

TC
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DIŞKI ÖRNEKLERİNDE ROTAVİRÜSÜN İKİ FARKLI
SEROLOJİK METODLA ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Oktay İLHAN

TEZ DANIŐMANI
Prof. Dr. Mehmet BAYRAKTAR

ŐANLIURFA
2016

**TC
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DIŞKI ÖRNEKLERİNDE ROTAVİRÜSÜN İKİ FARKLI
SEROLOJİK METODLA ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Oktay İLHAN**

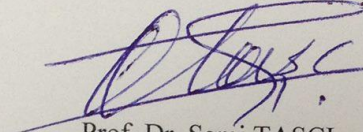
**TEZ DANIŐMANI
Prof. Dr. Mehmet BAYRAKTAR**

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fon Saymanlığı tarafından
12192 proje numarası ile desteklenmiştir

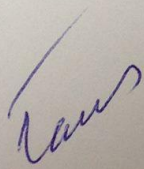
**ŐANLIURFA
2016**

HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

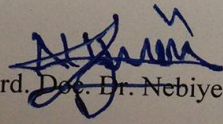
Oktay İLHAN'ın hazırladığı "Diyarbakır Çocuk Hastanesi Sonbaharda Görülen Rotavirüs Kromotografi ve ELİSA Yöntemi ile Karşılaştırılması" konulu çalışma 17.05.2016 tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Sami TAŞÇI

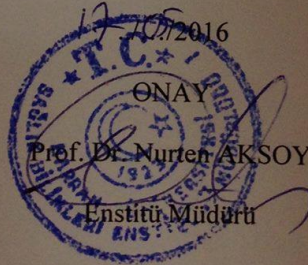
Harran Üniversitesi
BAŞKAN


Prof. Dr. Mehmet BAYRAKTAR (DANIŞMAN)

Harran Üniversitesi
Üye


Yrd. Doç. Dr. Nebiye DONİ

Harran Üniversitesi
Üye



TEŐEKKÖR

Babam Hűseyin İLHAN, Annem Kadriye İLHAN, EŐim Emine İLHAN ve doğacak olan kızım BuęlemEslem'e İLHAN atfediyorum, DanıŐman hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet BAYRAKTAR 'a ayrıca Sayın Prof. Dr. Sami TAŐŐI hocalarıma teŐekkűr ederim.

Oktay İLHAN



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
TABLolar DİZİNİ	IV
RESİMLER DİZİNİ	V
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	VI
ÖZET	VII
ABSTRACT	VIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Dünya’da Rotavirüs Prevalansı	5
2.2. Türkiye’de Rotavirüs Prevalansı	5
2.3. Rotavirüsün Yapısı	6
2.4. Rotavirusun Sınıflandırılması	7
2.5. Rotavirüs Antijenik Bileşenleri	8
2.6. Patogenez	111
2.7. Klinik Özellikleri	122
2.8. Laboratuvar Özellikleri	122
2.9. Bulaşma	13
2.10. Hastalık Belirtileri.....	13
2.11.Tanı İçin Kromatografi Metodu	14
2.12.Tanı İçin ELİSA Metodu	16
2.13. Rotavirüs Aşları Tedavi ve Korunma	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	18
3.1. Araştırmada Kullanılan Metodlar ve Örneklerin Toplanması	18
3.2. Kromatografi Yönteminin Prensibi	18
3.3. Kromatografi Kullanım Tarifi.....	18
3.4. Kromatografi Yönteminde Sonuçların Değerlendirilmesi.....	21
3.5. Rotavirüs Antijen ELİSA Testinin Prensibi:	22
3.6. ELİSA Kitin İçindekiler.....	23
3.7. ELİSA Testi Uygulanılması.....	23
4. BULGULAR	25

5. TARTIŞMA.....	30
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	33
7. KAYNAKLAR.....	34
8. EKLER	
8.1. Etik Kurul Onayı	



TABLolar DİZİNİ

SAYFA NO

Tablo-1: Yaşlara ve Cinsiyete Göre Pozitif ve Negatif Dağılımı.....	26
Tablo-2: Genel Yaş Grublarına Göre Pozitif ve Negatif Dağılımı.....	26
Tablo-3: Kromatografi ve ELİSA'yla Çalışılan Rota-Adeno virüs Numeneleri.....	28



RESİMLER DİZİNİ

SAYFA NO

Resim-1: Ruth Bishop, Tow Flewett ve Al Kapikan Circa.....	3
Resim-2: Rotavirüsün Elektron Mikroskopunda Görünümü.....	3
Resim-3: Rotavirüsün Yapısı	7
Resim-4: Kromatografi Yöntemini Gösterimi.....	20
Resim-5: Kromatografi Yönteminde Rotavirüs'ün Pozitifliği	21
Resim-6: Kromatografi yönteminde Rotavirüs'ün Negatifliği	21
Resim-7: Rotavirüsün Antijen-Antikor Reaksiyonu.....	23
Resim-8: Çalıştığımız ELİSA Mikroplağı.....	24
Resim-9: Cinsiyete göre pozitif ve negatif %'likler.....	25
Resim-10: Aylara ve Cinsiyete Göre Hasta Dağılım Grafiği.....	27

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

Aa: Aminoasit

AAP: American Academy of Pediatrics

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

AGE: Akut Gastroenterit

EM: Elektron Mikroskobu

ELİSA: Enzyme-Linked İmmunsorbent Assay

ORS: Oral Rehidratasyon Sıvısı

PROTECT: Pediatric Rotavirüs European Committee

RVG: Rotavirüs Gastroenteriti

WHO: World Health Organization

Bp: Base pair

C: Cinsiyet

E: Erkek

K: Kız

ÖZET

DIŞKI ÖRNEKLERİNDE ROTAVİRÜSÜN İKİ FARKLI SEROLOJİK METODLA ARAŞTIRILMASI

Oktay İLHAN

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans tezi

Diyare çocuklarda morbidite ve mortalitenin en önemli nedenlerinden birisidir. Gastroenteritlerin viral etkenler arasında çok önemli bir yere sahiptir. Bu çalışmayla Diyarbakır Çocuk Hastalıkları Hastanesi'ne diyareye bağlı Rotavirüs etkenli başvuran çocukların ELİSA ve Kromatografi yöntemleri kullanılarak bu testlerin duyarlılıklarının karşılaştırılması amaçlanmıştır. 2015 yılı içerisinde Diyarbakır Çocuk Hastalıkları Hastanesi'ne ishal Őikâyetiyle başvuran 1000 hastanın dışkı örneklerine ait veriler kromatografi ve ELİSA yöntemleriyle araştırıldığında dışkı örneklerinin 100'ünde (%10) Rotavirüs antijeni saptanmıştır. 345 kız çocuğunun 40' unda (%11.59) ve 655 erkek çocuğunun 60'ında (%9.16) rotavirüs antijeni saptanmıştır $P>0,05$. Ayrıca 1000 ishali vakanın %2'sinde adenovirüs antijeni saptanmıştır. Viral antijen pozitif olgular en sık kış ayları (Aralık, Ocak, Şubat)'nda görüldü. Veriler istatistiksel analiz edildi. Yaş ve cinsiyet 0-5 yaş grubundaki rota ve adeno virüsleri infeksiyon oranları üzerinde önemli etkileri yoktur. Antijeninin saptanması noktasında ELİSA yönteminin kromatografi yöntemine göre daha duyarlı olduğu ancak ELİSA testinin çok da ekonomik olmadığı ve zaman kaybına yol açtığından dolayı immünokromatografik yöntemlerle antijeninin saptanması %2'lik sapma meydana getirse bile avantajları göz önünde bulundurulduğunda göz ardı edilmemesi gerekmektedir.

Anahtar sözcükler: Rotavirüs, Gastroenterit, ELİSA, İmmünokromatografik, Çocuk

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ROTAVIRUS BY TWO DIFFERENT SEROLOGICAL METHODS

Oktay İLHAN

Department of Medical Microbiology, Master Thesis

Acute gastroenteritis is one of the most important causes of morbidity and mortality among children. Rotavirus is an important organism that has been involved in the etiology of viral diarrhea in newborns children all over the world. The aim of this study was to determine the frequency of rotavirus infection in pediatric patients admitted to Diyarbakir Pediatrics hospital to compare sensitivity of identification methods ELISA and card immunochromatography. Stool samples of 1000 patients complaining of diarrhea were investigated by ELISA and immunochromatography methods in 2015. Stool samples of 100 patients (10%) were positive for rotavirus antigens. The stools of all 345 girls, 40 (11.59%) and of the 655 boys 60 (9.16%) were positive for rotavirus antigens $p>0.05$. Adenovirus was detected in 2% of cases. Viral antigen positive cases were observed to be the most common in winter months (December, January, and February). Data were analyzed statistically. Age and sex have no significant effects on both rota and adeno viruses infection rates in 0-5 year age group. ELISA method showed an acceptable performance and it is more sensitive than the chromatography one. Nevertheless, ELISA method is not very economical and time consuming. Immunokromatografik assay method of rotavirus antigen even with a 2% deviation is beneficial and should not be ignored. It is generally a reliable method for rotavirus detection.

Keywords: Rotavirüs, Gastroenteritis, ELISA, Chromatography, Child

1. GİRİŞ

Diyareye neden olan virüsler virüs ailesi içerisinde yer almakta olup, bu virüsler: Reovirüs, Norwalk Ajanı, Rotavirüs, Calicivirüs, Adenovirüs, Coronavirüs, Echovirüs ve Astrovirüstür (1-5).

Reoviridae ailesinden parçalı, çift sarmallı RNA virüsüdür. İkozahedral kapsüllü, zarfı olmayan, tekerleğini andıran bir görünüme sahip, 75 nm ebatında RNA virüsüdür. Gelişmiş ülkelerde üsye enfeksiyonundan sonra görülen ikinci hastalıktır (2,3,4).

Yurdumuzda, ekim, kasım, aralık, ocak, şubat, mart ayları arasında en çok görülür. Fekal oral yolla bulaştığı gibi diğer taraftan bulaş soğuk aylarda enfeksiyon artmasının aerosol yolla olabilmektedir. Ülkemizde çocukluk ölümleri yüksektir. İshal nedeniyle hastaneye yatan vakalarda ilk aşamada materyalin direkt mikroskopik incelenmesi gibi zor olmasından dolayı virüs kaynaklı değilse ampirik antibiyotik tedavi gerektiren enfekte bağırsak hastalıklarının çökertilmelidir. Endikasyon yoksa antibiyotik kullanımı sorunu çözüm bulunulmalı aktif ve güvenilir primer yöntemle çözümlenmelidir. Tanıda, elektron mikroskopuyla, kültürü, nükleik asit amplifikasyon kullanılabilirliği yanında ELİSA, kromatografi yöntemi mevcut olup; hızlı olması, özel deneyim alet gerektirmesi, has ve duyarlılıklarının yüksek olmasıyla uygulama kolaylığıyla kullanılan yöntemlerdendir (2-8).

Diyare, dünya da çocuk ölümlerinin sebebidir. Bebeklerde akut gastroenteritin en büyük sebebi olarak tanımlanmaktadır. 1973 tebu virüs bulunmuş ve araştırmalara konu olmuştur. Tanı için bulaştan 2-5 gün sonra olup virüsün varlığı ishal olmasıyla bulunur. Bebek ve çocuk dönem arasında immün yetersizliğinden hastalar enfeksiyonu fetal riski vardır. Her yıl enfeksiyonu kayıt altına alınmaktadır. Dışkıda tanısı için birçok alternatif yöntem geliştirilmiştir. Gastrointestinal enfeksiyonlar çocuklarda olmak üzere dünyada yaygın olarak görülür. Yılda 5-10 milyon arası insan gastroenteritden dolayı ölümler olabilmektedir. Viral gastroenteritler, üst solunum yolu enfeksiyonundan sonra ardından gelen sıklıkla görülen hastalıklardır.

Yapılan çalışmalarda bir diğ er virüs olan adeno tiplerinden olan 40 ve 41'i insanlarda ishal nedeni oldu ğ u belirtilmiştir. Enfeksiyon insidansı 5 yaşına kadar görülür lakindiğ er yaşlarda olabilmektedir (7,8-12).

Yapılan çalışmalar sonucunda viral gastroenterit vakalarının %1-20'nin adenovirüs kaynaklıdır (7-10). Gastroenterit vakalarında laboratuvar yöntemleri büyük önem arz etmektedir. ELISA, Kromatografi yöntemleri dışında elektron mikroskopisi, nükleik asit hibridizasyon yöntemleride mevcut olup pahalı olduğ undan ve ileri laboratuvar koşullarına gereksinim duyduğ undan tercih edilmemektedir. Dünyada beş yaşından küçük önce tüm çocuklar en az bir kere gastroenteriti geçirmektedir. Vakalarının beşte birinin doktora başvurduğ u, her altmış beş vakadan birisinin hastaneye yattığı ve her iki yüz doksan üç vakadan birisinin ölümle sonuçlandı ğ ı görülmektedir. Dünyada yılda yaklaşık yarım milyondan fazla ölüm bildirilmektedir (1, 2, 5, 7, 8).

Çocuklarda enfeksiyonunun klinik durumlar semptomsuzdan ölüme sebep veren dehidratasyonla seyreden kayda değ er diyareye kadar değ işkenlik gösterir. Diğ erlerinden önemi ishal sıklığı etkenlere göre daha fazladır. Beş yaşın altında özellikle en yüksek görülür.

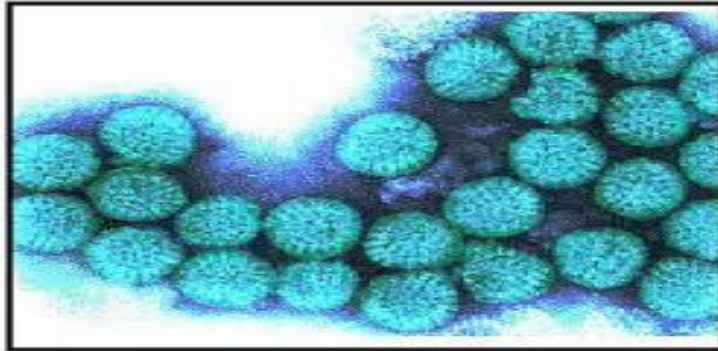
Ölümlerin %20-40'ı bu hastalık etken olurken hastaların %80'i süt çocukluk prevalansı döneminde görülmektedir. Bağırsağ ın villüslerinin bozulması nedeniyle enfekte eder. Enterositlerin sitoplâzmasında çoğ alarak transport mekanizmasını bozulurlar. Bu çalışmanın amacı kromatografi ve ELISA yöntemleri karşılaştırılarak kullanılan metotların duyarlılığını ve özgüllüğ ünü tespit etmek ve hastalığın tanısını doğru koyabilmek adına insanlığ a ışık tutmaktır. Laboratuvarlar vakaların tanı, tedavi ve takibinde çok önemli yere sahiptir. Bunların bakımından sorumlu sağık çalışanların beklentileri yerine getiren tıbbi merkezleridir. Laboratuvar da gerçekleşen hatalar ve buna bağılı gelişen sapmalar hasta sağılığ ının etkileyebilir. Laboratuvar sonuçlarının kesinlik ve doğruluktansı, tedavisi takibinden dolayı önemlidir.

