



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

Α΄ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ
ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΠΑΙΔΩΝ «Η ΑΓΙΑ ΣΟΦΙΑ»

ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙΔΑ ΑΠΟ ΡΟΤΑ ΙΟ

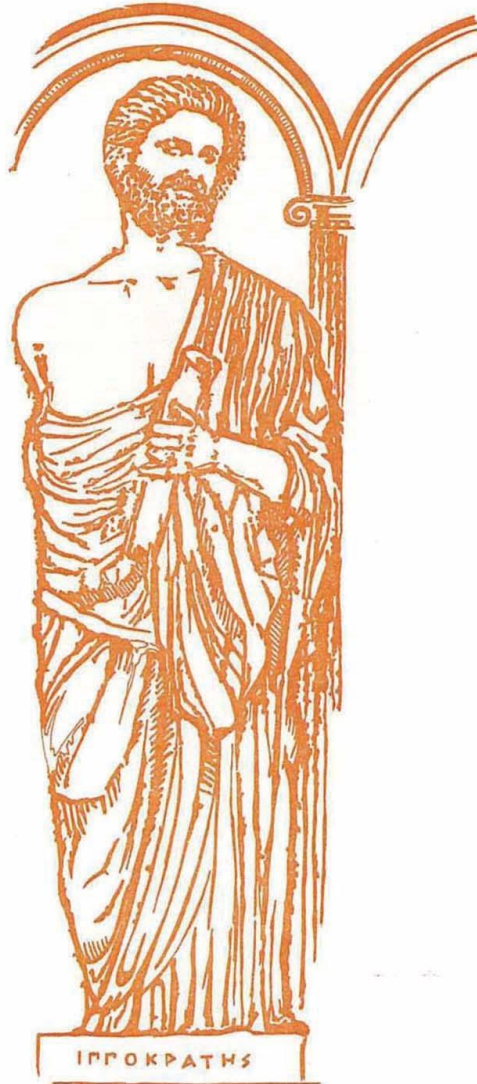
ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΚΟΥΚΟΥ ΔΗΜΗΤΡΑ-ΜΑΡΙΑ
ΠΑΙΔΙΑΤΡΟΣ

ΑΘΗΝΑ 2019

ΕΘΝΙΚΟΝ ὡ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟΝ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΝ ΑΘΗΝΩΝ



ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΟΡΚΟΣ

ΟΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ
ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΔΕ, ΙΣΤΟΡΑΣ
ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ
ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΣