.

Rotavirus enfeksiyonları çoğunlukla hastane yatışının ikinci ile altıncı günleri arasında ortaya çıkar (5). Yaptığımız çalışmada, hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu olan hastaların 12'sinin (%92) gastrointestinal bulgularının hastaneye yatışının altıncı gününden sonra, birinin (%8) ise bulguları taburcu olduktan iki gün sonra ortaya çıktığı tesbit edildi. Bu açıdan rotavirus negatif hastane kaynaklı gastroenteritli olgularla, pozitif olan olgular arasında fark saptanmadı. Literatür hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonunun ortaya çıkış süresi açısından

incelendiğinde, Rodrigues ve arkadaşlarının çalışmasında ortalama altı gün (2-13 gün), Dennehy ve arkadaşlarının çalışmasında ortalama 5,2 gün, Cone ve arkadaşlarının çalışmasında ise ortalama yedi gün (4-82 gün) olduğu görülmüştür (110, 133, 135). Ayrıca Lee ve arkadaşları çalışmalarında hastane kaynaklı rotavirus olgularının %95'nin hastanede yatarken, %5'inin ise taburcu olduktan sonra ortaya çıktığını ve gastrointestinal bulguların ortalama dokuz gün sonra görüldüğünü bildirmişlerdir (122). Bizim çalışmamızdaki veriler literatürdeki çalışmalarına benzerlik göstermektedir.

Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonlarının en sık görülen bulguları ateş ve kusmadır (5). Bizim çalışmamızda, hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu olgularının %53,8'inde kusma görülmüştür. Gutiérrez ve arkadaşlarının çalışmasındaki hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu olan olguların %51'inde, Lee ve arkadaşların çalışmasındaki olguların %59'unda kusma belirtisi mevcuttur (109, 122). Çalışmamızda kusma belirtisi sıklık açısından diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Herruzo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu olan yenidoğanların %12,5'unda kusma belirtisi görülmüştür (78). Bu oranın düşük olmasının nedeni, yenidoğanlara plasenta yoluyla anneden geçen antikorların enfeksiyonun daha hafif ve belirtisiz geçirilmesini sağlaması olabilir. Çalışmamızda rotavirus pozitif olan olgularda %61,5 oranında 38°C ve üstünde ateş tesbit edildi. Gutiérrez ve arkadaşları çalışmamızdaki orana benzer şekilde; ateş oranını %59, Lee ve arkadaşları %80 olarak bildirmiştir (109, 122). Lee ve arkadaşlarının çalışmasında ateşli çocuk oranının yüksek olması, çalışmanın immün yetmezlikli olguları içermesine

bağlanmıştır. Çalışmamızda, ateşli çocuk sayısı açısından rotavirus pozitif ve negatif grup arasında fark olmadığı görüldü. Dehidratasyon, rotavirus enfeksiyonlarında sık görülen bir bulgudur. Çalışmamızda, hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonlu olguların %84,6'sı dehidrate idi ve olguların %53,4'ünün dehidratasyonu orta-ağır derecede idi. Moreira ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonlu olgularının %37'sinin dehidratasyonu olduğu görülmüştür (105). Bu çalışmada, hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu olgularında, rotavirus negatif olgulara göre daha fazla dehidratasyon görüldüğünü bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda, rotavirus enfeksiyonlu olgularla, rotavirus negatif olgular arasında dehidratasyonlu olgu sayısı ve dehidratasyon derecesi açısından fark saptanmadı.

Ciddi immun yetmezlik, malnütrisyon, prematürite, düşük doğum ağırlığı gibi hastalıklar, hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu gelişme riskini artırmaktadır (5). Rotavirus pozitif olgularımızın %69,2'inde astım, gastrointestinal hastalıklar, malnütrisyon, metabolik hastalık, nörolojik hastalıklar gibi altta yatan başka kronik hastalık mevcuttu. Çalışmamızda kronik hastalık varlığı açısından rotavirus pozitif ve negatif olgular arasında fark bulunmadı. Lee ve arkadaşları, hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu olan olguların %59'unda altta yatan başka hastalığı olduğunu bildirmişlerdir (122). Moreira ve arkadaşları çalışmalarında, kronik hastalığı olanlarla olmayanlar arasında hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu gelişmesi açısından anlamlı fark bulunmadığını bildirmişlerdir (106).

Rotavirus negatif hastane kaynaklı enfeksiyonu olan hastaların %60,5'i sadece ek gıda, %23,6'sı sadece anne sütü, %15,9'u hem anne sütü hem de ek

gıda ile beslenmekteydi. Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu geliştirenlerin %23'ü anne sütü ve ek gıda alırken, %77'si sadece ek gıda almakta idi. Sadece anne sütü alan olgularımızın hiçbirinde rotavirus enfeksiyonu gelişmedi. Anne sütünün rotavirus enfeksiyonu üzerindeki koruyucu etkisi tam olarak bilinmemektedir. Bazı araştırmacılar anne sütünün rotavirus enfeksiyonuna karşı korumadığını, bazı araştırmacılar koruduğunu, bazıları ise sadece ciddi enfeksiyona karşı koruyucu etkisi olduğunu ileri sürmektedir (136-139). Mastretta ve arkadaşlarının, Laktobacillus GG ve anne sütünün hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonunu gelişimi üzerindeki etkisini değerlendirmek için 1-18 aylık çocuklarda yaptıkları çalışmada, Laktobacillus GG enfeksiyon önlemede etkisiz, anne sütü ise etkin bulunmuştur (140). Anne sütünde bulunan laktadherin ve glikoprotein rotavirusu bağlayabileceği ve çoğalmasını engellediği ve enfeksiyon bulgularını azalttığı gösterilmiştir (141).

Tüm gastroenterit olgularında olduğu gibi, rotavirus gastroenteriti ile malnütrisyon arasında da kısır döngü vardır. Malnütrisyon rotavirus gastroenteritinin morbiditesini artırırken, rotavirus gastroenteriti de malnütrisyon ile sonuçlanabilmektedir (142). Rotavirus enfeksiyonu olan olgularımızın %38,5 malnütre, %23,1 orta-ağır malnütre idi. Bu açıdan rotavirus antijeni negatif olan grup ile pozitif olan grup arasında anlamlı fark saptanmadı. Çalışmamızda, malnütrisyonu olan ve olmayan gruplarda rotavirus görölme oranları istatistiksel olarak benzer bulundu ($p=0,581$). Moreira ve arkadaşları, ağır malnütrisyonun hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu gelişimi üzerinde etkili olabilecek risk faktörü olduğunu ileri sürmüşlerdir (106). Hastanemizde yatan hastalarda ağır

malnütrisyonun az görülmesine bağlı olarak malnütrisyonun hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu üzerindeki etkisi tesbit edilememiş olabilir.

Nebulizatör kullanımının hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu gelişmesi üzerine etkisine ilişkin literatürde yeterli bilgi yoktur. Moreira ve arkadaşlarının hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonunu etkileyen risk faktörlerini değerlendiren çalışmasında, nebulizatör kullanan hastaların % 2,4'ünde kullanmayan hastaların ise %1,6'sında enfeksiyon geliştiği gösterilmiştir. Nebulizatör kullanımı ile rotavirus enfeksiyonu gelişimi arasında anlamlı ilişki bulunmadığı bildirilmiştir (106). Çalışmamızda, nebulizatör kullananlarda rotavirus enfeksiyonu daha fazla olmakla birlikte, istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Bu durumun hasta sayısının azlığına bağlı olabileceği düşünüldü.

Nazogastrik sonda kullanımının hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu üzerindeki etkisi değerlendirildiğinde, rotavirus enfeksiyonu gelişen olgularımızın %15,4'ünde nazogastrik sonda kullanımı tesbit edildi. Rotavirus enfeksiyonu olanlar ile rotavirus negatif hastane kaynaklı gastroenteritler arasında nasogastrik kullanım açısından anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Moreira ve arkadaşları nazogastrik sonda kullananların %5,3'de kullanmayanların %1,8'inde hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu geliştiğini saptamışlar ve nasogastrik sonda kullanımının hastane kaynaklı rotavirus gelişimi üzerinde etkili bir risk faktörü olduğunu bildirmişlerdir (106).

Antibiyotik kullanımının rotavirus enfeksiyonunu artırdığına ilişkin kesin bilgiler yoktur. Çalışmamızda, rotavirus pozitif saptanan olgularının %76,9'u, rotavirus negatif olan olguların ise %52,6'sının antibiyotik kullandığı tesbit

edilmiştir. Her iki grup arasında bu açıdan anlamlı fark saptanmamıştır. Herruzo ve arkadaşlarının yenidoğanlarda hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonların risk faktörlerini tanımlamak için yaptıkları çalışmada, rotavirus enfeksiyonu olanların %42,7'si, olmayanların ise %51,6'sının antibiyotik kullandığı saptanmış ve rotavirus enfeksiyonu ile antibiyotik kullanımı arasında anlamlı ilişki bulunmadığı belirtilmiştir (78). Literatüre benzer şekilde çalışmamızda da, hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu ile antibiyotik kullanımı arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır.

Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu gelişmesindeki risk faktörlerinden biri de hastaların kaldığı ortamın kalabalık olmasıdır (122). Çalışmamızda rotavirus pozitif olguların %30,8 bulgular ortaya çıkmadan önce tek yataklı, %69,2'si ise birden fazla yataklı odalarda kalmaktaydı. Birden fazla yataklı odalarda yatan hastalarda rotavirus enfeksiyonlu hasta sayısı daha fazla olmakla beraber, odadaki yatak sayısı açısından rotavirus antijeni negatif ve pozitif saptanan gruplar arasında fark saptanmadı. Dennehy ve arkadaşları 0-2 yaş grubunu kapsayan çalışmalarında, hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu olan 36 olgunun 17'sinin (%47) gastrointestinal bulguları ortaya çıktığında özel odada kalmakta olduğunu bildirmişlerdir (133). Odadaki yatak sayısı ile, rotavirus enfeksiyonunun görülme sıklığı arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Hastanede kalış süresi, hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonlarının gelişmesinde en önemli risk faktörüdür ve hastanede kalış süresinin altı günden fazla olmasının rotavirus enfeksiyonu oluşma oranını %70 artırdığı

bildirilmektedir (5). Rotavirus antijeni pozitif olan olgularımızın ortalama yatış süresi $58,2 \pm 98,9$ (7-318) gündür. Rotavirus antijeni negatif olan olgularla, pozitif olan olgular arasında hastane kalış süresi açısından anlamlı fark olmadığı görülmüştür. Cone ve arkadaşlarının çalışmasında hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu olan olguların ortalama yatış süresi 15 gün ve rotavirus negatif olan gruba göre daha uzun olarak bildirilmiştir (135). Çalışmamızdaki hasta sayısının az olması, 318 ve 243 gün yatan iki hastanın yatış süresini artırmasından dolayı ortalama yatış süresi artmaktadır.

Toplumdan kazanılan rotavirus enfeksiyonlarında G1, G2, G3, G4 ve G9 serotipleri ile kombine P[4] ve P[8] genotipleri yaygın olarak görülmektedir. Hastane kaynaklı enfeksiyonlarda ise G9P[8] ve G1P[8] en sık görülen rotavirus tipleridir (4). Bizim çalışmamızda sekiz hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu olgunun sekizi VP7 (G genotip) ve VP4 (P genotip) varlığı yönünden incelendi. Rotavirusun VP7 bölgesine ait G genotiplerinden G1 %12,5, G2 %12,5, G3 %12,5 ve G9 %50 olarak belirlendi. Rotavirusun VP4 bölgesine ait P genotiplerinden %62,5'i P8 olarak belirlendi. G9P[8] (%25) en sık saptanan rotavirus genotipi olmuştur, onu %12,5 ile G2P[8] ve G3P[8] takip etmektedir. Bir hastamızda (%12,5) G1 genotipi görülürken aynı olguda P genotipleme yapılamadı. Ülkemizde, hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonlarındaki genotip dağılımı ile ilgili çalışma yoktur. Gutiérrez-Gimeno ve arkadaşları İspanya'da 2006-2007 yılları arasında yaptıkları çalışmalarında 35 olgunun rotavirus tiplendirilmesini yapmışlardır. En yaygın G tipleri G9 %65,7, G1 %8,6, G2 %5,6, G3 %3, P[8] %74,3 ve P[4] %8,6 dır. G-P kombinasyonlarına göre

değerlendirildiğinde, %63 G9P[8] ve %8,6 G1P[8] bulunmuştur (109). Frühwirth ve arkadaşları Almanya’da Aralık 1997-Mayıs 1998 yıllarında hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonlu 28 olgunun tiplendirilmesini yapmışlar ve bu olguların %71’inde G1P[8], %11’inde G4P[8] rotavirus tiplerini saptamışlardır (143). Kang ve arkadaşlarının Kore’de 2001-2003 yıllarında yaptığı çalışmada, 23 hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu olan ve bir aydan küçük olgular bu açıdan incelenmiş, 19 hastada (%82,6) G4P[6] genotipi bulunmuştur. İki-42 ay arasında bir olguda G1P[8], bir olguda G2P[4] ve üç olguda G3P[8] bulunmuştur (144). Brezilya’da 1992-1994 yıllarında Gusmão ve arkadaşları 56 hastanın 18’nin tiplendirilmesi yapmış, G1 %11,1, G2 %88,9 oranlarında görülmüştür (145). Taiwan’da Lee ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada G9P[8], %42 oranında en fazla görülen serotip olurken, bunu %20 ile G1P[8], %19 ile G3P[8], %18 ile G2P[4] izlemiştir (122). Barnes ve arkadaşları Avustralya’da yaptıkları çalışmada 15 hastanın 11’inde G1, ikisinde G2, birinde G9 görüldüğünü belirtilmişlerdir (146). Çalışmamızda, İspanya ve Taiwan çalışmalarına benzer biçimde G9P[8] serotipi sık bulunmuştur.

Ülkemizde toplumsal kaynaklı rotavirus genotiplerinin dağılımı ile ilgili çok az sayıda çalışma mevcuttur. Kurugöl ve arkadaşları 2003 yılında İzmir’de gastroenterit sebebiyle hastaneye başvuran beş yaş altı 920 çocuktan %39,8’inde rotavirus tespit etmiş, izole edilen suşların %91’inin genotip G1-4 olduğu ve en sık oranla G1 genotipini (%75,1) bunu takiben G4 genotipini (%6,3), G3 genotipini (%3) ve G2 genotipini (%0,8) belirtmişlerdir (56). Çataloluk ve arkadaşları 2005 yılında Gaziantep’te yaptıkları çalışmada akut gastroenteritli 508

çocukta en sık G4P[8] genotipini saptamışlar ve G4P[8] (%42.2), G1P[8] (%26.6), G2P[4] (%3.1) ve G3P[8] (%1.5) genotiplerinin rotavirus enfeksiyonlarının %73,4'ünden sorumlu olduğu bildirmişlerdir. G9P[8] ise örneklerin %3,2'sinde bulunmuştur (147). Bozdayı ve arkadaşlarının Eylül 2004-Aralık 2005 yılları arasında Ankara'da yaptıkları çalışmada ise akut gastroenteritli 322 çocuktan alınan dışkı örneklerinin %39.7'sinde rotavirus tespit edilmiştir. En baskın genotiplerin G1P[8] (%55,5) ve G9P[8] (%10,1) olduğu gözlenmiştir (52). Bu çalışmalara göre G1P[8] genotipi, ülkemizde toplumsal kökenli rotavirus enfeksiyonlarının büyük kısmını oluşturmaktadır. Bizim çalışmamızda hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonunda ise G9P[8] genotipinin fazla olduğu görülmüştür. Ancak toplum ve hastane kaynaklı rotavirus tiplerinin farklı olduğunu söyleyebilmek için bu konuda yapılacak daha geniş moleküler epidemiyolojik çalışmalara gereksinim vardır. Bu bilgi aşı uygulama çalışmaları için değerli olacaktır.

6.SONUÇLAR

- 1.Çalışmamız ülkemizde hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonun sıklığını, risk faktörlerini inceleyen ve bu olgularda rotavirusun tiplendirilmesini yapan ilk çalışmadır.
- 2.Çalışmamızdaki hastane kaynaklı gastroenterit sıklığı 100 yatan hasta başına 11, insidans dansitesi 1000 hasta günü için 5,6 bulunmuştur. Rotavirus bağlı gastroenterit sıklığı 100 yatan hasta başına 2,8, insidans dansitesi ise 1000 hasta günü için 1,42 olarak saptanmıştır.
- 3.Cinsiyet ve yaş dağılımı açısından rotavirus pozitif ve negatif olgular arasında fark bulunmamıştır.
- 4.Hastane kaynaklı gastroenterit ve rotavirus enfeksiyonu literatürdeki çalışmalara benzer biçimde iki yaş altında sık görülmüştür (%90,92)
- 5.Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu gelişen grupta ortalama yaş (15,4±11,2 ay), literatürdeki diğer çalışmalardan daha yüksektir.
- 6.Enfeksiyon nedeniyle yatan hastalarda hastane kaynaklı rotavirus gastroenteriti daha sık gelişmiştir.
- 7.Rotavirus gastroenterit gelişimi açısından mevsimsel dağılım saptanmamıştır.
- 8.Klinik bulgular (ateş, kusma ve dehidratasyon) açısından rotavirus pozitif ve negatif gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

9. Odadaki yatak sayısı, kronik hastalık, malnütrisyon varlığı, nebulizatör, antibiyotik ve nazogastrik kullanımı ve beslenme tipi ile rotavirus gastroenteriti gelişme riski arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır.
10. Çalışmamızda, ek gıda ile beslenenlerde, sadece anne sütü ile beslenenlere göre hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyon riskinin daha yüksek olduğu görülmüştür.
11. Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu olan olgularda, en sık G9P[8] (%25) rotavirus genotipi saptanmıştır.

9.KAYNAK

1. Gray J, Vesikari T, Van Damme P, Giaquinto C, Mrukowicz J, Guarino A et al. Rotavirus. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008; 46(2 Suppl): 24-31
2. Franco MA, Angel J, Greenberg HB. Immunity and correlates of protection for rotavirus vaccines. *Vaccine* 2006; 24(15): 2718-31
3. Fischer TK, Bresee JS, Glass RI. Rotavirus vaccines and the prevention of hospital-acquired diarrhea in children. *Vaccine* 2004; 22(1 Suppl): 49–54
4. Rheingans RD, Heylen J, Giaquinto C. Economic of rotavirus gastroenteritis and vaccination in Europe. *Pediatr Infect Dis J* 2006; 25(1 Suppl): 48-55
5. Gleizes O, Desselberger U, Tatochenko V, Rodrigo C, Salman N, Mezner Z et al. Nosocomial rotavirus infection in European countries: a review of the epidemiology, severity and economic burden of hospital-acquired rotavirus disease. *Pediatr Infect Dis J* 2006; 25(1 Suppl): 12-21
6. Chandran A, Heinzen RR, Santosham M, Siberry GK. Nosocomial rotavirus infections: a systematic review. *J Pediatr* 2006; 149(4): 441-7
7. Bishop R. Discovery of rotavirus: implications for child health. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24(3 Suppl): 81–85
8. Zahorsky J. Hyperemesis hiemsis or the winter vomiting disease. *Arch Pediatr* 1929; 45: 391-5
9. Light JS, Hodes HL. Studies on epidemic diarrhea of the new-born: isolation of a filtrable agent causing diarrhea in calves. *Am J Public Health Nations Health* 1943; 33(12): 1451–4
10. Barnes GL, Bishop RF, Townley RR. Microbial flora and disaccharidase depression in infantile gastroenteritis. *Acta Paediatr Scand* 1974; 63(3): 423–6

11. Bishop RF, Davidson GP, Holmes IH, Ruck BJ. Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute non-bacterial gastroenteritis. *Lancet* 1973; 2(7841): 1281-3
12. Matthews RE. Third Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Classification and Nomenclature of Viruses. *Intervirology* 1978; 12(3-5): 129-296
13. Urasawa T, Urasawa S, Taniguchi K. Sequential passages of human rotavirus in MA-104 cells. *Microbiol Immunol* 1981; 25(10): 1025-35
14. Matthijnssens J, Ciarlet M, Rahman M, Attoui H, Bányai K, Estes MK et al. Recommendations for the classification of group A rotaviruses using all 11 genomic RNA segments. *Arch Virol* 2008; 153(8): 1621-29
15. Desselberger U, Manktelow E, Li W, Cheung W, Iturriza-Gomera M, Gray J. Rotaviruses and rotavirus vaccines. *Br Med Bull* 2009; 90: 37-51
16. Perez N. Rotavirus gastroenteritis: Why to back up the development of new vaccines ? *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2008; 31: 253-69
17. Iturriza Gomara M, Wong C, Blome S, Desselberger U, Gray J. Molecular characterization of VP6 genes of human rotavirus isolates: correlation of genogroups with subgroups and evidence of independent segregation. *J Virol* 2002; 76(13): 6596-601
18. Maldonado YA, Yolken RH. Rotavirus. *Baillieres Clin Gastroenterol* 1990; 4(3): 609-25
19. Patton JT. Structure and function of the rotavirus RNA-binding proteins. *J Gen Virol* 1995; 76(pt11): 2633-44
20. Subodh S, Bhan MK, Ray P. Genetic characterization of VP3 gene of group A rotaviruses. *Virus Genes*. 2006; 33(2): 143-5
21. Gardet A, Breton M, Fontanges P, Trugnan G, Chwetzoff S. Rotavirus spike protein VP4 binds to and remodels actin bundles of the epithelial brush border into actin bodies. *J Virol*. 2006; 80(8): 3947-56

22. Prasad BV, Chiu W. Structure of rotavirus. *Curr. Top Microbiol Immunol* 1994; 185: 9-29
23. Crawford SE, Mukherjee SK, Estes MK, Lawton JA, Shaw AL, Ramig RF et al. Trypsin cleavage stabilizes the rotavirus VP4 spike. *J Virol* 2001; 75(13): 6052-61
24. Heiman EM, McDonald SM, Barro M, Taraporewala ZF, Bar-Magen T. Group A human rotavirus genomics: evidence that gene constellations are influenced by viral protein interactions. *J Virol* 2008; 82(22): 11106-16
25. Contin R, Arnoldi F, Campagna M, Burrone OR. Rotavirus NSP5 orchestrates recruitment of viroplasmic proteins. *J Gen Virol.* 2010; 91(pt7): 1782-93
26. Keryer-Bibens C, Legagneux V, Namanda-Vanderbeken A, Cosson B, Paillard L, Poncet D et al. The rotaviral NSP3 protein stimulates translation of polyadenylated target mRNAs independently of its RNA-binding domain. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 390(2): 302-6
27. Rodríguez-Díaz J, Rubilar-Abreu E, Spitzner M, Hedlund KO, Liprandi F, Svensson L. Design of a multiplex nested PCR for genotyping of the NSP4 from group A rotavirus. *J Virol Methods.* 2008; 149(2): 240-5
28. Ciarlet M, Liprandi F, Conner M.E, Estes MK. Species specificity and interspecies relatedness of NSP4 genetic groups by comparative NSP4 sequence analyses of animal rotaviruses. *Arch Virol* 2000; 145(2): 371–83
29. Rainsford EW, McCrae MA. Characterization of the NSP6 protein product of rotavirus gene 11. *Virus Res* 2007; 130(1-2): 193-201
30. Matson D. Rotavirus. In: Sarah S, Lang MD, editors. *Principles and Practice of Pediatric Infectious Disease*, 2nd ed, Churchill Livingstone, 2002; Chapter 232: 465-70
31. Aung TS, Kobayashi N, Nagashima S, Ghosh S, Aung MS, Oo KY et al. Detection of group B rotavirus in an adult with acute gastroenteritis in Yangon, Myanmar. *J Med Virol* 2009; 81(11): 1968–74

32. Sanekata T, Ahmed MU, Kader A, Taniguchi K, Kobayashi N. Human group B rotavirus infections cause severe diarrhea in children and adults Bangladesh. *J Clin Microbiol* 2003; 41(5): 2187–90
33. Saif LJ, Bohl EH, Thell KW, Cross RF, House JA. Rotavirus-Like, Calicivirüs-Like, and 23-nm virüs-like particles associated with diarrhea in ount pigst. *J Clin Microbiol* 1980; 12(1): 105-11
34. Bridger JC, Pedley S, McCrae MA. Group C rotaviruses in humans. *J Clin Microbiol* 1986; 23(4): 760
35. Cunliffe NA, Dove W, Jiang B, Thinwda Cert BD, Broadhead RL, Molyneux ME et al. Detection of group C rotavirus in children with acute gastroenteritis in Blantyre, Malawi. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20(11): 1088
36. Rao CD, Gowda K, Reddy BS. Sequence analysis of VP4 and VP7 genes of nontypeable strains identifies a new pair of outer capsid proteins representing novel P and G genotypes in bovine rotaviruses. *Virology* 2000; 276(11): 104-13
37. Parashar UD, Gibson CJ, Bresee JS, Glass RI. Rotavirus and severe childhood diarrhea. *Emerg Infect Dis* 2006; 12(2): 304-306
38. Parashar UD, Hummelman EG, Bresee JS, Miller MA, Glass RI. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis* 2003; 9(5): 565-72
39. Bresee JS, Hummelman E, Nelson EA, Glass RI. Rotavirus in Asia: the value of surveillance for informing decisions about the introduction of new vaccines. *J Infect Dis* 2005; 192(1 Suppl): 1–5
40. Procop GW. Gastrointestinal infections. *Infect Dis Clin North America* 2001; 15(4): 1073-108
41. Enteric Viral Disease, Craiqheed John E, editor. Pathology and Pathogenesis of Human Viral Disease, 1nd ed. Academic Press, 2000; Chapter 32, 431-40

42. Mass G, Bausmeister HG, Freitag N, Viruses as causal agents of gastroenteritis in infants and young children. *MMW Munch Med Wochenschr* 1997; 119(32-33): 1029-34
43. Aihara M. Infectious disease in Kenya: Epidemiological study of diarrhoeal disease in children. *Rinsho Byori* 1997; 45(5): 421-6
44. Kheyami AM, Cunliffe NA, Hart CA. Rotavirus infection in Saudi Arabia. *Ann Saudi Med* 2006; 26(3): 184-91
45. Gastanaduy AS, Begue RE. Acute gastroenteritis. *Clin Pediatr (Phila)* 1999; 38(1): 1-12
46. Khalil K, Lindblom GB, Mazhar K, Khan SR, Kajiser B. Early child health in Lahore, Pakistan: VII. Microbiology. *Acta Paediatr* 1993; 82(390 Suppl): 87-94
47. Bhardwaj A, Aggarwal V, Chakravarty A, Mittal SK. Does rotavirus infection cause persistent diarrhoea in childhood? *Trop Gastroenterol* 1996; 17(1): 18-21
48. Mathur MS, Bhave GG. Comparative evaluation of coagglutination and latex agglutination test (Rotalex kit) for detection of Rotavirus. *J Postgrad Med* 1993; 39(3): 130-1
49. Cook S, Glass R, Lebaron C. Global seasonality of rotavirus infections. *Bull World Health Org* 1990; 68(2): 171-7
50. Mitui MT, Bozdayı G, Dalgic B, Bostancı I, Nishizono A, Ahmed K. Molecular characterization of a human group C rotavirus detected first in Turkey. *Virus Genes* 2009; 39(2): 157-64
51. Kuzuya M, Fujii R, Humano M, Ohata R, Ogura H, Yamada M. Seroepidemiology of human group C rotavirus in Japan based on a blocking enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001; 8(1), 161-5
52. Bozdayı G, Dogan B, Dalgic B, Bostancı I, Sarı S, Battaloglu NO et al. Diversity of human rotavirus G9 among children in Turkey. *J Med Virol* 2008; 80(4): 733-40

53. Şimşek Y, Bostancı I, Bozdayı G, Öner N, Kamruddin A, Rota S et al. 0-5 yaş çocuklarda akut gastroenteritte rotavirüs sıklığı ve serotip özellikleri. Türkiye Klin Pediatr 2007; 16: 165-70
54. Biçer S, Şahin GT, Koncay B, Yavuzcan D, Gemici H, Engerek N et al. Çocuk acil servisinde saptanan rotavirüs gastroenteriti olgularının sıklığı. Çocuk Enf Derg 2008; 3: 96-9
55. Bulut Y, İşeri L, Ağel E, Du maz B. Akut gastroenterit ön tanılı çocuklarda rotavirus pozitifliği. İnönü Üniv Tıp Bült 2003; 10(3): 143-5
56. Kurugöl Z, Geylani S, Karaca Y, Umay F, Erensoy S, Varda F et al. Rotavirus gastroenteritis among children under five years of age in İzmir, Turkey. Turk J Pediatr 2003; 45(4): 290-4
57. İnci A, Kurtoğlu MG, Baysal B. Bir eğitim araştırma hastanesinde rotavirus gastroenteriti prevalansının araştırılması. Türk Enf Derg 2009; 23(2): 79-82
58. Angel J, Franco MA. Rotaviruses. Mahy BWJ, van Regen Mortel MHV editors, Encyclopedia of Virology, 3rd Ed. Academic Pres, 2008; 507-13
59. Dennehy PH. Transmission of rotavirus and other enteric pathogens in the home. Pediatr Infect Dis J 2000; 19(10 Suppl): 103-5
60. Parashar UD, Bresee JS, Gentsch JR, Glass RI. Rotavirus. Emerg Infect Dis 1998; 4(4): 561-70
61. Ramig RF. Pathogenesis of intestinal and systemic rotavirus infection. J Virol 2004; 78(19): 10213-20
62. Lundgren O, Svensson L. Pathogenesis of rotavirus diarrhea. Microbes Infect 2001; 3(13): 1145-56
63. Hyser JM, Estes MK. Rotavirus vaccines and pathogenesis: 2008. Curr Opin Gastroenterol 2009; 25(1): 36-43
64. Lorrot M, Vasseur M. How do the rotavirus NSP4 and bacterial enterotoxins lead differently to diarrhea? Virol J 2007; 4(31): 1-6

65. Lundgren O. Enteric nerves and diarrhoea. *Pharmacol Toxicol* 2002; 90(3): 109–20
66. Ward R. Mechanism of protection against rotavirus infection and disease. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28 (3 Suppl): 57-9
67. Velazquez FR, Matson DO, Calva JJ. Rotavirus infections in infants as protection against subsequent infections. *N Engl J Med* 1996; 335(14): 1022–8
68. Shaw AR. The rotavirus vaccine saga. *Annu Rev Med* 2006; 57:167–80
69. Velazquez FR. Protective effects of natural rotavirus infection. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28(3 Suppl): 54–6
70. Anderson EJ, Weber SG. Rotavirus infection in adults. *Lancet Infect Dis* 2004; 4(2): 91-9
71. Brown KA, Kriss JA, Moser CA, Wenner WJ, Offit PA. Circulating rotavirus-specific antibodysecreting cells (ASCs) predict the presence of rotavirus-specific ASCs in the human small intestinal lamina propria. *J Infect Dis* 2000; 182(4): 1039–43
72. Yuan L, Ishida SI, Honma S, Patton JT., Hodgins DC., Kapikian AZ et al. homotypic and heterotypic serum isotype-specific antibody responses to rotavirus nonstructural protein 4 and viral protein VP 4, VP6, and VP7 in infants who received selected live oral rotavirus vaccines. *J Infect Dis* 2004; 189(10): 1833-45
73. Rota S, Fidan I. Noninflamatuvar ishallerin patogenezi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 2007; 37(4): 234-41
74. Ward RL, Jiang X, Farkas T, Bass DM. Virology of the gastrointestinal tract. In: Stephen K Tryng editor. *Mucosal Immunology and Virology*. Singapore: 2006; Chap 4; 55-70
75. Leung AK, Kellner JD, Davis HD. Rotavirus gastroenteritis. *Adv Ther* 2005; 22(5): 476-87

76. Dennehy PH. Acute diarrheal disease in children: epidemiology, prevention, and treatment. *Infect Dis Clin North Am* 2005; 19(3): 585-602
77. Sharma R, Hudak ML, Premachandra BR, Stevens G, Monteiro CB, Bradshaw JA et al. Clinical manifestations of rotavirus infection in the neonatal intensive care unit. *Pediatr Infect Dis J* 2002; 21(12): 1099–105
78. Herruzo R, Omeñaca F, Garcia S, Diez J, S anchez-Fauquier A. Identification of risk factors associated with nosocomial infection by rotavirus P4G2, in a neonatal unit of a tertiary-care hospital. *Clin Microbiol Infect* 2009; 15(3): 280–5
79. Ramani S, Kang G. Burden of disease and molecular epidemiology of group A rotavirus infections in India. *Indian J Med Res* 2007; 125(5): 619–32
80. Dennehy PH, Cortese MM, B egu  RE, Jaeger JL, Roberts NE, Zhang R. A case–control study to determine risk factors for hospitalization for rotavirus gastroenteritis in U.S. children. *Pediatr Infect Dis J* 2006; 25(12): 1123-31
81. Blutt SE, Matson DO, Crawford SE, Staat MA, Azimi P, Bennett BL et al. Rotavirus antigenemia in children is associated with viremia. *PLoS Med* 2007; 4(4): e121
82. Iturriza-G omara M, Auchterlonie IA, Zaw W, Molyneaux P, Desselberger U, Gray J. rotavirus gastroenteritis and central nervous system (CNS) infection: characterization of the VP7 and VP4 genes of rotavirus strains isolated from paired fecal and cerebrospinal fluid samples from a child with CNS disease. *J Clin Microbiol* 2002; 40(12): 4797–9
83. Bernstein DI. Rotavirus overview. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28(3 Suppl): 50–3
84. Al-Yousif Y, Anderson J, Bergstrom C, Bustamante A, Muenzenberger M, Austin K et al. Evaluation of a latex agglutination kit (Virogen Rotatest) for detection of bovine rotavirus in fecal samples. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001; 8(3): 496–98
85. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of rotavirus gastroenteritis among infants and children. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices(ACIP). *MMWR* 2006; 55(RR-12): 1-16

86. Gouvea V, Glass RI, Woods P, Taniguchi K, Clark HF, Forrester B, Fang Z. Polymerase chain reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens. *J Clin Microbiol* 1990; 28(2): 276-82
87. Arens M, Swierkosz EM. Detection of rotavirus by hybridization with a nonradioactive synthetic DNA probe and comparison with commercial enzyme immunoassays and silver-stained polyacrylamide gels. *J Clin Microbiol* 1989; 27(6): 1277-9
88. Rahman M, Matthijnssens J, Yang X, Delbeke T, Arijs I, Taniguchi K et al. Evolutionary history and global spread of the emerging G12 human rotaviruses. *J Virol* 2007; 81(5): 2382–90
89. D'Agostino J. Considerations in assessing the clinical course and severity of rotavirus gastroenteritis. *Clin Pediatr (Phila)* 2006; 45(3): 203-12
90. Atia AN, Buchman AL. Oral rehydration solutions in non-cholera diarrhea: a review. *Am J Gastroenterol* 2009; 104(10): 2596–604
91. Sandhu BK. Practical guidelines for the management of gastroenteritis in children. *J Pediatr Gastroenterol and Nutr* 2001; 33(2 Suppl): 36-9
92. Koletzko S, Osterrieder S. Acute infectious diarrhea in children. *Dtsch Arztebl Int* 2009; 106(33): 539-48
93. Ramsook C, Sahagun-Carreón I, Kozinetz CA, Morro-Sutherland D. A randomized clinical trial comparing oral ondansetron with placebo in children with vomiting from acute gastroenteritis. *Ann Emerg Med* 2002; 39(4): 397-403
94. Vesikari T, Rautanen T, Von Bonsdorff CH. Rotavirus gastroenteritis in Finland: burden of disease and epidemiological features. *Acta Paediatr Suppl* 1999; 88(426): 24–30
95. Parashar UD, Alexander JP, Glass RI. Centers for disease control and prevention of rotavirus gastroenteritis among infants and children. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR*. 2006; 55(RR-12): 1–16

96. Dennehy PH. Rotavirus vaccines: an overview. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21(1): 98–208
97. Glass RI, Bresee JS, Turcios R, Fischer TK, Parashar UD, Steele AD. Rotavirus vaccines: targeting the developing world. *J Infect Dis* 2005; 192(1 Suppl): 160–6
98. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Rotavirus vaccine for the prevention of rotavirus gastroenteritis among children. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep*. 1999; 48(RR-2): 1-20
99. Vesikari T. Safety and efficacy of a pentavalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine. *N.Engl. J. Med* 2006; 354(1), 23–33
100. Desselberger U, Wolleswinkel-van den Bosch J, Mrukowicz J, Rodrigo C, Giaquinto C, Vesikari T. Rotavirus types in Europe and their significance for vaccination. *Pediatr Infect Dis J* 2006; 25(1 Suppl): 30-41
101. Buttery JP, Kirkwood C. Rotavirus vaccines in developed countries. *Curr Opin Infect Dis* 2007; 20(3): 253-58
102. Carvalho AM, Giovanetti MC, Rabelo LF, Gontijo Filho PP. Hospital-acquired infections in paediatric patients: a prevalence study in three Brazilian government hospitals. *J Hosp Infect* 2001; 47(1): 71-88
103. Raymond J, Aujard Y. Nosocomial infections in pediatric patients: a European, multicenter prospective study. European study group. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2000; 21(4): 260-3
104. Lizioli A, Privitera G, Alliata E. Prevalence of nosocomial infections in Italy: result from the Lombardy survey in 2000. *J Hosp Infect* 2003; 54: 141–8
105. Moreira LL, Netto EM, Nascimento-Carvalho CM. Nosocomial gastroenteritis in children with and without rotavirus infection [letter]. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28(1): 72

106. Moreira LL, Netto EM, Nascimento-Carvalho CM. Risk factors for nosocomial rotavirus infection in a paediatric hospital: the potential role for rotavirus vaccine use. *Vaccine* 2009; 27 (3): 416-20
107. Posfay-Barbe KM, Zerr DM, Pittet D. Infection control in paediatrics. *Lancet Infect Dis* 2008; 8(1): 19-31
108. Forster J, Guarino A, Perez N, Moraga F, Romàn E, Mory O. Hospital-based surveillance to estimate the burden of rotavirus gastroenteritis among European children younger than 5 years of age. *Pediatrics* 2009; 123(3): e393-400
109. Gutiérrez-Gimeno MV, Martín-Moreno JM, Díez-Domingo J, Asensi-Botet F, Hernández-Marco R, Correcher-Medina P. Nosocomial rotavirus gastroenteritis in Spain. *Pediatr Infect Dis J* 2010; 29(1): 23-7
110. Rodrigues A, Carvalho M, Monteiro S, Mikkelsen CS, Aaby P, Molbak K et al. Hospital surveillance of rotavirus infection and nosocomial transmission of rotavirus disease among children in Guinea-Bissau. *Pediatr Infect Dis J* 2007; 26(3): 233-7
111. Gianino P, Mastretta E, Longo P, Laccisaglia A, Sartore M, Russo R et al. Incidence of nosocomial rotavirus infections, symptomatic and asymptomatic, in breast-fed and non-breast-fed infants. *J Hosp Infect* 2002; 50(1): 13-7
112. Rodriguez-Baez N, O'Brien R, Qui SQ, Bass DM. Astrovirus, adenovirus, and rotavirus in hospitalized children: prevalence and association with gastroenteritis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002; 35(1): 64-8.
113. Widdowson MA, van Doornum GJ, van der Poel WH, de Boer AS, van de Heide R et al. An outbreak of diarrhea in a neonatal medium care unit caused by a novel strain of rotavirus: investigation using both epidemiologic and microbiological methods. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002; 23(11): 665-70
114. Berner R, Schumacher RF, Hameister S, Forster J. Occurrence and impact of community-acquired and nosocomial rotavirus infections-a hospital-based study over 10 y. *Acta Paediatr Suppl* 1999; 88(426): 48-52

115. Gusmão RH, Mascarenhas JD, Gabbay YB, Lins-Lainson Z, Ramos FL, Monteiro TA. Rotavirus as a cause of nosocomial infantile diarrhoea in northern Brazil: pilot study. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1995; 90(6): 743-9
116. Mrukowicz J, Szajewska H, Vesikari T. Options for the prevention of rotavirus disease other than vaccination. *J Pediatr Gastroenterol and Nutr* 2008; 46(2 Suppl): 32-7
117. Bhan MK, Lew JF, Sazawal S, Das BK, Gentsch JR, Glass RI. Protection conferred by neonatal rotavirus infection against subsequent rotavirus diarrhea. *J Infect Dis* 1993; 168(2): 282-7
118. Steele AD, Mnisi YN, Williams MM, Bos P, Aspinall S. Electrophoretic typing of nosocomial rotavirus infection in a general paediatric unit showing the continual introduction of community strains. *J Med Virol* 1993; 40(2): 126-32
119. Abiodun PO, Omoigberale A. Prevalence of nosocomial rotavirus infection in hospitalized children in Benin City, Nigeria. *Ann Trop Paediatr* 1994; 14(1): 85-8
120. Lam BC, Tam J, Ng MH, Yeung CY. Nosocomial gastroenteritis in paediatric patients. *J Hosp Infect* 1989; 14(4): 351-5
121. Piednoir E, Bessaci K, Bureau-Chalot F, Sabouraud P, Brodard V, Andréoletti L et al. Economic impact of healthcare-associated rotavirus infection in a paediatric hospital. *J Hosp Infect* 2003; 55(3): 190-5
122. Lee JT, Lee CN, Shao PL, Chang LY, Lu CY, Lee PI et al. Clinical characteristics of nosocomial rotavirus infection in children in Taiwan. *J Formos Med Assoc* 2008; 107(10): 791-7
123. Zerr DM, Allpress AL, Heath J, Bornemann R, Bennett E. Decreasing hospital-associated rotavirus infection. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24(5): 397-403
124. Gomez F, Galvan RR, Craviato J, et al. Malnutrition in infancy and childhood with special reference to kwashiorkor. *Adv Pediatr* 1995;7:131-69

125. Chen SM, Ni YH, Chen AL, Chang MH. microbial etiology of acute gastroenteritis in hospitalized children in Taiwan. *J Formos Med Assoc* 2006; 105(12): 964-70
126. Özkasap S, Yıldırım A, Yüksel S. Akut Gastroenterit ve Tedavisi. *Klinik Pediatri* 2004; 3 (1): 12-8
127. Román Riechmann E, Wilhelmi de Cal I, Cilleruelo Pascual ML, Calvo Rey C, García ML, Sánchez-Fauquier A. Nosocomial gastroenteritis and asymptomatic rotavirus and astrovirus infection in hospitalized children [abstract]. *An Pediatr (Barc)* 2004; 60(4): 337-43
128. Thuret A, Patural H, Berthelot P, Benzait F, Martin I, Jusot JF et al. Prospective follow-up of hospital-acquired diarrhoea in 28 paediatric wards of the south-east part of France during a winter season [abstract]. *Pathol Biol (Paris)* 2004; 52(3): 131-7
129. Frühwirth M, Heininger U, Ehlken B, Petersen G, Laubereau B, Moll-Schüler I et al. International variation in disease burden of rotavirus gastroenteritis in children with community- and nosocomially acquired infection. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20(8): 784-91
130. Yasa O, Ergüven M, Karaca Atakan S, Çetiner N, Mısırlı T, Akkoç A. Yatarak izlenen rotavirus vakalarımızın epidemiyolojik özellikleri ve nozokomiyal infeksiyon. *Çocuk Derg* 2009; 9(3): 127-30
131. Waisbourd-Zinman O, Ben-Ziony S, Solter E, Scherf E, Samra Z, Ashkenazi S. Hospitalizations for nosocomial rotavirus gastroenteritis in a tertiary pediatric center: a 4-year prospective study. *Am J Infect Control*. 2009; 37(6): 465-9
132. Biermann KP, Neri S, Reali MF, De Martino M, Festini F. Incidence of nosocomial rotavirus infections in a pediatric hospital over a 3-year period [abstract]. *Minerva Pediatr* 2006; 58(5): 477-82
133. Dennehy PH, Peter G. Risk factors associated with nosocomial rotavirus infection. *Am J Dis Child* 1985; 139(9): 935-9

134. Raad II, Sherertz RJ, Russell BA, Reuman PD. Uncontrolled nosocomial rotavirus transmission during a community outbreak. *Am J Infect Control* 1990; 18(1): 24-8
135. Cone R, Mohan K, Thouless M, Corey L. Nosocomial transmission of rotavirus infection. *Pediatr Infect Dis J* 1988; 7(2): 103-9
136. Golding J, Emmett PM, Rogers IS. Gastroenteritis, diarrhoea and breast-feeding. *Early Hum Dev* 1997; 29(49 Suppl): 83-103
137. Naficy AB, Abu-Elyazeed R, Holmes JL. Epidemiology of rotavirus diarrhea in Egyptian children and implication for disease control. *Am J Epidemiol* 1999; 150(7): 770-7
138. Sethi D, Cumberland P, Hudson MJ, Rodrigues LC, Wheeler JG, Roberts JA et al. A study of infectious intestinal disease in England: risk factors associated with group A rotavirus in children. *Epidemiol Infect* 2001; 126(1): 63-70
139. Newburg DS, Peterson JA, Ruiz-Palacios GM, David O Matson, Morrow AL, Shults J et al. Role of human-milk lactadherin in protection against symptomatic rotavirus infection. *Lancet* 1998; 351(9110): 1160-4
140. Mastretta E, Longo P, Laccisaglia A, Balbo L, Russo E, Mazzaccara A et al. Effect of *Lactobacillus GG* and breast-feeding in the prevention of rotavirus nosocomial infection. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002; 35(4): 529-31
141. Yolken RH, Peterson JA, Vonderfecht SL, Fouts ET, Midthun K et al. Human milk mucin inhibits rotavirus replication and prevents experimental gastroenteritis. *J Clin Invest* 1992; 90: 1984-91
142. Kurugöl Z. Rotavirus aşıları. *Çocuk Enf Derg* 2009; 3(1 Suppl): 1-7
143. Frühwirth M, Berger K, Ehlken B, Moll-Schüler I, Brösl S, Mutz I. Economic impact of community- and nosocomially acquired rotavirus gastroenteritis in Austria. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20(2): 184-8

144. Kang JO, Kim CR, Kilgore PE, Choi TY. G and P genotyping of human rotavirus isolated in a university hospital in Korea: implications for nosocomial infections. *J Korean Med Sci* 2006; 21(6): 983-8.
145. Gusmão RH, Mascarenhas JD, Gabbay YB, Lins-Lainson Z, Ramos FL, Monteiro TA et al. Rotavirus subgroups, G serotypes, and electrophoretotypes in cases of nosocomial infantile diarrhoea in Belém, Brazil. *J Trop Pediatr* 1999; 45(2): 81-6
146. Barnes GL, Callaghan SL, Kirkwood CD, Bogdanovic-Sakran N, Johnston LJ, Bishop RF. Excretion of serotype G1 rotavirus strains by asymptomatic staff: a possible source of nosocomial infection. *J Pediatr* 2003; 142(6): 722-5
147. Çataloluk O, Iturriza M, Gray J. Molecular characterization of rotaviruses circulating in the population in Turkey. *Epidemiol Infect* 2005; 133(4): 673-8