2. GENEL BİLGİLER



Resim1: Ruth Bishop, Tow Flewett ve Al Kapikan Circa

1973 yılında Avustralyalı Ruth Bishop tarafından elektron mikroskobunda bakteriyel olmayan diyare olan bir çocuğun gaitasında tespit edilerek duovirüs adı verilmiştir. Duovirüs adı virüsün duodenumda görülmesi ve çift kapsidli yapıya sahip olmasındandır. Daha sonra yapılan araştırmada ise İrlandalı Thomas Henry Flewett tarafından tekerleğe benzediğini görünce buna bağlı olarak latince tekerlek manasındaki rotayla değiştirilerek rotavirüs verilmiştir (11-20).



Resim2:Rotavirüsün Elektron Mikroskobunda Görünümü

Ölüme neden olan akut gastroenterit yurdumuzda ki diyare bağlı çocuk ölümleri arasında beşinci sırada yer almaktadır. Akut gastroenteritin ajanların hastalık yapma yaşı, mevsime ve coğrafik bölgeye göre değişkendir. 0-5 yaş aralığı grubu bebek ve çocuklarda sıklıkla görülmektedir (7, 8, 14, 15).

Sosyo ekonomik koşulları ve hijyenidikkate almamadan dolayı5 yaşına kadar antijeniyle tanışmaktadır. Virüsün en dıştaki üçüncü katmanı enfeksiyöz özelliği taşır. Virüs parçacığının en dış tabakası VP7 G proteini ve VP4 P proteini olmak üzere iki tane yüzey viral proteinden oluşmaktadır. Serotiplendirme bu proteinlere göre yapılmakta olup, 14 adet G proteini ve 20 adet P proteini tanımlanmıştır. VP7 serotipleri olan G1, G2, G3, G4 ve G9 ile VP4 serotipleri olan G6 ve G8 en çok görülen tipleridir. Sonbahar ve kış dönemlerinde yangı artması hayvan deneylerinde aerosol yolla bulaştığı tespit edilmiştir. Hastane enfeksiyonlarına da neden olmakta ve yayılımı yaygındır. Çok sık olmasada solunum yolu semptomlarında izole edilebilmiştir bu bulaşma solunum sistemine ait belirtiler ortalama yüzde otuz eşlik edebilmektedir. Rotavirüs diyaresine bağlı görülen komplikasyonu; sıvı kaybı, elektrolit değişiklikleri, metabolik asidoz ve beslenme değişikliği söylenebilir (1, 2, 7-9).

Dışkının sulu olması, miktarının normalden fazla, günlük dışkı sayısının farklılaşması artması ve süresinin uzaması elektrolit ve su emilimini düşürür. Vücut sıvı elektrolit dengesinde bozulmalara sebep olan ciddi sağlık sorunlarına sebep olabilirler.

Mide ph asidinde çoğunlukla dayanıklıdır. İnce barsağın jejunum kısmında yüzey epitel hücrelerine etki yaparlar. İnce barsaklarda epitelyum hücre villüslerinde kısalma ve kaybolmalar gibi değişmeler, epitelyumda yassılaşma, mikrovillüslerde kayıplar gibi histolojik değişikliklere neden olurlar. Barsağınbozulmasıyla yüzeyinde kayıplar mevcut olurlar. Epitelyumu tarafından salgılanarak disakkaridaz vb. gibi sindirim için elzem olan gerekli olan enzimlerde azalır. Glikoz vb.gibi basit moleküller barsağın monomerlerine parçalanamayacağı için emilmediğinden ve barsak lümeninde hiperosmotik bir durum oluşacaktır. Barsak bozulmuş olup epitel hücrelerinden lümen boşluğuna doğru sıvı sekresyonu olup diyare oluşacaktır.

Adenovirüs, rotavirüse göre prevalansı az görülür. Adenovirüs hastalık dönemi daha uzun sürelidir. İshalde az görülür. Adenovirüs enfeksiyonu tüm aylarda görülebilenin yanında bazen birlikte kısmi mevsimsel olarakta görülür (2,7-10,15).

Memeli ve kanatlı türdeki hayvanlarda; maymun, sığır, kedi, domuz, koyun, at, tavuk ve hindi vb. gibi antijen etken olabilmektedir. Farklı türlere ait virüsler diğer türlerde çok sınırlı replikasyonu özelliği gösterebilmektedir. Türe has olup, hastalık etkeni bir türden diğer türe geçebilmektedir. Gastroenteritlerinin hızlı tanısında, hastalığın ilk dönemde alınan numelerinde yapılmaktadır. Kromatografi yöntemi de hızlı, tek aşamalı antijenin varlığını gösterir. Kromatografi yöntemi diyare hastalarında doğru teşhisi için iyileşmek önemi vardır. İnsan dışkısında virüslerin ince ayar antijen antikor tespit ederek hızlı kromatografi yöntemiyle çalışılmıştır.

İshal hastalarında bakteri, parazitlerin dışında; virüsleri gözardı yapılmamalı virüslerin de antijen olarak aranmasının gerekliliği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Diyarbakır bölgesini kapsayan, 1000 diyareli hasta 40'ı kız 60'ı erkek olmak üzere antijeni pozitif olan 100 örnek kromatografi ve ELISA'yla çalışılmıştır iki yöntem karşılaştırarak testlerin duyarlılığını doğruluğun sağlam istatistiksel somut verilerle güvenilirliği belirtilmiştir.

2.1. Dünya'da Rotavirüs Prevelansı

Beş yaş altındaki hastane yatışıyla bebek ölümlerine neden olan en önde gelen isimdir. Yaklaşık hemen hemen tümüne yakın çocuklarda en az bir kerede olsada Ölüm oranı gelişmekte olan ülkelerdeki çocuklarda çok daha yüksektir bunun nedenleri yetersiz sıvı alımları daha çok malnutrisyon prevelansı gibi birden çok sebep olabilir. A'dan G'ye kadar olan grublardan çocuklarda fazla A grubu sebep olurlar. Grup A bütün dünyada görülmektedir. Buna karşılık önemli coğrafik varyasyonlar görülür. Grup B, 1982'de Çin'de erişkinlerde su kökenlidir (19). Dünyada rotavirüsün prevelansı değişkenlik göstermektedir. Örneğin Nijer'de %37.1, Nepal'de %25.9, Tayland'da %42, Hindistan'da %19.2, Suudi Arabistan'da %10-46, Tunus'da %30.3, Orta ve Doğu Avrupa'da %22-55.3 ve Uruguay'da %41.1 oranında prevelans göstermektedir (6,20-26).

2.2. Türkiye'de Rotavirüs Prevelansı

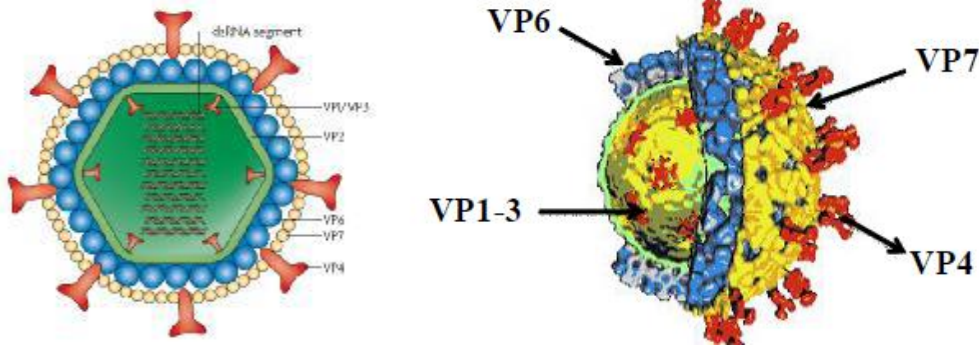
Ülkemizde de çocuklarda akut gastroenteritin en önemli nedenidir. Dünyada olduğu gibi ülkemizde aynı diğer ülkelerdeki gibi yaygın olan G1, G2, G3, G4 ve G9 gruplarıdır.

Türkiye’de ishale bağı fetal kayıplar 1986’dan beri ülke genelinde yürütülen ishaller hastalıkların kontrolü bu uygulamayla önemli düzeyde hasta sayısını azalmıştır. Türkiye’de geçmişini araştırmalar çalışmalar vardır. Türkiyedeki şehirlerde rotavirüsün prevalansı değişkenlik göstermektedir. Örneğin Mardin’de %16.7, Rize’de %5.6, Ankara’da %28 ve Malatya’da %33.6 tespit edilmiştir (3,10,27,28).

2.3.Rotavirüsün Yapısı

Kapsomerlerin dizilişi, kapsülün şeklini belirler. Kapsomerler simetrik dizilip, helikal, kübik olabilirler ayrıca karmaşık bir şekildedir. Kapsül, koruma görevindedir. Reseptörlere bağlanan bir protein giysi gibidir. Aynı zamanda antikor yanıtını oluşturur ve T hücre yanıtını uyarıp antijen olarak da görev yaparlar (1,2). Kapsit, nükleik asit paketler ve dış etkilere korur. Bazı virüslerde bu yapının dışında bir de zarf bulunmaktadır. Zarf ise; virüse ait proteinler ile bütünleşmiş olur. Hücre zarından oluşan lipoprotein bir zarfıdır. Zarfı olmayan virüs, zarfı olan virüslere göre dış ortam koşullarına, asitlere ve kuruluğa daha dayanıklı olmasının sebebi ise; zarfın yağ membranı içermesidir. Zarfı olan virüsler ise kuruluğa, asitlere duyarlı olup bundan dolayı nemli ortamlarda istediği ortamdır buna bağlı bulaşma kan ve salgılarla; çıplak virüsler mide ve safra asitlerine dayanıklı olup su ve gıdalarla bulaşır.

Üç konsantrik protein bölgesi bulunur. Bunlar on bir segmentli kapsid, çift sarmal RNA ve RNA polimeraz, son olarak kapsül enzim kompleksidir (11,12-20). Her genom parçası 11 li genom segmenti 2’li gen dizisinden kompleksinden oluşur. Bu segmentlerde 6 tane olup bunlar; yapısal (VP1-VP4,VP6,VP7) ve 6 tanede yapısal olmayan protein NSP1 NSP6 kodlanır. İçteki protein 120 kopya içerir ve VP2 yapısını temsil eder. İkozahedral bir kafes ile düzenlenmektedir. V1 polimeraz ve VP3 enzim VP2’ye beş porlu ikozahedral yapıda dikey olarak yapışıktır. Orta bölgede 780 kopya içerir VP6 genom proteini bulunur. Bu yapı ince trimerik sütunlar şeklindedir. Yüzeyde olmamasına rağmen enfeksiyonlarında en belirgin antikorlar VP6’ya karşı oluşur VP4 patojenin sorumlu en önemli protein komponentidir. VP4 ve VP7 virülansında etkindir. VP7, virüsün çıplaklaşması ve viral polimeraz enterik sebebi bilinmeyen virüslerdir. Fiziksel ve kimyasal inaktivasyonlara yüksek karşılık gösterirler. Florokarbon, eter ve içme sularındaki yoğunlaştırılmış klor solüsyonlarına karşı dirençlidir (23-30).



Resim3: Rotavirüsün yapısı

2.4. Rotavirüsün sınıflandırılması

Sınıflandırılmada elektroferotibine bağlı olarak, G genotip, P genotip ve genogrup genetik gruplandırılmalarıyla ve serogrup, alt grup, G, P serotiplerine göre sınıflandırılmıştır. Grup, alt grup ve serotip diye üç tane antijenlik orijinaletesi vardır. VP6 yapısal proteini tarafından aktarılır. İnsanlarla ilişkili olan enfeksiyonlar'da predominant A grubu olup sık olmayan Grup B ve C izole edilebilmektedir. VP6 yapıyla belirlenen alt parametre özgünlüğü, hastalıkların nedenlerini araştırmalarda suşların antijenik olup olmamasına görebenezliklerine göre tarif etmede kullanılır. VP6 proteini bulundurduğu heterojen epitoplara sayesinde alt gruplarının diyagnozundayararlanılmaktadır. Glikoprotein yapı olan VP7 daha çoktur virüsün dış yüzeyinin büyük bir kısmını oluşturur. Nötralizan antikorlarınakarşıimmün belirleyici taşıyan VP4 ve VP7 dış kapsül proteinlerine kazanılan monoklonal antikorlaraimmüniyet kazanılır. Genetiği ve serotiplerin adlandırması yapılırken G serotipi ve G genotipi büyük çoğunluklaeşit geldiği için tek şekilde istimal edilirken P genetiği ve serotipi için çift isimlendirme yapılır. P serotipi yazılır arkasından köşeli parantez içinde P genetiği yazılır. Grup ve serotiplerine göre sınıflandırılması 1985'te ikili sınıflandırma sistemine geçilmiş. İmmünojenideğeri yüksek olan VP4 ve VP7 proteinlerinin antijenvariyetisine göre birimlendirilerekproteinlerin peptid bağlarını kopararak yıkılmasından sorumlu olan enzim proteaza karşı duyarlıdır. Bu hassasiyeti olan VP4 serotipleri "P serotip" ve proteinlerin karbohidratlarlabirlikte oluşturdukları ve zarlarınyapısına giren bileşik protein olan glikoprotein yapısınımüstlenmiş olan VP7 serotipleri "G serotip" isimlendirilmektedir. İnsanlar hayvanlar ilebirlikte olduğusaha alanlarında birebir etkileşimle paylaşmasıyla

çiftçilik yapması sebepten dolayı hayvanlardan insanlara geçerbundan dolayı G ve P tiplerinin ortaya çıkmıştır. İlerleyen araştırmalarda sınırları belli olandan belli olmayanı araştırarak G ve P genetiklerin debilininden başka bilgiler bulunduğubu konu üzerinde iddialardan bahsedilmektedir.

Karışık yangı sırasında, genetiğinin segmentin yapısından dolayı yüksek derecede genetik yeniden düzenlenmeye başka bir şekle girerek genetik yapısı değişecek ve bununlaalakalıolarak değişicek G, P kombinasyonlarının gelecekte mübadelesi var olacaktır(29-32).

2.5. Rotavirüs Antijenik Bileşenleri

Bu genetiğisaran üç tabakalı 600 ile 1000metrenin on milyarda biri değerine eşit olanışık dalgalarını ölçme birimi angström genilikteolankapsülden oluşur. Yapısal proteinler: VP; dış ve iç kapsitleri olan: VP4 ve VP7; kor yapısı ise; VP2, VP6, VP1, VP3' ten oluşur. Bide yapısal olmayan proteinler mevcut bunlar ise; NSP1, NSP2, NSP3, NSP4, NSP5' tir. Dış kapsül proteinini VP7 ve VP4 oluşturur bunların toplamıyla antijenik bileşenleri oluşur. Her segment bir protein şifreler göre lakin on birinci segmentinde özel bir durum mevcut hem NSP5 hem de NSP6 proteinlerini şifreler. Segmentlerinde farklı yönleri bulunmaktadır, mesala bunlardan biri olan VP1 proteini RNA'ya ekli; DNA ya da RNA sentezini katalizleyen enzimlerden RNA polimeraz enzimi olduğu hem viral transkripsiyonu yani yazılımı katalizleyen bir enzim olan transkriptaz hem de DNA sentezinde ve bazı virüslerin RNA kopyalanmasında olduğu gibi nükleik asitlerin kopyalanmasında görev yapan enzim olan replikaz kimyasal tepkimeye sebep olan ve onu hızlandıran, çoğunlukla protein yapısında olan organik adı verilen enzim işlevlidir (30-33).

VP1, genomik segmentler ve guanilil transferaz enzimi işlevli VP3 olan proteiniyle beraber içinde bulunan tabakasını oluşturur. VP2 içinde hapsedmiş olarak görülür. VP3 virüsün genetik gerekli ribozomal bağlanma sürecinde kimyasal tepkimenin olmasını veya hızının değişmesini molekül yapısını değiştirmeden sağlayan yapı olan katalizörlüğü sağlamaktır. Hem VP1 hem de VP3 enzimleri genetiğinin segmentleriyle alakalıdır. İç kısmını dış yüzeyi boyunca gruplarının tanımlanmasını hazırlayan VP6 proteinlerinin yan

yana dizilmesinden orta kısmı ortaya çıkar. Dışta bulunan nötralizan antijenlerin ise VP4 ve VP7 içinde bulunan proteinin olduğu, virüsün konak hücreye tutunur akabinde içerisinde gönderilmesinde görev alan dış kapsit bulunur (34-38). İki proteinin antijen olma özelliğinden dolayı konakçı antikoru tetikler. VP4 Proteinleri parçalama yeteneğinde olan proteolitik enzimi olan P özelliği mevcut, virüsün dışını kaplayan kapsül glikoprotein G yapıdaki VP7 protein içindedir ve ortalama 60 çıkıntından oluşur.

Hedef reseptörleri virüsün konak hücrelerine delinmesinde görev alır. Özelliğinden dolayı yanı sıra hastalık yapma, tarafsızlaştırma ve hemaglutinasyon yeteneğini de mevcuttur. Endoplazmik retikulumun trans membran proteinlerin karbonhidratlarla kovalent bağlarla birleşmesiyle oluşan zarların yapısına giren bileşik olan protein yapı glikoprotein olarak basit yapıli moleküllelden karmaşık yapıli maddelerin elde edilen VP4 proteini konak hücre içinde ortaya koyarak kopyalama, yazılım ve yapısal gibi görevleri vardır (30-41).

VP4, VP7 ve VP6 bunlardan oluşan en dışı en içteki kapsülü boyunca uzanan 132 tane özelleşen bir kanal yapısi mevcuttur. Bunlardan yapısal olan biyolojiksel ve kimyasal maddelerin içeriden ve dışarıdan geçişi olur (42-44).

Hücre içine girme olayından sonra, kopyalama gerçekleşerek sitoplâzmadan içeriye doğru yapısal olmayan proteine lüzum duyulmaktadır. Yapısal olmayan proteinler genetik replikasyonu, parçacığın birleşmesi, hücrelerin virüslere karşı oluşturdukları özel savunma maddesi olan interferon yardımıyla bu olayın başlamasıyla benzer konaktan yanıt ve viral gen ekspresyonu uyarılması çeşitli işlevi vardır. Bunların NSP1 ile NSP6' yapısal olmayan fonksiyonuyla ilgili yeterli bilgi bulunulmamaktadır. NSP6' ya ait her türünde ve RNA'nın bağlayıcısı olan protein NSP1 olgunlaşması için, ona karşı cevap gerçekleşmesi ile geç olmayan programlı hücre ölümü engellenmesiyle görevlendirilmiştir. Yapısal olmayan proteinlerin dışında NSP1' in hücre kültürü için replikasyonu gerekli olmaktadır.

NSP2; yapısal proteinler ile NSP5 ile koordinelidir. Hareket eden virüs yazılımında, virüsün şekillenmesi, kapsitle örtünmesi ve enzim işlevlidir. NSP5 ve NSP2 virüsle enfekte hücrelerin sitoplâzmasında virüsün çoğalması olduğu virüslerinin enfeksiyonundan sonra sitoplâzma da ortaya çıkan biçimsiz inklüzyon cisimciklerinden olan viroplazma adlandırılan

multi-protein karmaşık sınırlanmış. NSP2, çift zincirli helikal yapıya viral RNA'ya bağlanıp, yapısının bütünlüğü bozulması ile birçok viral eylemin nükleozitri-fosfatazıdır, RNA trifosfataz ve nükleozid difosfat kinaz aktiviteyi sergileyen bir katalizör görevlidir. NSP2 RNA arasında ki ilişki düzeyi düzenleme görevi ise; NSP5 yapmaktadır. NSP2'nin hemen hemen her durumda NSP5 beraberdır bununla bağlama özelliği gösteren NSP5 antijeniyle proteiniyle koordinelidir.

İnfekte hücre amino grup terminal ucuyula RNA'nın üç ucu uzlaşma sekansına bağlı belirtilen NSP3, konakçı hücrede protein sentezi baskılar hücrenin mRNA molekülüne aktarılmış genetik bilgiden polipeptit molekülünün sentezi işlemi olan rotaviral translasyonu oluşmasında etkindir. Viral mRNA yıkılmadan korur. NSP3'ün ne viral mRNA'nın translasyonu hücre kültürü için virüsün yazılımı olmaz (30-60).

Yapısal olanın dışında ki proteinlerden NSP4 bağırsağın salgısı artar, toksik etki oluşturup ishal oluşumunda etkin rol gösterir. Bağırsakta hücrenin sitoplazmasında içerisinde olan Ca^{++} iyon dengesi bozar iltihap etkin rol oynar. RNA'nın örten protein özellikli tabakadan oluşur. Dışında olan viriyon dışını örten VP7 ve çiviye benzeyen çıkıntılar vardır. VP4 antijeni mevcut içeren dış kapsül mevcuttur. Hemen altındaki olan VP6 orta kapsül virüste subgrubunu antijenini belirliyor. İçteki kapsit VP2 ise viriyonu kor katmanını oluşturur. RNA genetiğini tutar. VP1 ise; kor tabakasında ki bulunan bir RNA polimerazıdır. Kor katmanını oluşturacak olan VP3; elçi olan mRNA'nın yazılım sonrasında çevre etkisi ile fenotipe meydana gelen değişikliklerle 5' ucunun oluşumunu katalizleyen guanilil transferaz enzimdir. Enfeksiyonlarının sadece GIS yoluyla olduğu düşünülmemeli, yeni çalışmalarla hem immün kompetan kişiler hem de bağışıklık düzeyiyle enfekte çocuklar antijen veya kan sıvısı, omurilik sıvısı, karaciğer, safra sıvısı, mezenterik dokular arası sıvıda bulunmuş oldukları, dalak, böbrek, boğaz ve akciğer gibi birçok yerde belirlenmiş, lakin bulgularda klinik önemi tam bilinmiyor aktif araştırma içindedir. İshal çocuklarının serum örneklerinde %43-66'sı kanlarında virüs bulunmaktadır. Çalışmalarla santral sinir sistemi yaygınlığı %2-5,7 ortalamasında değişir. Enfeksiyonu ilişkili olabilen ya da olası olan diğer hastalıklardan biride tip 1 diyabet, çölyak hastalığıdır. Tip 1 diyabet için araştırmacılar Rotavirüs teki yüzey proteini olan VP7 ile otoantikorun immün dominant epitopu arasındaki moleküle benzerliği olduğu bildirilmiştir. Bunun otoantikor pankreas adacıklarının

yıkımında vasıta olan T hücreye gereklilik olan ve tirozin fosfat IA2 ve GAD65 olarak bilinirler. Serokonversiyon ve diyabet olabilecek insanlarda IA2, insülin ve GAD65 antikoru artması arasında ilişkili olduğu ancak yapılan en son çalışmalarla bulgular destekleyememiştir. Buna benzer çölyak hastalığında Rotavirüs VP7 ve transglutaminler arasında moleküler ilişkili olduğu belirtilmiş daha sonra yapılan çalışmalarla bu da desteklenmemiştir (40-70).

2.6. Patogenez

Rotavirus tam olarak anlaşılmamış olup Rotavirüsteki VP4 proteini hedef hücrelere bağlanmından mesuldür, proteolitik enzimle ayrılması hücre virüs penetrasyonu esastır. Yaş gibi konakçı faktörler rotavirüsün patogenezi etkiler, semptomlar bebeklerde daha belirginleşmiştir. Villüs epitelyumu hücre üzerinde rotavirüsü bağlayan reseptör yaşla azalır, bu durum hayvan çalışmalarıyla incelenmiştir. Bunla ilgili yaşın daha çok bağışıklıkla ilgilidir. Sodyum, glikoz ve suyun bağırsakta emilimi düşmesiyle çıkan enfeksiyondur. Laktaz, alkalik fosfataz ve sükrözda da düşme budüşüş normal durumdanağırlaşacak bir ishal tablosu çıkar. İnsanlarda, hayvanlar ishale neden olur. Enfeksiyonlardan virülansı yüksek olan, su elektrolit kayıplarıyla asidoz metabolikle sonuçlanır. İstifra ile birlikte diyare 3-7 gün sürebilmektedir gelişen tabloda iştahsızlıkla beraber vücutta sıvı elektrolit kayıplarıyla kalmakta insanların yaşamları risklenmektedir.

Enfeksiyonlarının ılıman iklimlerde yoğun olduğundan bundan dolayı hastaneye yatan çocuk sayısının soğuk aylarda çok olduğu belirtilmektedir. Mikroorganizmada etkili olabilecek normlara göre sağlık önlemleri kontrolünde tesirsizdir. Mikroorganizma az bile 10-100 parçacık yangıya neden olur. Bu sebepleri düşünerekten dolayı sağlığa uygunluk uygulamaları bile bulaşmasını engelleyebilmektedir (68-72).

Rotavirüsün antijenin diyare yapma patogenezi son derece karmaşık olup; viral enterotoksinin potansiyel rolü, malabsorpsiyona bağlı mukozal hasar, disakkaridaz düşüklüğü ve enterik sinir sisteminden salgılanan medyatörlerin etkisi anlaşmamıştır (73-76).

Hayvanlarda yapılan çalışmalarda hastalıklı barsağın araştırılmasında virüsün replikasyonunun başta barsağın villüsün epitelinde gerçekleşir. Ağır ishalleri çocukların bağırsağınından alınan örneklerinde antijeninin saptanması ile desteklenmiştir. Barsak biyopsiyle ışık mikroskopik incelemesinde kübik epitelli villüslerin kısalıp ve körleştiği görülmüştür. Kripthipertrofi, lamina propriasında mononükleer hücrenin infiltrasyonu görülür. Yangının derecesi mukozanın hasarıyla bağlantılıdır. Mukozasında gelişen malabsorbsiyona bağlı emici hücrelerde kayıpnedeniyle Rotavirüsten dolayı diyare uzamaktadır. Hayvansal çalışmalarda Rotavirüse bağlı villüs atrofiği görülür. Fakat çocuklarda barsak biyopsi örneklerinde orta düzeyde gastroenteritiyle villüs hasarı oluşurken kalıcı epitel hasarı ve histolojik değişimler gözlenmez. Birçok hayvan modelinde Rotavirüsün NaCl gibi elektrolitlerin sekresyonunu uyardığı, glikoza bağlı elektrolit transportunu inhibe ettiği görülmüştür. Ağız sıvılarının kullanılmasına rağmen bu inhibisyon düzelmemekle ve disakkaridaz aktivitesinin düşüklüğü de glikoz seviyelerini azaltarak transport defektine neden olmaktadır. Hücreler arası moleküler değişimi barsakta polietilen glikolün absorbe edilmesine ve parselüler geçirgenliğin artışına neden olur. VP4 veya NSP4 un tigh junctionlarının bozarak geçirgenliği yükselttiği hücre kültür çalışmalarında gösterilmiş (1,2,46,47).

2.7. Klinik özellikleri

Enfeksiyonunun ilk epizodu süresince, hastanın dışkıında ve kusmasından dolayı yüksek yoğunlukta virüs vardır. Semptomları virüsle karşılaştıktan sonra on iki saat dört gün arasında başlamakta sürmektedir. Rotavirüs en çok ekstrasellüler sıvıdan sodyum ve suyun aynı oranda kaybedilmesi ile oluşan izotonik dehidratasyon görülür. Hastalık 3–8 gün süren kusma sulu diyare ile karakterisiktir sıklıkla tabloda ateş ve karın ağrısı eklenir. Enfekte kişilerin dışkıında yüksek oranlarda antijenler bulunur. Bundan dolayıda virüs çoğunlukla yakın temas ve ortak kullanılan eşyalarla kontaminasyon yolu ile yayılır (1, 2, 47, 48-83).

2.8.Laboratuvar Özellikleri

Sulu ve yumuşak dışkılama görülür, nadiren de olsa bugularda bazen dışkıda eritrosit ve lökosit içerebilmektedir. Lökositöz yoktur, derecesi yüksek olan diyarelerde elektrolit

dengesizlikleri olmaktadır. Dışkıda Rotavirüs tespit etmek için kullanılan tüm laboratuvar testleri, özel grup A antijenlerine ait yani VP6 ya ait tesbiti esasına dayanmaktadır.

Genellikle makroskopik olarak kan veya sümük bulunmaz. Dışkıya yoğun, keskin, pis bir koku hâkimdir. Dışkı sarı-yeşil renktedir kan ve lökosit görülmez. Hastalığın ilk günündeki dışkı örneklerinde on virüs partikülü /gr bulunur. İshalin şiddeti düşerken virüs miktarında da azalma olur. Dışkı yoluyla virüs atılımı yaklaşık on güne yakındır bulguların düzelmesinden sonra iki yâda üç gün daha sürebilir (49,85-88)

2.9.Bulaşma

Bulaş fekal oral yolla bulaştığı gibi bunun yanı sıra oyuncaklar gibi kontamine eşyalarla da olabilir. Çocuklar büyük risk grubunu oluşturmasına rağmen yetişkinlerde de olabilmektedir. Özellikle çocukla yakın olan ilişkisi olan, temizliğin olmadığıyâda düşük olan çocuk kreşleriyle yaşlı insanların olduğu bakılan yerlerinde, yolculuk süreklilik halinde olan veya sağlık kurumlarında yatılan erişkinlerdir.

Mikroorganizmanın gayet birinden başkasına geçen bulaşıcılığından olmasınedeniyle Rotavirüs yayılmada denetlemek çok zordur. Enfekte dışkılarda 10^{10} - 10^{12} /ml kadar yangı partikülü bulunur ve enfeksiyonun gerçekleştirebilir. Virüs yayılma işinde istifra da önemli bir rol üstlenir. Semptomatik ve asemptomatik hastalar özellikle 7-10 gün süre zarfında Rotavirüs partikülleri etrafa saçarlar. Bu sürede immün yetmezliği kişilerara sıra birkaç haftayı bulabilebilmektedir. Annenin sütü ile beslenmesi çocukda hastalığın korunulmasıyla ciddiyetini ve süresini azaltabilir.

Mikroorganizmanın oda sıcaklığında dışkıda uzunca süre haftalar ve ayca, çevrede yüzeyde günlerce canlılık halinde ya da kristalizik yapıda kalabilmektedir. Kontamineye maruz kalmış metal, plastik benzeri gibi yüzeyde virüs canlılığı korunabilir. Rotavirüsün kişiden kişiye geçişinde etkisi olan yüzeyler abdesthane ve lavabolardır (51, 52, 53, 54).

2.10.Hastalık Belirtileri

Her çocuğun 5 yaşa kadar semptomatik veya asemptomatik olarak rotavirüs ile enfekte olmaktadır. Çocukta rotavirüsün geniş belirtilerini göstermesiyle asemptomatik enfeksiyonundan dehidratasyon ile seyreden önemli diyareye kadar farklılaşabilir. Hastalığının hastalık etkeninin vücuda girmesiyle hastalık belirtilerinin meydana çıkışı arasında patojen mikroorganizmanın vücutta gelişimi olan inkübasyon süresi 1-4 gündür. Rotavirüs gastroenterit belirtilerini göstermesi ise ortalama 4-8 gün sürmektedir. Rotavirüs çocukta hafif ateş ve istifra etmeyle başlamaktadır. Genelde 1-3 gün süren kusmağının yanında aniden başlayan yumşak diyare izlenmektedir. Yumşakishali ortalama bir hafta sürer ve genelde gün aşırı ortalama 15 defa dışkılama olur sonuç olarak önemli sıvı elektrolit kayıplarına neden olurlar. Ateş genelde 38,5-39,5 °C'de ortalama 1-2 gün sürer. Batın ağrısı da mevcut olabilir. Birtakım vakaların serive önemli dehidratasyonu özellikle 2 yaşla küçük çocuklara fetal kayıplara neden olabilmektedir. Gelişme gösteren memleketlerde hastaneye yatış yapılan bebeğin yüksek risk altındadır. İlişkili olan antikoru muhafız tesirinden nedeniyle 4-6 aylık küçük yenidoğana gelmiş doğan çocuklarda enfeksiyonu sıklıkla asemptomatik olurlar ve vakaların sadece %10-20'sinde semptomatik olup genelde hafif geçmektedir. Lakini yeni doğan bebekler önemli enfeksiyon görülebilir. Rotavirüslesonradan gelişen enfeksiyon belirtiler olarak daha düşük veya semptomsuzdur. 2 yaşından büyük yetişkin çocuklara göre kıyasla daha da sık asemptomatik enfeksiyonuna maruz kalışlarına rağmen semptomlar olduğundan bunlar diyare, ateş, baş ağrısı, halsizlik mide bulantısı ve mideye gelen kramp tarzında gelen ataklar mevcuttur. Yetişkin üstlenen gönüllüler üzerinde yapılan araştırmalarda Rotavirüsüninokulumu oral verildiğinde inflamasyonlu bireylerin %67'si seroloji yönünden farklılık olurken yalnız olarak %33'ünde belirgin belirtiler mevcuttur. İntestine makroskobideğişikliğiyle ince barsağın duvar düzleminde kalınlaşmalar hemde mikroskobideğişikliğiyle ise villüslerde küntleşme, mikrovillüsler miktarında düşmeler, mononükleer hücre süzülmesi ve bağırsağın hücrelerinde kolumnar yapılardan kuboidal yapıya kadar şekil değişikliği hastalığın belirtilerindedir. Akut gastroenteritlerin yaygın görülen özellikleri arasında dehidratasyon, elektrolit kaybı, metabolik asidoz, beslenme eksikliğiyle çocuk bezinden dolayı cilt tahrişleri gibi belirtiler enfeksiyonunda görülebilir. İmmünyetinde sorun olan bireylerde barsak dışı yayma oldukça yaygındır (1, 46, 52, 82-88).

2.11. Tanı İçin Kromatografi Metodu

Antijenlerin belirlenmesiyle ve karakteristik yapıda olan antikor antijen tepkimesi olmaktadır. Hafif molekül yüke sahip mikotoksitleye, pestisitleye da veteriner ilaç gibi gıda kontaminantının belirlenmesin de yeğlenilmektedir. İmmünolojik metoduyla özellikli büyük derecede yararlanılan antikorun spesifitesini belirlemekten geçmektedir. İmmünoloji metodlarında üç değişik antikor yararlanılmaktadır: Bir hayvanın bağışıklığı ile elde edilen ve bu sebeple farklı antikor üreten hücre klonlarının ürünü özel antikorolan poliklonal antikorlar, B hücrelerinin tek bir klonundan meydana gelen antikor monoklonal antikor ve bakteri kültürlerinden bir gecelik inkubasyon sonunda, elde edilebilecek rekombinant antikorlar. Antijenantikor tepkimesi tüm hastalık oluşturan aktif olarak belirlenmesi için kuvvetli bir yöntemdir. Birtakım yöntemler yüksek birimde otomatize edilen birtakım yöntemler ise basit yararlanılmaya sahiptir. Bu gibi testleri böyle sınıflandırılabilir.

Antikorla kaplanana da aglütinasyon reaksiyonlarda, eriyebilir protein veya polisakkarit moleküllerine bağlanmış ve aglütinasyonun varlığını ortaya çıkmasına yarayan sentetik parçacık olan boyalı lâteksler ve koloidal altın partikülü, hızlı serolojik identifikasyon ya da saf bakteri laboratuvarlarında besi yerinde yetiştirilmesi olan kültür izolatlarının belirlenmesi ve bunu tiplendirilmesi kullanılır. Antijenantikorun tek bir bütün olarak birleşmesi çıkarım sonucunda görülebilen aglütinasyon resmi şekillenir. Ters lâteks aglütinasyonun testleri çözülebilir antijen amacıyla ve çoğunlukla canlı organizmalarda görülen zehir olan toksinlerin bulunulmasında kullanılır. Akut ishal vakalarında sebebi belirlemeye yönelik araştırmalar ilimin her branşına başvurulmuş ayırma yönteminde kromatografiksel uzaklaştırılmadır. Kromatografik yöntem, 20. Yüzyılda Rus botanikçi olan Mikhail Tswett tarafından keşfedilmiştir. Tswett, Klorofil ve ksantofiller gibi çeşitli pigmenti barındıran çözeltinin, toz vaziyetinde olan kalsiyum karbonat ile doldurulmuş bir cam kolondan geçirilerek birbirinden bölünmeyi başardı. Ayrışan madde kolonda renkli alanlar şeklinde gruplar ortaya çıkmıştır; Bunun sebebiyle bölme prosedürüne, rengi olacak bir fotoğraf manasına gelen kromatografik adı verilmiştir. Kromatografik yöntem, karmaşık karışımlardaki farklı maddelerin birbirlerinden ayrılmaya ve tanımlamak için olanak verecek ve bilim insanlarının araştırmalarını kolaylaştıracak bir takım ayırma yöntem çalışma tekniği olmasıdır. Kromatografik uygulamaların bir sabit faz ve bir de hareketli faz bulunmaktadır. Bu karışımlardaki maddenin hareketli fazıyla giderek sabit olan bir faz üstüne sürünür; Numune maddelerin terketme aktifliğideğişik olunması, birtakım maddenin durağan

fazınüstünde grup olarak sürülmesine gider, tam böyle karışım ortamında maddenin birbiriyle ayrılmasıdır. Rotavirüs birçok teknikle saptanabilmektedir (65-85).

2.12. Tanı için ELİSA Metodu

ELİSA yönteminde, antijen veya antikor bunlardan biri enzim ile belirterek ve immünoloji tepkime, enzimali bir eylem sonunda gelişen durum karşılaştırılmaktadır. ELİSA testiyle doğrudan, doğrudan olmayan ile sandviç ELİSA gibi değişik biçimlerin geliştirilmesine karşın en çok fazla rastlanılanı kullanımı olan sandviç metodudur. Dışkı örneğinden veya rektal sürintüden viral antijen saptanmasında en yaygın kullanılan yöntem Enzim ilişkili immunosorbent çözümüleme tekniği olan ELİSA ve lateks aglütinasyonudur. Pratik olması, kolay ticari elde edilebilirliği ve kısa sürede sonuç vermesi nedeniyle tercih edilmektedir. Lateks aglütinasyon yöntemi kısıtlı kaynak olan alanlarda kullanılabilir. Fakat sensitivitesinin sınırlı olması nedeniyle karar verilemeyen olgularda destekleyici bir test olarak kullanılmaktadır. Günümüzde ticari antijen tahlil yöntemleri virüsün VP2 ve VP6 proteinlerini ve sadece grup A Rotavirüslerini saptamaktadır. Serotip çok özel ELİSA'lar VP7 ve VP4'e dayalı doğrulama ile serotiplerin tayinine izin vermektedir. Serum, dışkı ve salgılardaki Rotavirüse karşı antikor miktarını ölçen birçok teknik kendini sınırlayan bir iltihap olan Rotavirüs gastroenteritinde kısıtlı yararlılık sunmaktadır (46,55-57).

2.13. Rotavirüs Aşılı, Tedavi ve Korunma

Rotavirüs gastroenteriti diğer gastroenterit nedenlerinden açıkça ayırt edilemez. Çünkü rotavirüs gastroenteritinde standart tedavi dehidratasyon ve destek tedavisi olduğu için mikrobiyolojik tanıya gerek duyulmaz. Bununla birlikte uzamış ishalde, komplike vakalarda, immünsüprese hastalarda epidemiyolojik ve enfeksiyon kontrol verileri elde edilmesi planlanan durumlarda tanı önem arz etmektedir. Aynı zamanda Rotavirüs kesin tanısının konulmasıyla gereksiz ve zararlı antibiyotik kullanımının önüne geçilmiş olmaktadır Antiviral tedavi yoktur. Semptomatik tedavi uygulanır. Oral hidrasyon sıvıları devamlı olarak kullanılamaz. Ağır kusmalarda, bilinç bulanıklığında, barsak ileusunda ve ağır dehidratasyonda (toplam vücut kilosunun %9 unun kaybında) i.v hidrasyon tedavisi yapılmalıdır. İntravenöz hidrasyon sıvısı olarak ringer laktat, normal salin veya benzer solüsyonlar tavsiye edilmektedir. Rotavirüs gastroenteritinde düşük disakkaridaz düzeyleri

olmasına rağmen süt çocukları anne sütü almaya devam etmelidir. Morbidite; az gelişmiş ülkelerde de kayıplara sebep veren Rotavirüsten korunmak için Rotavirüs suş aşının oluşturulmasına, destek verilmiştir. Aşıların gelişmesinde büyük yol katledilmesine rağmen rotavirüse karşı oluşan immünitelerarasındaki ilişki tamamen anlaşılmamıştır (58). İdeal bir aşı patojenkarşıimmün tepki oluşturarak onuhedef alır, fakat Rotavirüs için bunu başarmanın zor olduğu enfeksiyondaki mortalite ve morbiditeyi azaltmadığı görülmüştür. Rotavirüsle oluşan ilk enfeksiyonun immüniteyle arınık edilmesi, ikincil enfeksiyonların şiddetinin azalması açısından gelecek vadeden bir kapı olmuştur. Halen geliştirilmekte olan aşının hedefi viral replikasyona yol açmadan ilk enfeksiyonun etkisini taklit etmektir. Aşılama ile oluşacak doğal enfeksiyonu benzetilmesi amaçlanmıştır. Birinci olarak doğal 4-36 aylık çocuklarda bulunur kusma ve dehidratasyonla ağır bir tablo gelişir. Süt bebekleri, ortalama 1 ya da 3 enfeksiyonundan ardından immünite oluşur. Geçirilen iki Rotavirüs enfeksiyonu orta ve derecesi yüksek ishale karşı yaklaşık tamamiyle % 100 koruma sağlayabilir. Doğrudan olmasada rotavirüs enfeksiyonu, sonrası yangı sıklığı ve derecesi azaltılabilir (58). Aşısıyla hedeflenen, naturel enfeksiyonuna eş olabilecek immünite oluşturarak, enfeksiyona gelişebilecek koruma, hastane yatışları ve ölüm kayıpları önlenmesi, hastalanma yüzdesi ve ekonomik zararların azaltılmasıdır (58, 59).

Yapılmış çalışmalarda en etkin aşının gücü olabileceği ve en az yan etkinin olduğu Rotateq ve Rotarix aşıları geliştirmiştir (60,61). Birtakım ülkede rotavirüs aşısı rutin aşı programına katılmış ve hastalığa bağlı hastaneye yatışla ilgili ve kayıplarla önemi derecede düşme olmuştur (59-61).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Araştırmada Kullanılan Metotlar ve Örneklerin Toplanması

2015 yılının Diyarbakır Çocuk Hastalıkları Hastanesi'ne karın ağrısı, kusma, ateş ve diyare semptomuyla hastaneye başvuran 1000 kişiden; 345 bayanın 40'ında Rotavirüs pozitif iken 655 bayın da 60'ında Rotavirüs pozitif bu toplam 100 pozitif Rotavirüs antijenli hasta toplandı. Kalitatif yöntemler olan kromatografi ve ELISA yöntemiyle karşılaştırma yapılması amaçlandı. Örneklerin incelenmesinde tek aşamalı Rotavirüs ve Adenovirüs Birlikte kromatografik immün ölçüm yöntemiyle ve antijen antikor reaksiyonu pozitif ve negatif kontrolleri toplam 98 kuyucuk tek kullanımlık ELISA kiti kullanıldı.

Rotavirüs antijeni pozitif olan ekim, kasım, aralık, ocak, şubat ayından toplanan pozitif antijen numuneleri -20 c saklanaraktan çalışmamızda 1000 hastanın 100 ünün pozitif ve bunlarında 60 erkek 40 kız çocuğu pozitifli vakanın eş zamanda ELISA ve kromatografi yöntemiyle tekrar çalışıldı.

3.2.Kromatografi Yönteminin Prensibi

Bir kez olan aşamalı Rotavirüs ve Adenovirüs bağlantılı bir bütün olan kaset test, kişifeçesörneğinde söz konu olan olacak virüs mevcudiyetibelirlmesi eden aktif lateral akış kromatografi antijen antikor karşılaştırma metod tekniğidir. Ölçme kasetlerinde "R" alanında antirotavirüs, "A" alanında antiadenovirüs antikor ile örtülmüştür. Ölçme zamanında örnek bu alanda antikor ile tepkime verir. Bu karmaşık alanda mavi ya da kırmızı şerit halinde bir çizgi oluşur. Renkli çizgi şeridinin oluşumuyla pozitif sonuç, renkli çizgili şerid oluşmamasında ise negatif olduğunu gösterir.

3.3.Kromatografi Kullanım Tarifi

Yararlanmaya başlamadan bütünölçme kaset ileörnek materyal ve tamponun oda derecesinegetirilmeli; mümkün miktarda alınarak ölçme işlemi tam verimle yapılması içinvirüs almak için yeterli miktarda numune 1-2g gaita arınık ve yaş olmayan bir kaba alınır. Numunenin saklanması için -20°C uygundur.

Katı numunelerde örnektoplama tüpünü bükerek açınız, aplikatörü örnek gaitadafarklı üç alanına batırarakşağı yukarı 50 mg yani fasülye tanesindeki büyüklüğünde ki bir yarısından azını gaitaya bulaştırın. Fazla bir büyükte gibi gaita örneğin almayınız.

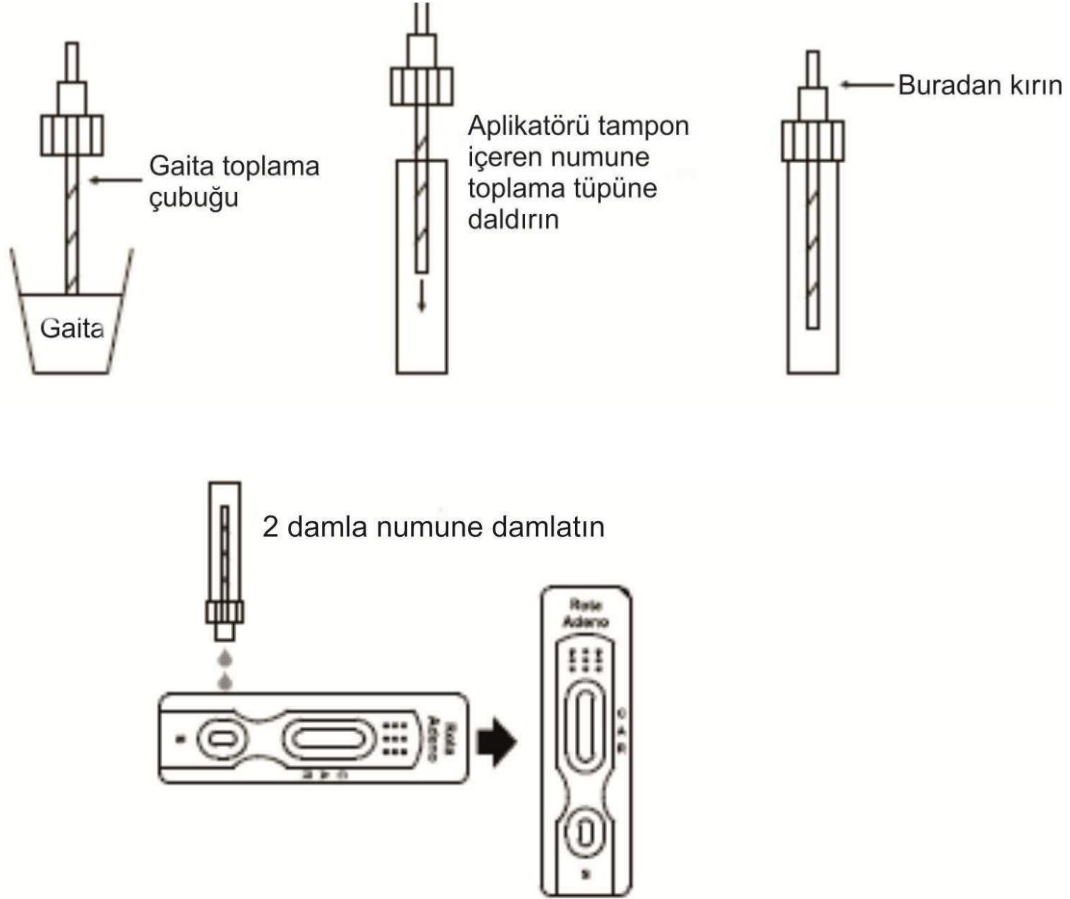
Liquidörneklerde ise damlalığa dikey vaziyette, örnek alınız, tüpüne 2 damla ortalama 50ul miktarda gaita damlatın. Aplikatörü kıvrarak kapatınız ve heterojenliği dağılması için iyice karıştırınız.

Kalınlığı genelde 0,15 mm'yi geçmeyen çok ince metal levha olan folyoyu açmak için önce oda derecesine getiriniz, kaseti folyodan çıkartınız ve çıkartıktan sonra beklemeden hemen kullanınız.

Örnek toplama tüpünü dik gelecek şekilde tutunuz, kapak üzerinde kiüç noktayıgüç vererek kırınız. Tüpün ağzını aşağıyagelecek şekildekavrayıp kaset numunesini uygulama alanına (S) 2 tanecik damla damlatın. Hava kabarcıkları oluşmamasınadikkatediniz.

Sonucu 10 dakika içinde değerlendirilmeli sonucun 20 dakikadan sonra değerlendirilmesi yanlış olan değerlendirmeler içerebilir.

Örnek kurumuşsa, örnek tüpünü santirüfuj ediniz. Yukarasında bulunan sıvıdan 80 ul alınız, örnek numune uygulama alanına (S) pipetleyiniz. Saati bakınız hatta kurunuz ve 5.olan aşamayı takip ediniz.



Resim4: Kromatografi yöntemini gösterimi

Kasetlerde kontrol olan (C)renk şeridinölçülen örneğinetkin olması ve yeterli düzeydeörnek alınıp verilmediğini gösterir. Antijen pozitif bulunan dışkı örneklerinin kromatografi yöntemiyle test edilmek için numeneler hazırlandı. Alınmışgaytanumunelerinde ortalama bir saate yakın ya da 2 ila 8 C’de aralığındasüre tutularak beklemeşartıyla 48 saat içinde araştırıldı. Katı verilen dışkının numunelerinde yaklaşık bir kuru fasülye tanesinin yarısından az miktarında, liquid numunelerinde 100 µl miktarınca alınıp 1 ml’ lik özütleme buffer içine bırakıldı. Karışım vortekslenme yani karışım olmasıardından 3 dk zaman kadar homojenite olması ve katı parçacıkların çökertilmesi için bekletildi. Akabinde üst sıvıda kalan ve alınan numuneden kaset üzerinde daire şeklinde açılmış alandan4 damla damlatıldı. Sıvının yanında bulunan katı partüküllerin gelmemesi adınaözen gösterildi.5 dk sonra testlergözlenildi. Kasetlerde kırmızı kontrol renk şerid çizginin oluşmasınaözen gösterildi. Renk şerid çizgisini görülmemesinden dolayı test tekrarlandı. Kırmızı kontrol renk şerid çizgisi oluşmasından dolayı test negatif olarak, kontrol çizgisiyle kırmızı renk test kasettegörülünce pozitif olduğu olarakdeğerlendirildi (51-57).

3.4.Kromatografi Yönteminde Sonuçların Değerlendirilmesi

Kontrol (C) ve test edilen (R) alanlarında çizgi oluşursa. Adenovirüs (C) ve (A)alanındaçizgimevcutsa. RotaAdenovirüs Pozitifdir. (C) , (R) ve (A) bölgelerinde çizgi rengi düşük ya da koyu renk oluşursa. Bu bölgelerde oluşan ne olursa olsun sonuç pozitif olarak belirtilir.

Sadece (C)alanında renk çizgi oluşur diğerinde (A), (R)alanlarındanrenkbelirginleşmezsetest geçerliliği olmayacaktır. Hangi nedenle olursa olsun (C)alanındanrenk belirginleşmezsetest geçerli olmayacaktır. (A), (R)alanının herhangi birinde yada ikisindenbirlikte şerid oluşursatest geçerliliğini yitirecektir.



Resim5: Kromatografi yönteminde rotavirüs'ün pozitifliği gösteren



Resim6: Kromatografi yönteminde rotavirüs'ün negatifliğini gösteren

Diyare bağlı kişiye ait gaytanuneleri eklendi. Hastaların yaşı, cinsiyetverileri bilgileri alındı. Diyareli olan çocuklardan alınangaytanuneleri ölçülüne kadar -20°C'de buzdolabında tutuldu. Daha sonra Rotavirüs antijen pozitif bulunan dışkı örneklerinin Dışkı

örnekleri öncelikle antijen tespitiyle Rotavirüs antijen ELISA kiti ile değerlendirildi ve eş zamanlı olarak gerçekleştirildi (55-57,62).

3.5. Rotavirüs Antijen ELİSA Testinin Prensibi:

Antikora bağlanmış enzimin etkinliği araştırmak temeline dayanacak bir niceleyici test metodudur. Antijene mukabil antikor ya da antikora karşı oluşabilecek antijen araştırmak muhtemel olabilmektedir. Mikroorganizmalar enfeksiyonunda yararlanabilecek ölçüm yöntemidir. Sabitleme, hareketsiz hale getirme hareketi olan immobilize olmuş antijen yararlanabilecek kompetitif olmayan dolaylı olmayan boyama metodu kullanılır.

Antikoru bulmak amacıyla; antijen plastik bir gödeciğe alana bütünleşmiş edilir. Mikro-ELİSA metodunda antijeni her bireyde kullanmak üzere yapılan çukurlara yüzeyine kaplanır. Antikoru aranacak vakanın serumu çukurlara bırakılır. Biraz bekleyerek ve yıkama işlemi yapılır. Lakin serumda uygun antikor varsa antijen varsa birleşip kümeleşir.

Enzimle işaretlenen molekül ağırlığı yüksek bir protein birey globülünü olan antiserumu bırakılır. Bir süre beklendikten sonra ve ardından distile suyla yıkanır. Çalışılmakta olan bu serumun antijenine mutabık antikor mevcutsa antijenine bağlanmış olan bu yapı ve son eklenecek olan enzimle işaretlenmiş human antiglobülünü de bağlanarak ve yıkamasıyla uzaklaştırılmıyacaktır. Enzime mütenasip kromojen substrat bırakılır.

Bağlanmış enzim substrat parçalamasından dolayı belirgenleşen renk, yapılması gereken kolorimetri metodla ölçülen karşılaştırarak bağlanmış enzim dolayısıyla bağlanmış o antikoru malumat bilgi verecektir.



Resim7: Rotavirüsün Antijen-Antikor Reaksiyonu

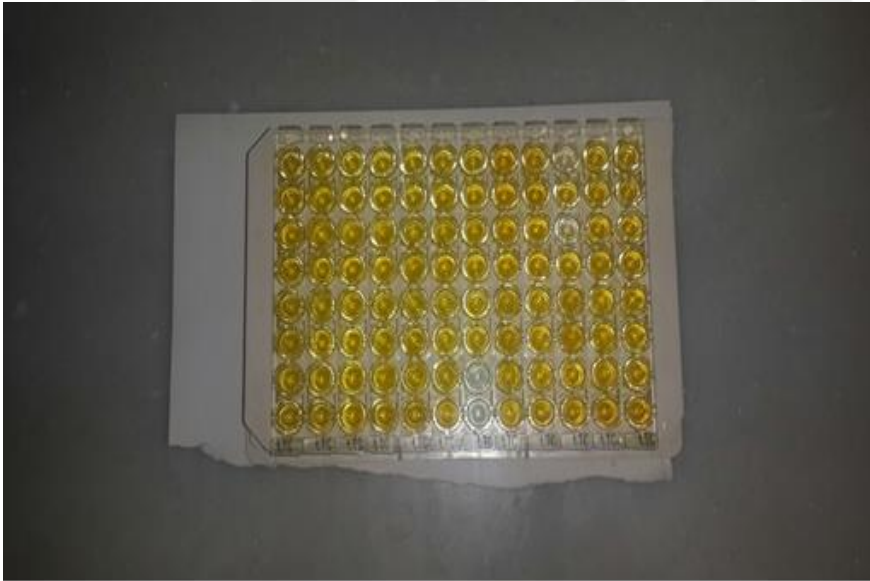
3.6.ELİSA Kitinin İçindekiler

- 1. ELİSA plak:** Antijenle kaplı 98 kuyulu plak
- 2. Reaktif 1:** AntiRotavirüs monoklonal antikor kabı 11 ml
- 3. Reaktif 2:** Anti-Mouse antikorun konjuge horseradish peroxidase kabı 11ml
- 4. Pozitif kontrol:**Tekkab 2 ml
- 5. Negatif kontrol:**Tekkab 2 ml
- 6. 20X Yıkama Solüsyonu:**Tekkab 25 ml
- 7. Substrat solüsyon:** Tetramethylbenzidine ile organik peroxid tek kabı 11 ml
- 8. Stop solüsyon:** 1Mlorite H₂SO₄; tek kabı 11 ml

3.7.ELİSA testin uygulanması

- 1. ELİSA kiti kullanmadan öncesi oda derecesindetutuldu.**
- 2. Wash Buffer elde etmek amacıyla 25 ml20X Wash Bufferle 475 mldistile su vortekslendi.**
- 3.Numenelerinin, kontrolü ve kalibratörüelde edilmesi üzerine numara verilen tüplere ortalama 1 gr gaytanumunesi bırakıldı. Numenelerin üstüne4ml1X wash buffer eklendi ve ortalama 5 dakika karıştırılaraknumeninayrışması sağlandı.**
- 4. A1 kuyucuğuna 100 µl negatif kontrolle, B1 kuyusunada 100 µl pozitif kontrol ve plağın farklı kuyucuklarına 100 µl dilüe gaytanumelerieklenildi.Yarım saat inkübe edilmelidir.**

5. İnkübasyondan sonra plak ELİSA'da yıkama makinesinde üçdefa 1X Wash Buffer solüsyonuyla yıkandırılıpveardındaniki defa aspire edilir ve iyice kurutulur. Sıvı kalmaması adına kurutma kâğıdıüzerine plak ters çevrilir birkaç kez tap yapılır.
6. Kuyucuklara Reaksiyon 1 den 2 damlatıldı. Beş dakika inkübe edildi. Akabindeüç kez 1X Wash Buffer solüsyonuyla yıkanıldıveyine ardındaniki defa aspire edilirkurutulur. Tekrar sıvıkalmamasıadına kurutma kâğıdıüzerine plak ters çevrilir birkaç defa tap yapılır.
- 7.Reaksiyon 2'den de 2 damlatıldı. 5 dakika gibi bir sürecinde inkübe edilir. Akabindenüç defa 1X Wash Buffer solüsyonuyla yıkanıldı ve en sonunda ise iki defa aspire edilir kurutulur. Sıvıkalmama adınakurutma kâğıdıüzerine plak ters çevrilir birkaç defa tap yapılır.
- 8.Kuyulara iki tane damla kromojen substratı damlatılırve 5 dakikada inkübe edilir ve numuneler mavi renge hal değiştirmeye gözlenir.
9. İnkübasyondansonra kuyucuklara iki tane damla stop solüsyonunu damlatılır. Mavi renk sarıya döner renk farklılaşması görülür.



Resim8: Çalıştığımız ELİSA Mikroplağı

- 10.Mikroplak hafifçe sallatılır homojen solüsyon elde etmeye çalışılır.
- 11.Denley We Scan spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okunarakdeğerlendirildi.
12. ELİSA kiti protokolüdüşüncesine göre optik yoğunluk $0.50 >$ büyük olacaknumuneler pozitif; $0.50 <$ olan numuneler ise negatif olarak belirlenmiştir.

4.BULGULAR

Çalışmayla akut gastroenterit ve dehidratasyon vakasıyla hastaneye yatan 5 yaş altı çocuklarda ki rotavirüs sıklığını belirleyebilmek ve epidemiyolojisinin farklılıklarını değerlendirme amacıyla araştırılmıştır.



Resim9: Aylara ve Cinsiyete Göre Hasta Dağılımı

Bu Rotavirüsüne ekim, kasım, aralık, ocak, şubat aylarında ishal vakasıyla Diyarbakır çocuk hastanesinde toplanmış numelerden 1000 ishalleri vakanın %10 civarında rotavirüs antijeni saptanmış olup ve bu saptanan 100 rotavirüsün pozitif antijenin içinde ise %2' sinde adenovirüs antijeni saptandı. Yani; 1000 örneklemliden 20 hastada hem adenovirüs ve rotavirüs birlikte bulunuldu. Bu viral olan rotavirüsün genel itibariyle sonbahar ve kış aylarında bir artış olduğu ve özellikle Kasım, Aralık, Ocak ve Şubat (Resim 9) yaz ve ilkbahar aylarında bu virüsün çok sınırlı sayıda olduğunu diğer aylara göre mukayesesinde. Hastalarının çoğu erkektir (Resim9). Hastaların çoğunda kusma ve ishal görüldü. Ebeveynlerine sorulduğunda dışkıının kokusuz veya kötü kokulu; sarı veya yeşilimsi renkte sulu tarzda dışkı mevcudiyetini olduğunu anamnezinde şikâyet olarak belirtilmiş.

Yaş (yıl)	E/Rota(+)	E/Rota(-)	%	K/Rota(+)	K/Rota(-)	%	E/Adeno(+)	E/Adeno(-)	%	K/Adeno(+)	K/Adeno(-)	%
0-1	12	110	9.83	9	70	11.4	4	118	3.27	3	68	4.22
>1-2	12	120	9.09	9	60	13	3	115	2.54	2	65	2.99
>2-3	13	120	9.77	6	70	7.9	2	132	1.49	1	66	1.49
>3-4	12	130	8.45	10	57	14.9	2	136	1.45	1	68	1.44
>4-5	11	115	8.73	6	48	11.1	1	142	0.70	1	70	1.40
Toplam	60	595	9.16	40	305	11.6	12	643	1.83	8	337	2.32

Tablo1: Yaşlara ve cinsiyete göre pozitif ve negatif dağılımı (Rota virüs için Yates corrected ki Kare test 1,23; $p>0,05$, adeno virüs için Yates corrected ki Kare test 0,08; $p>0,05$).

E= Erkek

K= Kız

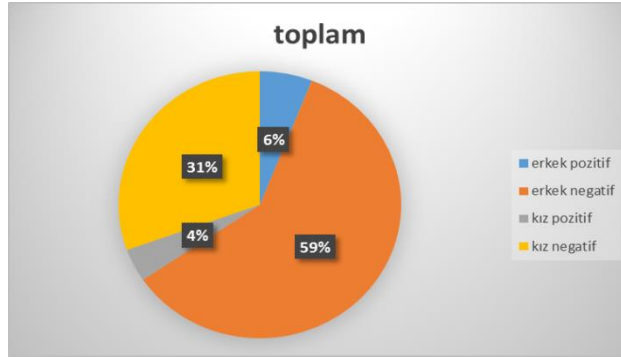
Yaş (yıl)	Rota(+)	Rota(-)	Toplam	%	Adeno(+)	Adeno(-)	Toplam	%
0-1	21	180	201	10,44	7	186	193	3,62
>1-2	21	180	201	10,44	5	180	185	2,70
>2-3	19	190	209	9,09	3	198	201	1,49
>3-4	22	187	209	10,52	3	204	207	1,45
>4-5	17	163	180	9,44	2	212	214	0,93
Toplam	100	900	1000	10,00	20	980	1000	2,00

Tablo2: Genel yaş gruplarına göre pozitif ve negatif dağılımı

Pearson İki Kara testi: rota virüs için 0,408 $p>0,05$; adeno virüs için 4,89 $p>0,05$.

E= Erkek, K= Kız

Tüm istatistiksel analizler Windows Statistica Package for Social sciences (SPSS) versiyon 21,00 programı kullanılarak yapıldı. Grup karşılaştırmalar için ki Kara testi uygulandı.



Resim10: Cinsiyete göre pozitif ve negatif %'likler

Tanı için Kromatografi, ELİSA testlerini kullandık. Biz bu çalışmayla ELISA yönteminin Kromatografi yöntemine göre daha sağlam daha güvenilir olduğu ve ELISA ile yapılan çalışmanın zaman tasarrufu sağlanmış olup lakin kromatografi yönteminin ELISA yöntemine göre daha ucuz olduğu fiyat standartlarına göre belirlenmiştir. Bu çalışmada, Diyarbakır Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları hastanesinde viral gastroenterit etkenlerinden Rotavirüsün ve Adenovirüsün oranın belirlenmesi, yüzdesel olarak erkekler içinde erkeklerde bulunma yüzdesi % 9.16 kızlar içinde kızlarda bulunma % 11.59 dur; aylara göre dağılımı sonbahar ve kış aylarında dağılımının yüksek olduğunu ve bu çalışmayla bu testlerin güvenilirliğini ölçmek tespit etmeye yönelik bir çalışma olup gelecekte insan sağlığında hangi testin daha iyi kullanışlılığına sahip olduğunu tespit etmek için bu çalışma yapılmıştır.

NO	C/AY	KTGRF	ELISA	NO	C/AY	KTGRF	ELISA	NO	C/AY	KTGRF	ELISA	NO	C/AY	KTGRF	ELISA
1	K/3	+	+	26	K21	+	+	51	E/41	+	+	76	E/59	+	+
2	K/4	+	+	27	E/22	+	+	52	E/44	+	+	77	K/8	+	+
3	E/5	+	+	28	K/22	-	+	53	K/44	+	+	78	E/10	+	+
4	K/6	+	+	29	E/24	+	+	54	E/44	+	+	79	K/25	+	+
5	K/6	+	+	30	E/24	+	+	55	E/44	+	+	80	E/16	+	+
6	E/7	+	+	31	K/24	+	+	56	E/44	+	+	81	E/18	+	+
7	E/7	+	+	32	E/25	+	+	57	E/45	+	+	82	K/19	+	+
8	E/8	+	+	33	E/28	+	+	58	E/45	+	+	83	K/20	+	+
9	K/8	+	+	34	E/28	+	+	59	K/45	+	+	84	E/21	+	+
10	K/8	+	+	35	E/29	+	+	60	E/45	+	+	85	K/25	+	+
11	E/9	+	+	36	E/30	+	+	61	E/46	+	+	86	E/2	+	+
12	E/10	+	+	37	E/31	+	+	62	K/46	+	+	87	E/3	+	+
13	E/11	-	+	38	K/32	+	+	63	K/48	+	+	88	E/4	+	+
14	E/11	+	+	39	E/32	+	+	64	E/48	+	+	89	E/17	+	+
15	K/11	+	+	40	E/32	+	+	65	K/49	+	+	90	K/18	+	+
16	K/11	+	+	41	E/33	+	+	66	E/50	+	+	91	E/19	+	+
17	E/12	+	+	42	E/33	+	+	67	E/50	+	+	92	E/21	+	+
18	E/13	+	+	43	E/36	+	+	68	E/50	+	+	93	K/32	+	+
19	K/15	+	+	44	K/36	+	+	69	K/50	+	+	94	K/44	+	+
20	K/16	+	+	45	K/38	+	+	70	E/52	+	+	95	E/55	+	+
21	E/16	+	+	46	K/38	+	+	71	E/52	+	+	96	K/45	+	+
22	K/17	+	+	47	K/38	+	+	72	E/54	+	+	97	E/48	+	+
23	E/17	+	+	48	E/38	+	+	73	K/54	+	+	98	K/56	+	+
24	K/20	+	+	49	K/40	+	+	74	K/56	+	+	99	K/32	+	+
25	E/21	+	+	50	E/41	+	+	75	E/58	+	+	100	E/31	+	+

Tablo3: Kromatografi ve ELISA 'yla Çalışılan Rota-Adeno Virüs Numeneleri

Diyarbakır Çocuk Hastalıkları Hastanesinde toplanan akut gastroenteriti olan 100 pozitif Rotavirüs enfeksiyonlarının kromatografi ve ELİSA yöntemiyle hangisinin daha güvenilirliği olduğunu araştırmak amacıyla yapılan çalışma sonucunda ELİSA yöntemiyle % 100 yani tekrar çalışılan antijen tamamıyla doğru çıkarken immünokromatografi yöntemiyle

% 98 sonucunu vererek % 2 lik bir sapma göstermiştir. Mikrobiyolojik açınsından virüs antijeni tanımlayıcısı, hızlı ve güvenilir ölçülerin doğru tanı koyduğu, ELİSA yöntemininde daha fazla ekonomik olmadığı, süre kaybınasebep olduğu lakin yaptığımız bu çalışmayla elisa testlerinin diğer metodlara göre duyarlılıklarının daha fazla olduğunu belirttik. Araştırmamızın kapsadığı sonbahar ve kış ayları boyunca bu Rotavirüsün diğer aylara göre akutgastroenterit vakalarda kusma ve ishal yakınması ile bu aylarda başvuran hastalarımızda sonbahar ve kış dönemlerinde Rotavirüs antijeni çok daha fazla olduğu tespit edildi.



5.TARTIŞMA

Diyarenin en önemli etkenlerinden biriside Rotavirüslerdir ve bunla birlikte adenovirüsler önemle 5 yaş altında bulunankişilerdeönemli gastroenterite neden olurlar. Diyarbakır da Rotavirüs epidemiyolojisi çok iyi bilinmemektedir. Bunun nedeni Rotavirüs kişisel hijyenin yoksun ortam elverişliliği ile birlikte düşük sosyo ekonomik ailelerde daha da fazla olduğu bu çalışmamızla anlaşılmıştır. Diyarbakır ilçelerinde laboratuvar ve tetkik imkânlarının yetersizliği, ekonomik nedenlerle tüm gastroenteritlerde tetkik yapılamaması, hastalık bildirimine yeteri kadar önem verilememesi ve bildirimlerin uygun şekilde yapılamaması nedenleri arasında sayılabilir.

Bir yıl da içerisinde diyre nedeniyle hastaneye yatış yapılan hasta sayımızfazlaydı. Sebebi, çalışma yapıldığı yerinDiyarbakırın iyi bir alt yapıya sahip olmamasına bağlanabilir. Ülkemizde doğu ve güneydoğu bölgeleri dışında batıda kiyüzdeliğin daha az olduğu tahmin edilebilmektedir. Enfeksiyon kaynaklı rotavirüsün yaşla ilişkili olduğu görülmekte ve hastaneye yatırma gerektirir sıvı kaybını yerine koymak için (77-80).

