

Rotavirus Aşılıarı

ROTAVIRUS VACCINES

Dr. Zafer KURUGÖL^a

^aÇocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, İZMİR

Özet

Rotaviruslar, tüm dünyada bebek ve küçük çocuklarda akut ishale bağlı ölümlerin ve hastane yatışlarının en önde gelen nedenidir. Yılda 2 milyondan fazla hastane yatışına ve yaklaşık 600 bin ölüme sebep olmaktadır. Rotavirus ishalinin önlenmesinde tek yöntem rotavirus aşılmasıdır. İlk reassortant aşı, tetravalan maymun-insan reassortant rotavirus aşısı (Rotashield, Wyeth) ABD'de 1998'de lisans aldı ve rutin aşı şemasına dahil edildi. Ancak, aşı ile invajinasyon arasında ilişki olduğu gerekçesiyle kısa bir süre içinde kullanımdan kaldırıldı. Sonraki yıllarda, iki yeni rotavirus aşısı (monovalan human rotavirus aşısı [Rotarix, GlaxoSmithKline] ve pentavalan human-bovine reassortant rotavirus aşısı [RotaTeq, Merck]) ile çalışmalar yapıldı. Bu iki aşının etkinliği ve güvenilirliği yaklaşık 130.000 bebekte yapılan geniş çalışmalarla değerlendirildi. Bu çalışmaların sonuçları, her iki yeni rotavirus aşısının, ishale, özellikle ciddi ishale karşı etkin ve güvenli bir korunma sağladığını gösterdi. Rotavirus aşılıarı, rotavirus vakalarını (%74), ağır vakaları (%98) ve hastane yatışlarını (%96) azaltmaktaydı. İlk doz bebek 6-12 haftalık iken uygulandığında ve aşılama 8. aydan önce tamamlandığında invajinasyon riskinin artmadığı gösterildi. Son iki yılda, iki yeni rotavirus aşısı, Meksika, ABD ve gelişmiş Avrupa ülkeleri gibi 35'den fazla ülkede lisans alarak kullanıma girmeye başladı.

Anahtar Kelimeler: Rotavirus aşılıarı, çocuk, reassortant virus

Türkiye Klinikleri J Pediatr 2006, 15:163-168

Abstract

Rotavirus is the leading cause of hospitalization and death from acute gastroenteritis among infants and young children worldwide. Rotavirus causes an estimated 600,000 deaths and more than 2 million hospitalizations each year. A rhesus rotavirus-based, tetravalent, human reassortant vaccine (RRV-TV, RotaShield, Wyeth), first reassortant vaccine, was licensed in 1998 for routine immunization of infants in the United States. But, the vaccine was subsequently withdrawn because of a likely association with intestinal intussusception. Recently, the efficacy and safety of two new rotavirus vaccines, the monovalent human rotavirus vaccine (HRV, Rotarix, GlaxoSmithKline) and the pentavalent human-bovine reassortant vaccine (PRV, RotaTeq, Merck), was evaluated in large scale trials of over 130,000 children. The studies indicate that the new rotavirus vaccines were efficacious in preventing rotavirus gastroenteritis, decreasing severe disease. These vaccines prevent about 74 percent of all rotavirus cases and about 98 percent of the most severe cases, including 96 percent of rotavirus cases requiring hospitalization. In the studies, there was found no association between the new rotavirus vaccines and an increased risk of intussusception. In the past 2 years, two new rotavirus vaccines have been licensed in Mexico, USA, developed European countries and in more than 35 other countries.

Key Words: Rotavirus vaccine, child, reassortant viruses

Rotaviruslar, tüm dünyada bebek ve küçük çocuklarda görülen gastroenteritlerin en önde gelen nedenidir ve ağır dehidratasyon hatta ölüme sebep olan ciddi ishale neden olurlar.¹ Günümüzde, dünya genelinde her yıl 1.6-2.4 milyon kişi ishal nedeniyle yaşamını yitirmektedir. Bu ölümlerin yaklaşık %25'inden rotavi-

ruslar sorumludur.^{2,3} Dolayısıyla, rotaviruslar yılda 600 bin, günde yaklaşık 1600 çocuğun ölümüne sebep olmaktadır.⁴ Gelişmekte olan ülkelerde doğan her 250 çocuktan biri rotavirus gastroenteriti nedeniyle kaybedilmektedir.

Rotaviruslar, gelişmekte olan ülkelerde olduğu gibi gelişmiş ülkelerde de 5 yaş altı çocuklarda görülen akut enfeksiyöz ishallerin en önde gelen nedenidir.^{5,6} Örneğin, ABD'de 5 yaş altı çocuklarda tüm hastaneye yatışların %10-12'sinden rotavirus ishalleri sorumludur.⁴ Rotavirus hastalığının sadece ABD'ne getirdiği ekonomik yükün yılda 1 milyar doların üzerinde olduğu tahmin edilmektedir.^{7,8} Rotavirus gastroenteriti nedeniyle

Geliş Tarihi/Received: 11.07.2006 Kabul Tarihi/Accepted: 25.08.2006

Yazışma Adresi/Correspondence: Dr. Zafer KURUGÖL
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, İZMİR
kurugol@med.ege.edu.tr

Copyright © 2006 by Türkiye Klinikleri

dünya genelinde her yıl yaklaşık 25 milyon çocuk doktora başvurmakta ve 2 milyon çocuk hospitalize edilmektedir.

Bu ağır hastalık yükü nedeniyle rotavirus gastroenteritinden korunma gereksinimi vardır. Akut gastroenteritlerden korunmada, anne sütü, el yıkama, oyuncakların dezenfeksiyonu gibi önlemlerin yeri yadsınmaz. Ancak, bakteriyel gastroenteritlerden korunmada önemli olan kişisel ve toplumsal hijyen kuralları, rotavirus enfeksiyonlarının önlenmesinde etkili değildir. Demokratik virus olarak da tanımlanan rotavirusların neden olduğu gastroenteritler, hijyen koşullarından bağımsız olarak, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde benzer sıklıkta görülür.¹ Bu nedenle rotavirus ishalinin önlenmesinde tek yöntem rotavirus aşılmasıdır.^{9,10}

Rotavirus Aşılıarı

Rotavirus enfeksiyonları asemptomatik enfeksiyondan ağır dehidrasyonla seyreden fatal gastroenterite kadar geniş bir klinik spektrum oluşturur. İlk doğal rotavirus enfeksiyonu, genellikle 4-36 aylık bebeklerde görülür ve ishal, kusma ve dehidrasyon ile ağır bir seyir gösterir. İnfantlar, genelde 1-3 rotavirus enfeksiyonundan sonra immün olur. Önceden geçirilmiş iki rotavirus enfeksiyonu, orta ve ciddi ishale karşı hemen hemen %100 korunma sağlar. Dolayısıyla, ilk doğal rotavirus enfeksiyonu, sonraki enfeksiyonların sıklığını ve şiddetini anlamlı olarak azaltır. Rotavirus aşısından beklenen de, doğal rotavirus enfeksiyonuna benzer immünite oluşturarak,

- Orta/ciddi enfeksiyona karşı koruması,
- Hastane yatışları ve ölümleri önlemesi,
- Morbidite ve ekonomik kayıpları azaltması ve
- Hastalığın süre ve ciddiyetini hafifletmesidir.¹¹

Rotavirus aşısından, daha sonraki hafif rota ishaline ve re-enfeksiyona karşı korunmak gibi bir beklentimiz yoktur.¹²

İlk rotavirus aşısı çalışmaları jennerian bir yaklaşımla başlamış, yani değişik hayvan rotavirusları

attenüe edilmiştir. İnsanda kullanılan hayvan kökenli ilk rotavirus aşısı “bovine Nebraska calf diarrhea virus” (P6[1]G6) suşu ile çalışmalar 1971 yılında başlatılmıştır.¹³ İlk canlı oral rotavirus aşısı RIT 4237 bovine rotavirus aşısı ile 1978’de hayvan, 1982 yılından itibaren ise insan çalışmaları başlatılmış, aşı Avrupa ve Afrika’da çok sayıda çalışmada denenmiştir.¹⁴ Ancak, hayvan orjinli RIT 4237 aşısı beklendiği kadar etkili olmamış ve 1986’da üretimi durdurulmuştur. Daha sonraki yıllarda, RIT 4237’ye göre daha fazla pasajın yapıldığı, bu nedenle daha immunojen olacağı düşünülen WC-3 bovine rotavirus aşısı ile çalışmalar yapılmıştır. Ancak, Afrika’daki deneyimlerin başarısız olması üzerine WC-3 bovine rotavirus aşısı üretimden kaldırılmıştır.^{15,16}

Hayvan orjinli aşılıarla bu başarısız deneyimler üzerine, reassortant aşı çalışmaları başlatıldı. İlk olarak, serotip 3 RRV (maymun rotavirus) ile serotip 1 insan rotavirusu çaprazlanarak, yeni bir reassortant virus elde edildi. Bu reassortant virus, hem serotip 1 insan rotavirusunun antijenik özelliklerini taşımaktaydı, hem de RRV’nin hücre kültüründe kolay üreyebilme yeteneğine sahipti. Böylece geliştirilen ilk reassortant rotavirus aşısı, tetravalan maymun-insan reassortant rotavirus aşısı (**RRV-TV, Rotashield, Wyeth-Lederle**) ABD’de 31 Ağustos 1998’de kullanım lisansı aldı ve 1999 yılı rutin aşı şemasına dahil edildi. Serotip G1, G2 ve G4 reassortant insan rotavirus suşları ile tip 3 RRV’nin kombine edildiği bu tetravalan reassortant aşının etkinliği hafif ishalede %57 (%95 CI= 29, 74); ağır ishalede %82 (%95 CI= -9, 97) idi. Ancak, 1 milyon doz aşı uygulaması ile 15 invajinasyon (intussusception) vakası bildirilmesi üzerine CDC, Temmuz 1999’da rotavirus aşılama-sını durdurdu. Daha sonra yapılan iki bağımsız çalışmada, aşının invajinasyon riskini 35 kat artırdığı saptanması üzerine Ekim 1999’da kullanımdan kaldırıldı.¹⁷

Bu umut kırıcı deneyime rağmen rotavirus aşısı çalışmaları sürdürüldü. İki yeni rotavirus aşısı (monovalan human rotavirus aşısı [Rotarix, GlaxoSmithKline] ve pentavalan human-bovine reassortant rotavirus aşısı [RotaTeq, Merck]) ile ilgili etkinlik ve güvenilirlik çalışmaları tamam-

Tablo 1. Yeni rotavirus aşılı.

	Rota Teq (PRV)	Rotarix (HRV)
Orjin İçeriği	Bovine/Human reassortant Pentavalan (WC-3 bovine/insan G1-G4 tip ve WC-3/insan P tip reassortantı)	Human attenüe strain Monovalan (insan serotip G1)
Doz sayısı	3 doz	2 doz
İnvajinasyon	70.301 bebekte yapılan çalışmada ilişki saptanmadı*	63.325 bebekte yapılan çalışmada ilişki saptanmadı*
Ağır rotavirus ishaline karşı koruyuculuk **	%98***	%85***
Avantajları	Güvenilir, immunojenitesi geniş, bağırsakta replikasyonu sınırlı	Güvenilir, tek virus suşu olması, 2 doz uygulanması
Dezavantajları	Kompleks aşı, 3 doz uygulama	Non P1 serotiplere karşı düşük etkinlik

* İlk doz bebek 90 günlük olmadan önce verildiğinde,

** Faz 3 çalışmaların sonuçları

*** Farklı skorlama sistemleri kullanılmıştır, bu nedenle karşılaştırılması uygun değildir.

landı (Tablo 1). Son iki yılda, bu iki aşı 35'den fazla ülkede lisans alarak kullanıma girmeye başladı.⁴

Bu yazıda, öncelikle bu iki yeni rotavirus aşısı üzerinde durulacaktır.

Pentavalan Human-Bovine Reassortant Rotavirus Aşısı (PRV, RotaTeq)

WC-3 bovine rotavirus G6 P5 [7] ile insan VP7 G1-G4 ve VP4 P1A [8] reassortantı pentavalan aşısıdır (Tablo 1). P1A, en sık rastlanan insan P tipidir, ılıman iklimde görülen gastroenteritlerin %90'ından fazlasında izole edilir. Böylece, bu 5 reassortant rotavirus son 20 yılda gerek gelişmiş gerekse gelişmekte olan ülkelere izole edilen suşların %85'inden fazlasını kapsar.¹⁸

Aşı oral yolla 3 doz uygulanır. İki doz arasında en az 4 hafta olması önerilir. Koruyuculukta, serotip-spesifik nötralizan antikörlerin (homotipik immünite) en önemli olduğu savına dayanır.

Pentavalan human-bovine reassortant rotavirus aşısının invajinasyon riskini değerlendirmek amacıyla, 2001 yılında Finlandiya ve ABD'de plasebo-kontrollü bir çalışma başlatıldı.¹⁹ Bu çalışmada, 6-12 haftalık bebeklere 4-10 hafta arayla 3 doz (en son aşı dozu 32 haftayı geçmeyecek şekilde) PRV veya plasebo uygulandı. Daha sonra, orta Amerika ülkeleri, İsveç, Almanya, Belçika, İtalya ve Tayvan'ın da katılımıyla çalışmaya alınan bebek sayısı 70.301'e ulaştı. Bu geniş çalışma grubunda, her hangi bir aşı dozundan sonraki 42 gün içinde

plasebo grubunda 5, aşı grubunda 6 invajinasyon vakası saptandı. PRV'nin ilk dozundan sonra 1 yıllık izlem periyodunda aşı grubunda 12, plasebo grubunda ise 15 invajinasyon vakası bildirildi. İnvajinasyon için relatif risk 42 gün içinde 1.6 (%95 CI, 0.4-6.4) ve 1 yılda 0.9 (%95 CI, 0.4-1.9) idi.

Bu çalışmada, PVR aşısının etkinliği de değerlendirildi ve ishale karşı etkinliğinin %74, ağır ishale karşı %98 olduğu gösterildi (Tablo 2).¹⁹

Monovalan Human Rotavirus Aşısı (HRV, RIX4414 suşu, Rotarix)

Canlı, attenüe, insan rotavirus aşısıdır. G1P[8] suşunu içerir (Tablo 1). Aşı, korunmada homotipik antikor yanıtı kadar heterotipik antikor yanıtının da önemli olduğu savına dayanır. Monovalan human rotavirus aşısı (HRV) ile G1 yanında benzer VP4 ve VP7 antijenleri içeren G3, G4 ve G9 serotiplerine

Tablo 2. Pentavalan human-bovine reassortant rotavirus aşısı (PRV) etkinliği.¹⁹

Rotavirus Gastroenteriti	PRV (n= 328)	Plasebo (n=322)	Aşı etkinliği* (%)
Tüm	8	33	74
Orta ve ağır **	5	28	81
Ağır ***	0	8	98

*p < 0.001

**Clark skoru ≥ 8/24

***Clark skoru ≥ 16/24

karşı da nötralizan antikor yanıtı oluşmaktadır.^{20,21} Aşının 6 haftalıktan itibaren oral yolla 2 doz (minimum 4 hafta arayla) uygulanması önerilir. HRV, 2-8°C'de depolanmalı ve saklanmalıdır. Diğer çocukluk aşılı ile birlikte uygulanabilir.

Monovalan human rotavirus aşısının immünojenisitesi ve güvenilirliği ilk kez Belçika'da erişkinlerde, Almanya'da 1 yaş üstü çocuklarda denendi. Daha sonra, Finlandiya'da bebeklerde bir pilot çalışma başlatıldı. Bu çalışmada, 2 ve 4. ay şemasıyla 2 doz uygulandığında, HRV'nin etkinliğinin %73, ağır rotavirus gastroenteritine karşı koruyuculuğunun ise %90 olduğu gösterildi (Tablo 3).²²

Güney Amerika'da yapılan daha geniş, çift kör, plasebo-kontrollü çalışmada ise HRV aşısının etkinliği ve invajinasyon riski değerlendirildi. On bir Güney Amerika ülkesinin katıldığı ve 63.225 bebeğe aşı (31.673 bebek aşı grubu) veya plasebo (31.552 bebek plasebo grubu) verilen çalışmada HRV, 2 ve 4. ayda bebeklere 2 doz uygulandı. Her hangi bir aşı dozundan sonraki 31 gün içinde plasebo grubunda 9, aşı grubunda 3 invajinasyon vakası saptandı. HRV'nin ilk dozundan sonra 100 günlük izlem periyodunda (bebekler 6 aylık olduğunda) aşı grubunda 9, plasebo grubunda ise 16 invajinasyon vakası görüldü (relatif risk= 0.56).²³ Bu sonuç, aşının invajinasyona yol açmadığı gibi invajinasyondan koruduğunu göstermektedir.

Çalışma grubundaki 20.000 infantın 1 yıllık izleminde, aşının ağır rotavirus gastroenteritine karşı koruyuculuğunun %85, ağır dehidratasyonla seyreden rotavirus gastroenteritine karşı koruyuculuğunun ise %100 olduğu saptandı.²³ Monovalan human rotavirus aşısı, G1 serotipine karşı (%92) etkili olduğu gibi benzer VP4 ve VP7 antijenleri

içeren G3 (%88), G4 ve G9 (%91) serotiplerine karşı da yüksek oranda koruyuculuk sağlamaktaydı. Farklı VP4 ve VP7 antijenleri içeren G2 tipine karşı ise %41-67 koruyuculuk sağladığı gösterildi.^{23,24}

Sonuç olarak, yaklaşık 130.000 bebekte yapılan çalışmaların sonuçları, her iki yeni rotavirus aşısının (HRV ve PRV), ishale, özellikle ciddi ishale karşı etkin ve güvenli bir korunma sağladığını göstermektedir. İlk doz bebek 6-12 haftalık iken uygulandığında ve aşılama 8. aydan önce tamamlandığında invajinasyon riskinin artmadığı gösterilmiştir. Rotavirus aşılı, hastane yatışlarını (%96), acil servis başvurularını (%93), iş gücü kayıplarını (%87) azaltır. Gelişmiş ülkelerde olduğu gibi Güney Amerika ve Asya'da yapılan maliyet-etkinlik çalışmaları, rotavirus aşılılarının "cost-effective" olduğunu göstermiştir.^{25,26}

Yeni rotavirus aşılılarından HRV (Rotarix) Temmuz 2004'de Meksika'da lisans aldı. 2006 yılı ise rotavirus aşılı için hızlı bir gelişme yılı oldu. Şubat 2006'da ABD'de Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), bebekleri rotavirus gastroenteritinden korumak için rotavirus aşısı (PRV) yapılmasını önerdi.²⁷ Rotavirus aşısı, 2-4-6. ay şemasıyla 3 dozda oral yolla uygulanacak şekilde ABD rutin aşı şemasına eklendi. Rotavirus aşısının ilk dozunun 12 haftalığa kadar olan bebeklere uygulanması ve aşılamının (3 doz) 32. haftaya kadar tamamlanması gerektiği vurgulandı. Yine 2006 içinde, Venezüella, Brezilya ve Panama gibi bazı Güney Amerika ülkelerinde rutin aşılama başlatıldı.²⁸ Yine bu yıl, Avrupa'da EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, Tıbbi Ürünlerin Değerlendirilmesi İçin Avrupa Kurumu) tarafından Rotarix'e ve Rotateq'e lisans verildi. Böylece bu iki yeni rotavirus aşısı 35'den fazla ülkede lisans alarak kullanıma girmiş oldu.

Ülkemizde de bu iki yeni rotavirus aşısı için lisans başvurusu bulunmaktadır. Türkiye'de yapılan çalışmalarda, 5 yaş altı çocuklarda görülen ishallerin %15-40'ından rotavirusların sorumlu olduğu gösterilmiştir.²⁹⁻³¹ İzmir'de ishal nedeniyle hastaneye başvuran 920 çocukta yaptığımız bir çalışmada, rotavirusların 5 yaş altı çocuklarda gö-

Tablo 3. Human G1 rotavirus aşısının (HRV, RIX4414 suşu), aşılamayı izleyen 2 rotavirus sezonunda etkinliği.²²

Rotavirus gastroenteriti	HRV (n= 245)	Plasebo (n=123)	Aşı etkinliği* (%)
Tüm	13	23	72
Ağır	3	10	85

*p < 0.05

rülen ishali, özellikle de hastane yatışlarına sebep olan ağır ishali en sık nedeni olduğunu (vakaların %39.8'inde izole edildi) gösterdik.³¹ İzole edilen suşların %91'inin serotip G 1-4 olduğunu ve en sık G1 serotipinin (%75.1) görüldüğünü saptadık. Çataloluk ve ark.³² yaptıkları çalışmada, en sık G4P[8] (%42.2) serotipini saptamışlar ve serotip G1P[8], G2P[4], G3P[8] ve G4P[8] serotiplerinin rotavirus ishallerinin %73.4'ünden sorumlu olduğunu göstermişlerdir. Bu iki çalışmanın sonuçları her iki aşının da ülkemizde etkili olacağını göstermektedir. Ancak, bu konuda yapılacak daha geniş seroepidemiolojik çalışmalara ve aşı etkinlik ve yan etki çalışmalarına gereksinim vardır.

Bu iki aşı dışında, dünyanın bir çok bölgesinde (Çin, Kore, Endonezya, Almanya ve Brezilya) rotavirus aşı geliştirme çalışmaları sürdürülmektedir. Hindistan'da iki ve Avustralya'da bir aday neonatal aşı (Monovalent, human neonatal strain-derived live-attenuated vaccine (G3P[6]) ile çalışmaların sonuçları umut vericidir.^{33,34}

İki yeni rotavirus aşısının Afrika ve Asya'daki gelişmekte olan ülkelerde etkinliği ve güvenilirliği hakkında yeterli veri yoktur. Yeni rotavirus aşılarının fiyatı da yaygın kullanıma girmesi için engel oluşturmaktadır. Ancak, çok yakın bir gelecekte aşı fiyatının şu andakinin çok altına düşeceği, kitle aşılması yapıldığında aşı maliyetinin bebek başına 2-3 dolara kadar ineceği umut edilmektedir.²⁸ Böylece, universal rotavirus bebek aşılması mümkün olacak ve çocukluk çağı gastroenteritlerinin bu en önemli etkenine karşı korunma ve kontrol sağlanarak, yüz binlerce bebeğin yaşamı kurtulacaktır.

KAYNAKLAR

1. Kapikian AZ, Hoshino Y, Chanock RM. Rotaviruses. In: Knipe DM, Howley PM, eds. *Fields Virology*. 4th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p.1787-833.
2. Parashar UD, Hummelman EG, Bresee JS, Miller MA, Glass RI. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis* 2003;9:565-72.
3. Bresee JS, Glass RI, Ivanoff B, Gentsch JR. Current status and future priorities for rotavirus vaccine development, evaluation and implementation in developing countries. *Vaccine* 1999;17:2207-22.
4. Bresee JS, Parashar UD, Widdowson MA, Gentsch JR, Steele AD, Glass RI. Update on rotavirus vaccines. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24:947-52.
5. Glass RI, Compans R, Lang D. Fifth Rotavirus Vaccine Workshop: Current Issues and Future Developments. Atlanta, Georgia 16-17 October 1995. From: Prasad BVV, Burns JW, Marietta E, Estes MK, Chiu W. *Nature* 1990;343:476-9.
6. Rodriguez WJ, Kim HW, Brandt CD, et al. Longitudinal study of rotavirus infection and gastro-enteritis in families served by a paediatric medical practice: Clinical and epidemiologic observations. *Pediatr Infect Dis J* 1987;6:170-6.
7. Glass RI, Kilgore PE, Holman RC, et al. The epidemiology of rotavirus diarrhoea in the United States: Surveillance and of disease burden. *J Infect Dis* 1996;174 (suppl 1): 5-11.
8. Parashar UD, Holman RC, Clarke MJ, Bresee JS, Glass RI. Hospitalisations associated with rotavirus diarrhoea in the United States, 1993 through 1995: Surveillance based on the new ICD-9-CM rotavirus-specific diagnostic code. *J Infect Dis* 1998;177:13-17.
9. Velazquez FR, Matson DO, Calva JJ, et al. Rotavirus infections in infants as protection against subsequent infections. *N Eng J Med* 1996;335:1022-8.
10. Ward RL, Bernstein DI. Protection against rotavirus disease after natural rotavirus infection. US Rotavirus Vaccine Efficacy Group. *J Infect Dis* 1994;169:900-4.
11. Velazquez FR, Matson DO, Guerrero ML, et al. Serum antibody as a marker of protection against natural rotavirus infection and disease. *J Infect Dis* 2000;182: 1602-9.
12. Pérez-Vargas J, Isa P, Lopez S, Arias CF. Rotavirus Vaccine: Early introduction in Latin America. *Arch Med Res* 2006;37:1-10.
13. Mebus CA, Kono M, Underdahl NR, Twiehaus MJ. Cell culture propagation of neonatal calf diarrhea (scours) virus. *Can Vet J* 1971;12:69-72.
14. Senturia YD, Peckham CS, Cordery M, et al. Live attenuated oral rotavirus vaccine. *Lancet* 1987;2:1091-2.
15. Bernstein DI, Smith VE, Sander DS, et al. Evaluation of WC3 rotavirus vaccine and correlates of protection in healthy infants. *J Infect Dis* 1990;162:1055-62.
16. Clark HF, Burke CJ, Volkin DB, et al. Safety, immunogenicity and efficacy in healthy infants of G1 and G2 human reassortant rotavirus vaccine in a new stabilizer/buffer liquid formulation. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22:914-20.
17. Murphy T, Gargiullo PM, Massoudi MS, et al. Intussusception among infants given an oral rotavirus vaccine. *N Engl J Med* 2001;344:564-72.
18. Vesikari T, Clark HF, Offit PA, et al. Effects of the potency and composition of the multivalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine on efficacy, safety and immunogenicity in healthy infants. *Vaccine* 2006; 24:4821-9.
19. Vesikari T, Matson DO, Dennehy P, et al. Safety and efficacy of a pentavalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine. *N Engl J Med* 2006; 354:23-33.
20. Bernstein DI, Sack DA, Rothstein E, et al. Efficacy of live, attenuated, human rotavirus vaccine 89-12 in infants: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 1999;354: 287-90.

21. Offit PA. The future of rotavirus vaccines. *Sem Pediatr Infect Dis* 2002;13:190-5.
22. Vesikari T, Karvonen A, Puustinen L, et al. Efficacy of RIX4414 live attenuated human rotavirus vaccine in Finnish infants. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23:937-43.
23. Ruiz Palacios G, Perez Schael I, Velazquez FR, et al. Safety and efficacy of an attenuated vaccine against severe rotavirus gastroenteritis. *N Engl J Med* 2006;354:11-22.
24. Perez-Vargas J, Isa P, Lopez S, Arias JF. Rotavirus vaccine: early introduction in Latin America-risks and benefits. *Arch Med Res* 2006;37:1-10.
25. Podewils LJ, Antil L, Hummelman E, Bresee JS, Parashar UD, Rheingans R. Projected cost-effectiveness of rotavirus vaccination for children in Asia. *J Infect Dis* 2005;192 Suppl 1:S133-45.
26. Clark A. The cost-effectiveness of rotavirus vaccine in Peru and Bengaldesh. 7th International Rotavirus Symposium, Lisbon; 2006. p.12-3.
27. CDC. Press release of the Centers for Disease Control and Prevention, February 21, 2006. <http://www.cdc.gov/od/oc/media/pressrel/r060221.htm>.
28. Glass RI, Parashar UD, Widdowson MA, Bresee JS, Jiang B, Gentsch JR. The global burden of rotavirus disease: Who needs a rotavirus vaccine and why? 7th International Rotavirus Symposium, Lisbon; 2006. p.12-3.
29. 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;37:269-75.
30. Altındış M, Yavru S, Şimşek A, Özkul A, Çeri A, Koç H. Rotavirus infection in children with acute diarrhoea as detected by latex agglutination, ELISA and polyacrylamide gel electrophoresis. *Indian Pediatr* 2004;41:590-4.
31. Kurugöl Z, Geylani S, Karaca Y, et al. Rotavirus gastroenteritis among children under five years of age in İzmir, Turkey. *Turk J Ped* 2003;45:290-4.
32. Çataloluk O, Itturiza M, Gray J. Molecular characterization of rotaviruses circulating in the population in Turkey. *Epidemiol Infect* 2005;133:673-8.
33. State of the Art of New Vaccines Research and Development, World Health Organization, Geneva, April 2003.
34. Steele D. Alternative upstream rotavirus vaccines. 7th International Rotavirus Symposium, Lisbon; 2006. p.12-3.