8.ÖZET

Çocukluk yaş grubunda hastaneden kazanılan gastroenterit olgularında viruslar ve özellikle rotavirus sık görülmektedir. Hastane kaynaklı gastroenteritler konusunda yapılan çalışmalar çoğunlukla kayıtların taranması biçiminde olup belirli mevsim ve salgın dönemlerini kapsamaktadır. Bu konuda yapılmış prospektif çalışma sayısı oldukça azdır. Bu araştırma, 1-60 ay arası çocuklarda hastane kaynaklı rotavirus gastroenteriti sıklığını, bu enfeksiyonun gelişimi üzerine etkili faktörleri ve bu olgularda rotavirüs serotiplerini belirlemek amacıyla ileriye dönük bir çalışma olarak planlandı.

Çalışmaya, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Oyun Çocuğu ve Süt Çocuğu Servislerinde 15 Nisan 2009-15 Nisan 2010 tarihleri arasında çeşitli nedenlerle yatırılan, 1-60 ay yaş aralığındaki 467 olgu alındı. Bu olgulardan 51'inde hastane kaynaklı gastroenterit gelişti. Hastalardan alınan dışkı örneklerinde öncelikle Grup A rotavirus antijen tayini için ELISA testi, rotavirus antijen pozitif bulunan dışkı örneklerinde ise G ve P tiplendirilmesi için RT-PCR testi yapıldı. Hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonunu etkileyebilecek risk faktörleri değerlendirildi.

Araştırmamızda, hastane kaynaklı gastroenteritin insidansı 11/100 hasta, insidans dansitesi 5,6/1000 hasta günü, hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonun insidansı 2,8/100 hasta ve insidans dansitesi 1,42/1000 hasta günü olarak saptandı. Hastaneye bir başka enfeksiyon nedeniyle yatmak ve hiç anne sütü almamış

olmak, rotavirus enfeksiyonu gelişimine katkıda bulunan risk faktörleri olarak saptandı. En sık saptanan rotavirus genotipi, G9P[8] (%25) idi.

Literatür incelendiğinde ülkemizde hastane kaynaklı rotavirus enfeksiyonu inceleyen çalışmaya ulaşılamadı. Araştırmamızın sonuçlarının, ülkemizde bu konuyu inceleyen ilk çalışma olarak önem taşıdığı düşünüldü.

Anahtar kelimeler: Rotavirus, Hastane kaynaklı gastroenterit, Risk faktörleri

9.SUMMARY

Frequency of Nosocomial Rotavirus Infections, Factors Affecting its Development in Children Under Five Years of Age and Typing of the Virus

Viruses and especially rotavirus are commonly encountered in cases of nosocomial gastroenteritis during childhood period. Studies dealing with nosocomial gastroenteritis are mostly based on survey of the records covering particular seasonal and epidemic periods. Number of prospective studies about this topic is very few. This study was designed as a prospective study in children aged 1-60 months in order to define the frequency of nosocomial rotavirus gastroenteritis, factors affecting development of this infection and rotavirus serotypes in these cases.

A total of 467 cases aged 1-60 months who had been hospitalised due to various diagnosis at infant and toddler wards of Gazi University Medical Faculty Hospital during 15 April 2009 to 15 April 2010 were included in this study. In 51 of these cases nosocomial gastroenteritis was developed. Stool specimens obtained from the patients were initially investigated by ELISA test to detect Group A rotavirus antigen and then G and P typing was done by RT-PCR test in rotavirus antigen positive specimens. Risk factors that might affect nosocomial rotavirus infections were evaluated.

In the present study, incidence and incidence density of nosocomial gastroenteritis was found to be 11/100 patient, 5,6/1000 ill day, respectively

whereas incidence of nosocomial rotavirus infection and incidence density was shown to be 2,8/100 and 1,42/1000 respectively. Hospitalisation due to another infection and being not breastfed ever were found to be the risk factors contributing development of rotavirus infection. The most common rotavirus genotype was detected as G9P[8] (%25).

When the literature was searched for studies dealing with nosocomial rotavirus infections in our country no studies have been found. It has been thought that this study is critically important being the first study investigating this issue.

Key words: Rotavirus, nosocomial gastroenteritis, risk factors

EK-1

HASTANE KAYNAKLI ROTAVİRUS ENFEKSİYONLARININ SIKLIĞI, ENFEKSİYON GELİŞİMİ ÜZERİNDE ETKİLİ FAKTÖRLER VE VİRUSUN TİPLENDİRİLMESİ DEĞERLENDİRMEK AMACIYLA YAPILAN ANKET

TARİH:

HASTANIN

ADI-SOYADI:

2.KEZ HASTENEYE YATIŞ VARLIĞI:

YAŞ:

CİNSİYET:

DOSYA NO:

ADRES:

TEL NO:

- ROTAVİRUS AŞISI:
- KRONİK HASTALIK VARLIĞI:
- YATIŞ NEDENİ:
- YATIŞ SÜRESİ:
- ANNE SÜTÜ ALIMI:
- EK GIDA ALIMI:
- MALNÜTRİSYON VARLIĞI*: >90 75-89 60-74 60>
- İMMUNSUPRESİF İLAÇ ALIMI:
- NEBULAZATÖR KULLANIMI:
- NAZOGASTRİK KULLANIMI:
- PERİFERİK KATETER VARLIĞI:
- SANTRAL KATETER VARLIĞI:
- ANTİBİYOTİK KULLANIMI
- ODADAKİ YATAK SAYISI:
- İŞHALİNİN YATIŞININ KAÇINCI GÜNÜ BASLADI:
- TABURCU OLDUYSA KAÇINCI GÜNÜ İŞHAL BASLADI:
- SEMPTOMLAR:
İŞHAL SÜRESİ(gün) <10 >10
ATEŞ: <38 C >38 C
KUSMA:
DEHİTRATASYON BULGULARI: YOK HAFİF ORTA-AĞIR
ROTAVİRUS TİPLENDİRİLMESİ:

11.ÖZGEÇMİŞ

Adı: ŞERİFE MEHTAP

Soyadı: (OLCAR) KANBUR

Doğum Tarihi: NİĞDE

Doğum Yeri: 17.12.1980

Eğitimi:

Gazi Üniversitesi Çocuk Hastalıkları (2005-2010)

Seçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi (1998-2004)

Niğde Anadolu Lisesi (1991-1998)

Niğde İnönü İlkokulu (1986-1991)

Yabancı dil: İNGİLİZCE

e-mail: serifemehtapolcar@hotmail.com