Ilıman mevsime sahip kuşağında yer alan yerlerde ki kış aylarında ve 5 yaş altında ki çocuklarda görülen Rotavirüs gelişme yakın olan ülkede, gelişmiş ülkelere kıyasa rağmen daha erken dönemde yaşlarda ortaya çıkmaktadır ve bu dabelirtiler daha ağır seyretmekte ve ölüm daha çok görülebilmektedir. Geçirilmiş olan hastalıklar, bir daha sonra gelişecek atağın sıklığını ve derecesinidüşürmektedir. Doğal yangı, bireyi orta ve ağır Rotavirüs'e karşı bağışıklandırır Rotavirüs epidemelerinde ülkemizebenzer ılıman iklim kuşağında yer alan alanlarda genelde sonbahar sonu ile ilkbahar ortaları arasında ortaya çıkmakta yani ekim ayından başlayıp mart ayının sonlarına doğru sıklıkla görülmektedir. Yaz aylarında ise insidans son derece düşüktür. Geneldee kendiliğinden iyileşebilen yangılar olmasına rağmen yeni doğanlarda ağır ve ölümgerçekleşebilmektedir. Viral diyaresinde yeni doğmuş ve küçük çocuklarda sporadik vaka şeklinde görülebilir belirti formunda, majör patojenin rotavirüse ait olduğu gösterilmektedir (79). Dünya Sağlık Örgütü Rotavirüs pozitifliği Amerika'da %5-25, Avrupa'da %20-40, Asya'da %30-50, Afrika'da bu oran %10-65 arasında değişebilen oranlarda olduğu bildirilmektedir (80,81-88).

Diyare hastalarında; öykü, klinik özellik, mevsimsel özellik, hastanın yaşı gibidemografik özellikleri yol gösterici olabilir laboratuvar testlerini kesin ve somut tanı koyabilmekadına önemlidir. Günümüz de hızlı bir şekilde kullanımı giren kromatografik metod, hızlı ve kullanım kolaylığı gibi faydalarından dolayıtanıda tercih edilebilmektedir. Antijenin pozitif sonuçlarıELİSA sonuçlarıylauyumlu olması, hassasiyeti ve özgüllüklerinin fazla olması da bunda tercihsebebidir (82-86).

ELİSA ve kromatografik iki yöntem karşılaştırılmasının yapıldığı bir çalışma, iki yöntem arasındaki uyumun mükemmele yakın olduğunu göstermekte ve ELİSA'nın duyarlılığı %100 iken kromatografi yönteminde ise %98 dir. Hemen hemen birbirine yakın uyumun yüksek olmasından dolayı, hastanelerde daha ucuz, daha hızlı ve daha kolay uygulanabilir bir tanı yöntemi olan kromatografi yönteminin tercih edildiği söylenebilir.

Ülkemizde ki yapılan araştırmalarda genelde kromatografimetod kullanılmıştır rotavirüs antijen pozitifliği %9,8 ila %31,9 arasında, adenovirüs antijen pozitifitesi %1 ila %14,9 olduğu bildirilmiştir.Araştırmalar adenovirüs ve rotavirüs antijen pozitifliği beraber %0,3 ile %1,5 arasında değişebilmektedir. Çalışmamızda rotavirüs antijen pozitifliği toplam bin vakadan yüzde yani %10'unu; adenovirüs antijen pozitifliği ise toplam bin vakadan yirmi hastada oda %2 sinde bulunmuştur her iki antijenin pozitif olduğu yirmi örnek bulunmuştur.

Hastalığa karşı hassasiyetin 6 aydan itibariyle artış gösterebildiği bu dönemde, anneden gelen antikorların kaybolduğu döneme gelmektedir. Yaş gruplarında görülebilmesi beraber olan semptomatikrotavirüsünenfeksiyonunusıklıkla 5 yaş çocuklarda görülmektedir (15). Tablo 1'de verilen çalışmalarda 0-1 yaş bay grubu arasındaki antijen %9,83; 2 yaş bay grubu erkekte %9,09; 3 yaş bay grubunda %9,77; 4 yaş bay grubunda %8,45; 5 yaş bay grubunda %8,73'dır. Bayanlarda ise: 1 yaş grubunda %11,4; 2 yaş grubunda%13; 3 yaş grubunda %7,9; 4 yaş grubunda %14,9; 5 yaş grubunda ise %11,1 dir. Bune göre erkek çocuklerde en çok 0-1 yaş grubu ve bayan çocuklerde 4 yaş grubu. Genel olarak Rotavirüs enfeksiyonu erkeklerde %9,16 ve bayan çocuklarda %11,6 dır.Bu sayede hastalığın anlaşabileceği hem surveyansı açısından gereklidir, hem de klinikte hastanın gereksiz yere antibiyotik tedavisi almasını önlenebilecektir. Rotavirüs aşılarının uygulanması mortalite ve morbiditeyi azalttığı bununla beraber şikâyetlerin hafiflediğini bildirmektedirler (70-82).

Hijiyen ve güvenli su kaynakları sağlanmasıyla diyare enfeksiyonlarında ölüm hızını

azaltacaktır ve buna bağlı ölüm sıklığında azalma olmamıştır. Rotavirüse bağlı hastalık oranı ve ölüm oranının düşürülmesi adına güvenili aşı gerektiğini uzmanlar uzun süredir bu konuda görüş birliğine uzlaşmışlardır. Bundan dolayı Dünya Sağlık Örgütü rotavirüs aşı geliştirilmesi ve uygulanması çalışmasına öncelik verilmektedir. Ülkemizde ise aşıları henüz çocukluk dönemi ulusal aşı takviminde yer alması da ücretli olduğundan aileler veya varsa özel sağlık sigortaları tarafından karşılanamadığından aşıları da içeren çocukluk çağı genişletilmiş aşı takviminde yoktur (1-3, 6-11).

Son olarak, viral ishallerin tanısında çoğu zaman öykü ve klinik bulgu yeterli olmadığından, laboratuvar çalışmalarına ihtiyaç duyulur. Rotavirüs ishali sırasında karşılaşılan klinik bulgular nonspesifik olduğundan tanı için çeşitli test teknikleri geliştirilmiştir. Bunlar; elektron mikroskopisi, ELİSA, Kromatografi, revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu, viral genomik RNA için poliakrilamid jel elektroferesi (PAGE) ve viral kültürdür. Günümüzde gaita veya rektal sürüntü örneklerinden viral antijen tayini için en sık kullanılan testler ELİSA ve kromatografi yöntemi yapılış, kolayca, yüksek sensitivite ve spesifite dolayı uygulanış olarak en yaygın testlerden çok kullanılmaya başlanmıştır. Moleküler çalışmalar ile rotavirüslerin genotiplendirilmesi, grup ve subgroup tiplendirilmesi tespiti, bu sayede bölgesel ve ülkesel aşı oluşturmada önem arz etmektedir. İleride bizim bölgede moleküler çalışma yapılmalı buna bağlı tiplendirilerek aşılar çeşitlendirilmelidir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- 1- Rotavirüs enfeksiyonunun insidansı görülme durumu doğru tanı konulmadığında ölümlerin gerçekleşebileceği bu yüzden önemli bir hastalık olduğunu belirtmiş olduk.
- 2- Genel olarak Rotavirüsün oranı %10 ve adenovirüs oranı %2.
- 3- Rotavirüs enfeksiyonunun pik yaptığı sonbahar kış dönemleri arasında belirlenmiş rotavirüs pozitif bulunma sıklığını.
- 4- Tanıda kromatografi ve ELİSA testlerinin tanımlama anlamında ikisinin de yaptığı ama bu testlerin duyarlılığı ve özgüllüğü 100 hasta üzerinden değerlendirilince % 2 sapma ELİSA lehine yönünde olduğu tespit edilmiştir.
- 5- 0-5 yaş grubunda yaşın ve cinsiyetin istatistik olarak anlamlı etkisinin olmadığı görülmüştür.
- 6- Çalışmamızın eksikliğinden olan moleküler metodlar ile rotavirüsün tiplendirilmesi akabinde bu tiplendirilmelere bağlı olarak çeşitli suşlara karşı ulusal aşıya ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak, rotavirüs antijeninin saptanması noktasında ELİSA yönteminin kromatografi yöntemine göre daha duyarlı olduğunu yaptığımız çalışma ile tespit ettik. Ancak ELİSA testinin çok da ekonomik olmadığı ve zaman kaybına yol açtığından dolayı İmmünokromatografik yöntemlerle rotavirüs antijeninin saptanması %2'lik sapma meydana getirirse bile hem pratik olarak kolay uygulanabilmesi hem de ELİSA testine göre daha ucuz olduğu göz önünde bulundurulduğunda daha mantıklı bir hal almıştır. İleri çalışmalar açısından moleküler metodun çalışılması ihtiyaç

7. KAYNAKLAR

1. Petric M, Tellier R. Rotaviruses, Caliciviruses, Astroviruses, and other diarrheic viruses. In: Murray PR, Ellen JB, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 8 th ed. ASM press, Washington DC, 2003;1439-1451.
2. Wilhelmi I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. *Clinical Microbiology and Infection*. 2003; 9:247-262
3. Tekin A. The frequency of rotavirus and enteric adenovirus in children with acute gastroenteritis in Mardin. *Journal of Clinical and Experimental Investigation* 2010;1:41-45
4. Gökahmetoglu S. Viral Gastroenteritlerde Tanı; In: Aslan G, Emekdas G, Köksal F, Serin MS, eds. *IV. Ulusal Sindirim Yolu ile Bulaşan enfeksiyonlar Sempozyumu, Sempozyum Kitabı*. 16-20 Mayıs 2005, Mersin. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayınları No:50. Çatı Grafik, İstanbul, 2005;229-232.
5. Artiran S, Atalay A, Gökahmetoglu S, Ozturk MA, et al. Investigation of Rotavirus with Various Methods in Children with Acute Gastroenteritis and Determination of Its Molecular Epidemiology in Kayseri Province, Turkey. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 2016; doi: 10.1002/jcla.22030. [Epub ahead of print]
6. Kheyami AM1. Rotavirus gastroenteritis and strain diversity in Saudi Arabia. Current status and future prospects. *Saudi Med J*. 2010;31(3):276-279.
7. World Health Organization (WHO). *Global Rotavirus Information and Surveillance Bulletin*, Vol:3, WHO Press, Geneva (2011).
8. World Health Organization. Global networks for surveillance of rotavirus gastroenteritis, 2001–2008. *Weekly Epidemiological Record*. 83 (47): 421–428.
9. Ozer TT, Yula E, Deveci O et al. Frequency of rotavirus and enteric Adenoviruses among children with acute gastroenteritis in a district hospital. *Journal of Microbiology and Infectious Diseases* 2011;1: 64-67.
10. Bozkurt D, Selimoğlu MA, Otlu B, Sandıkkaya A. Eight different viral agents in childhood acute gastroenteritis. *Turkish Journal of Pediatrics*. 2015;57(1):68-73.
11. Shokrollahi MR, Noorbakhsh S, Monavari HR, Ghavidel Darestani S, Vosoughi Motlagh A, Javadi Nia S. Acute nonbacterial gastroenteritis in hospitalized children: a cross sectional study. *Jundishapur Journal of Microbiology*.2014;7(12):e11840.
12. Bishop R. Discovery of rotavirus: Implications for child health". *Journal of Gastroenterology and Hepatology*.2009;24 (Suppl 3): S81–S85.

13. Flewett, TH; Woode, GN. The rotaviruses. *Arch Virol.* 1978;57 (1): 1–23.
14. Kurugöl Z, Geylani S, Karaca Y ve ark. Rotavirus gastroenteritis among children under five years of age in İzmir, Turkey. *Turkish Journal of Pediatrics* 2003;45.290-294.
15. Özdemir S, Delialioğlu N, Emekdas G. Akut gastroenteritli çocuklarda rotavirus, adenovirus ve astrovirus sıklığının araştırılması ve epidemiyolojik özelliklerinin değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul* 2010;44.571-578.
16. Martella V, Bányai K, Matthijnssens J, Buonavoglia C, Ciarlet M. Zoonotic aspects of rotaviruses. *Veterinary Microbiology.* 2010;140 (3–4): 246–255.
17. Fischer TK, Viboud C, Parashar U, et al. Hospitalizations and deaths from diarrhea and rotavirus among children <5 years of age in the United States, 1993–2003. *Journal of Infectious Diseases.* 2007;195 (8): 1117–1125.
18. Tate JE , Burton AH, Boschi-Pinto C, Parashar UD; World Health Organization–Coordinated Global Rotavirus Surveillance Network. Global, Regional, and National Estimates of Rotavirus Mortality in Children <5 Years of Age, 2000-2013. *Clin Infect Dis.* 2016;62: S96-105.
19. Kelkar SD, Zade JK. Group B rotaviruses similar to strain CAL-1, have been circulating in Western India since 1993. *Epidemiology Infection.* 2004;132(4): 745-749.
20. Uzoma EB, Chukwubuikem C, Omoyibo E, Tagbo O. Rota virus genotypes and the clinical severity of Diarrhoea among children under 5 years of age. *Niger Postgraduate Medical Journal.* 2016;23(1):1-5.
21. Ansari S, Sherchand JB, Rijal BP, Parajuli K, Mishra SK, Dahal RK, et al. Characterization of rotavirus causing acute diarrhoea in children in Kathmandu, Nepal, showing the dominance of serotype G12. *Journal of Medical Microbiology.* 2013;62(Pt 1):114-120.
22. Kittigul L, Swangsri T, Pombubpa K, Howteerakul N, Diraphat P, Hirunpetcharat C. Rotavirus infection in children and adults with acute gastroenteritis in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2014;45(4):816-824.
23. Mishra V, Awasthi S, Nag VL, Tandon R. *Clin Microbiol Infect.* Genomic diversity of group A rotavirus strains in patients aged 1-36 months admitted for acute watery diarrhoea in northern India: a hospital-based study. 2010;16(1):45-50.
24. Soltani M, Bouanene I, Trabelsi A, Harbi A, Hachicha M, et al. Epidemiology of rotavirus gastroenteritis among children under 5 years of age in Tunisia - results of

- sentinel hospital surveillance 2009 to 2011. *Rev Epidemiol Sante Publique*. 2012; 60(6): 473-480.
25. Ogilvie I, Khoury H, El Khoury AC, Goetghebeur MM. Burden of rotavirus gastroenteritis in the pediatric population in Central and Eastern Europe: serotype distribution and burden of illness. *Hume Vaccine*. 2011; 7(5):523-33.
 26. Tort LF, Victoria M, Lizasoain A A, Castells M, Maya L, Gómez MM et al. Molecular epidemiology of group A rotavirus among children admitted to hospital in Salto, Uruguay, 2011-2012: first detection of the emerging genotype G12. *J Med Virol*. 2015;87(5):754-63.
 27. Dereci S, Çopur Çiçek A, Savaş Acar S, Bakkaloğlu Z, Özkasap S, Kanber K, Hacisalihoğlu Ş, Albayrak Y, Durmaz R. Prevalence and genotype distribution of rotaviruses in children with gastroenteritis in Rize province. *Bosn J Basic Med Sci*. 2015;15(3):35-39.
 28. Bozdayi G1, Altay A1, Yahiro T2, Ahmed S2, Meral M1, Dogan B3, Dinc B4, Yeniaras A5, Bilge YD5, Ahmed K6,7. Re-emergence of genotype G9 during a five-and-a-half-year period in Turkish children with rotavirus diarrhea. *Archives of Virology*. 2016 Jul 21. [Epub ahead of print]
 29. Hoshino Y, and Kapikian AZ. Rotavirus Serotypes: Classification and Importance in Epidemiology, Immunity, and Vaccine Development. *Journal of Health Population Nutrition*. 2000;18(1): 5-14.
 30. Arnoldi F, Campagna M, Eichwald C, Desselberger U, Burrone OR. Interaction of rotavirus polymerase VP1 with nonstructural protein NSP5 is stronger than that with NSP2. *J. Virol*. 2007; 81 (5): 2128–2137.
 31. Angel J, Franco MA, Greenberg HB, Mahy BW, Van Regenmortel MH, eds. *Desk Encyclopedia of Human and Medical Virology*. 2009. Boston: Academic Press. p. 277. ISBN 0-12-375147-0.
 32. Cowling VH. Regulation of mRNA cap methylation. *Biochemical Journal*. 2010; 425 (2): 295–302.
 33. 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. *Journal of Virology*. 2006,80 (8): 3947–3956.
 34. Arias CF, Isa P, Guerrero CA, Méndez E, Zárate S, López T, et al. Molecular biology of rotavirus cell entry. *Archives of Medical Research*. 2002; 33 (4): 356–361.
 35. Jayaram H, Estes MK, Prasad BV. Emerging themes in rotavirus cell entry, genome organization, transcription and replication. *Virus Research*. 2004; 101 (1): 67–81.

36. Hoshino Y, Jones RW, Kapikian AZ. Characterization of neutralization specificities of outer capsid spike protein VP4 of selected murine, lapine, and human rotavirus strains. *Virology*. 2002; 299 (1): 64–71.
37. Beards GM, Campbell AD, Cottrell NR, Peiris JS, Rees N, Sanders RC, Shirley JA, Wood HC, Flewett TH. Enzyme-linked immunosorbent assays based on polyclonal and monoclonal antibodies for rotavirus detection. *Journal of Clinical Microbiology*. 1984, 19 (2): 248–254.
38. Hua J, Mansell EA, Patton JT. Comparative analysis of the rotavirus NS53 gene: conservation of basic and cysteine-rich regions in the protein and possible stem-loop structures in the RNA. *Virology*. 1993; 196 (1): 372–378.
39. Arnold MM. The Rotavirus Interferon Antagonist NSP1: Many Targets, Many Questions. *Journal of Virology*. 2016; 90 (11): 5212–5215.
40. Kattoura MD, Chen X, Patton JT. The rotavirus RNA-binding protein NS35 (NSP2) forms 10S multimers and interacts with the viral RNA polymerase. *Virology*. 1994; 202 (2): 803–813.
41. Taraporewala ZF, Patton JT. Nonstructural proteins involved in genome packaging and replication of rotaviruses and other members of the Reoviridae. *Virus Research*. 2004; 101 (1): 57–66.
42. Poncet D, Aponte C, Cohen J. Rotavirus protein NSP3 (NS34) is bound to the 3' end consensus sequence of viral mRNAs in infected cells. *Journal of Virology*. 1993; 67 (6): 3159–3165.
43. López, S; Arias, CF. Rotavirus-host cell interactions: an arms race. *Current Opinion in Virology*. 2012; 2(4): 389–398.
44. Afrikanova I, Miozzo MC, Giambiagi S, Burrone O. Phosphorylation generates different forms of rotavirus NSP5. *Journal of General Virology*. 1996; 77 (9): 2059–2065.
45. Rainsford EW, McCrae MA. Characterization of the NSP6 protein product of rotavirus gene 11. *Virus Research*. 2007; 130(1–2): 193–201.
46. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Jawetz. Melnick and Adelberg *Medikal Mikrobiyoloji* 2010 McGraw-Hill Companies, Lang Reoviruses, Rotaviruses and Caliciviruses. Pp: 501-510.
47. Hyser JM, Estes MK. Rotavirus vaccines and pathogenesis: 2008. *Current Opinion in Gastroenterology*. 2009; 25 (1): 36–43.

48. Ward R. Mechanisms of protection against rotavirus infection and disease. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 2009;28 (3 Suppl): S57– S59.
49. Fischer TK, Gentsch JR. Rotavirus typing methods and algorithm. *Reviews in Medical Virology*. 2004;14 (2): 71–82.
50. Koneman EW, Allen WMJ, Schreckenberger PC, Wnn WC. *Diagnostic Microbiology*. 4th ed. Philadelphia: JB Lippincott Co, 1993; 1036.
51. Dennehy PH. Transmission of rotavirus and other enteric pathogens in the home. *Pediatric Infectious Diseases Journal*. 2000;19 (10 Suppl): S103–S105.
52. Karadağ A, Açıkgöz ZC, Avcı Z, et al. Childhood diarrhoea in Ankara, Turkey: Epidemiological and clinical features of rotavirus-positive versus rotavirus-negative cases. *Scand J Infect Dis* 2005; 37: 269-275.
53. Butz AM, Fosarelli P, Dick J, Cusack T, Yolken R. Prevalence of rotavirus on high-risk fomites in day-care facilities. *Pediatrics*. 1993; 92(2): 202–205.
54. Anderson EJ, Weber SG. Rotavirus infection in adults. *Lancet Infect Dis*. 2004; 4(2):91-99.
55. WHO. Manual of rotavirus detection and characterization methods.2009. WHO/IVB/08.17.
56. Gómara MI, Green J, Gray J. Methods of rotavirus detection, sero- and genotyping, sequencing, and phylogenetic analysis. *Methods Mol Med*. 2000; 34:189-216.
57. Wadell, G. *Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices*. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988; 284-300.
58. Tate JE, Patel MM, Steele AD, Gentsch JR, Payne DC, Cortese MM, et al. Global impact of rotavirus vaccines. *Expert Review of Vaccines*.2010; 9 (4): 395–407.
59. Munos MK, Walker CLF, Black RE. The effect of rotavirus vaccine on diarrhoea mortality. *Int Epidemiol* 2010; 39(Suppl 1):56-62.
60. Rota Council. Rotavirus: Common, Severe, Devastating, Preventable . 2016. Rotacouncil.org. PDF.
61. Ward RL, Clark HF, Offit PA. Influence of potential protective mechanisms on the development of live rotavirus vaccines. *The Journal of Infectious Diseases*. 2010; 202 (Suppl): S72–S79.
62. Angel J, Franco MA, Greenberg HB. Mahy WJ, Van Regenmortel MH, eds. *Desk Encyclopedia of Human and Medical Virology*. 2009. Boston: Academic Press. p. 278.

63. Nishio, Osamu, M. Ooseto, K. Takagi, Y. Yamasita, Y. Ishihara, and S. Isomura. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Employing Monoclonal Antibodies for Direct Identification of Enteric Adenoviruses (Ad40,41) in Feces. *Microbiol. Immunol.* 1990; 34(10): 871-877.
64. Wood, D. J, K. Bijlsma, J. C. de Jong, and C. Tonkin. Evaluation of a Commercial Monoclonal Antibody-Based Enzyme Immunoassay for Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in Stool Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 1989; 27(6): 1155-1158.
65. Kurugöl Z, Geylani S, Karaca Y, et al. Rotavirüs gastroenteritis among children under five years of age in İzmir, Turkey. *Turkish Journal of Pediatrics.* 2003; 45. 290-294.
66. Nazik H, İlkaç M, Ongen B. Çocukluk Yaş Grubu Gastroenteritlerinde Rotavirüs Sıklığının Araştırılması. *Ankem Derg* 2006; 20: 233-235.
67. Akdoğan D, Kılıç H, Öztürk M, Per H. 0-6 yaş grubu ishallerde Rotavirüs sıklığı. 9. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre Kitabı'nda. İstanbul: KLİMİK Derneği, 1999: 293.
68. Armah GE, Mingle JA, Dodoo AT, et al. Seasonality of rotavirus infection on Ghana. *Annals of Tropical Paediatrics* 1994;14(3):223-229.
69. Cook S, Glass R, Lebaron C, et al. Global seasonality of Rotavirus infections. *Bull World Health Org* 1990; 68: 171-177.
70. Dennehy PH. Acute diarrheal disease in children. *Epidemiology, Prevention, and Treatment. Infect Dis Clin North Am* 2005; 19: 585-602.
71. Carlin JB, Chondros P, Masendycz P, Bugg H, Bishop RF, Barnes GL. Rotavirus infection and rates of hospitalisation for acute gastroenteritis in young children in Australia, 1993-1996. *Med J Aust* 1998; 169: 252-256.
72. Perez-Schael I. The impact of rotavirus infection in Venezuela. *J Inf Dis* 1996; 174: 19-21.
73. Hiramato I, Nakagomi T, Nakagomi O. Population-Based of the Cumulative Risk of Hospitalization Potentially Associated with Rotavirus Diarrhea among Children Living in Two Cities in Akita Prefecture, Japan. *J Infect Dis.* 2005; 58: 73-77.
74. Szücs G, Uj M, Mihaly I, Deak J. Burden of human rotavirus-associated hospitalizations in three geographical regions of Hungary. *Acta Paediatrica* 1999; 426: 61-65.

75. Gil A, Carrasco P, Jiménez R, San-Martín M, Oyagüez I, González A. Burden of hospitalizations attributable to rotavirus infection in children in Spain, period 1999–2000. *Vaccine* 2004; 22: 2221–2225.
76. Hung, T et al (1984) Waterborne outbreak of Rotavirus Diarrhoea in Adults in China caused by a Novel Rotavirus. *Lancet*, 26;1(8387): 1139-1142.
77. Medici MC, Martinelli M, Arcangeletti MC et al. Epidemiological aspects of human rotavirus infection in children hospitalized with acute gastroenteritis in an area of northern Italy. *Acta Bio Medica Ateneo Parmense* 2004; 75: 100-106.
78. Giordano OM, Ferreyra JL, Isa BM. The epidemiology of acute viral gastroenteritis in hospitalized children in Cordoba City, Argentina: an insight of disease burden. *Rev Inst Med Trop* 2001; 43: 193-197.
79. Fourquet F, Desenclos JC, Maurage C, Baron S. Acute gastroenteritis in children in France: estimates of disease burden through national hospital discharge data. *Archives de Pediatrie* 2003; 10: 861-868.
80. Koopmans M, Asperen IV. Epidemiology of rotavirus infections in the Netherlands. *Acta Paediatrica* 1999;426,31-37.
81. Steele AD, Madhi SA, Cunliffe NA, Vesikari T, Phua KB et al. Incidence of rotavirus gastroenteritis by age in African, Asian and European children: Relevance for timing of rotavirus vaccination. *Hum Vaccin Immunother.* 2016 Jun 3:1-7. [Epub ahead of print]
82. Ozdemir S, Delialioğlu N, Emekdaş G. Investigation of rotavirus, adenovirus and astrovirus frequencies in children with acute gastroenteritis and evaluation of epidemiological features. *Mikrobiyol Bul.* 2010; 44(4):571-578.
83. Otağ F, Direkel Ş, Özgür D et al. Akut gastroenteritli çocuklarda rotavirüs ve enterik adenovirüs antijenlerinin hızlı immunokromatografik yöntemle ataştırılması. *Mersin Üni Sağlık Bilim Derg.* 2012; 5(3): 18-23.
84. Özer B, Jenedi K, Pehlivanoğlu C, Göçmen M. Akut gastroenteritli hastaların dışkı örneklerinde rotavirüs ve adenovirüs sıklığı. *Mustafa Kemal Üni Tıp Derg.* 2014; 5(20): 1-10.
85. Berner R, Schumacher RF, Hameister S and Forster J. Occurrence and impact of community-acquired and nosocomial rotavirus infections-a hospitalbased study over 19. years. *Acta Paediatrica* 1999;426, 48-52.
86. 113. Ozkaya-Parlakay, A, Tezer, H. Burden of Rotavirus in Hospitalized Children in Turkey. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 2014; 33(9): 992-993.

- 87.** LeBaron CW, Furutan NP, Lew JF, Allen JR, Gouvea V, Moe C, et al. Viral agents of gastroenteritis public health importance and outbreak management. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 1990. 36: 1-24.
- 88.** WHO recommends use of rotavirus vaccines in all national immunization programmes. http://www.who.int/immunization/newsroom/newsstory_rotavirus_vaccines_immunization_programmes/en/



HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
Etik Kurul Kararı

TARİH : 23/10/2014
OTURUM : 10
SAAT : 15:00

14/10/12

Karar: Üniversitemiz Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr. Mehmet BAYRAKTAR'ın sorumlu araştırmacı olduğu 13.09.2012 tarih 04 nolu Oturumun 01 Sayılı Kararı ile Etik Kurul Onayı verilen "Dışkı Örneklerinde Rotavirüsün İki Farklı Serolojik Metodla Araştırılması" başlıklı çalışmanın süresinin yenilenmesine,

Oybirliğiyle / Oyçokluğuyla karar verilmiştir.

ASLI GİBİDİR

Doç. Dr. Hakan CAMUZCUOĞLU
Etik Kurul Başkanı

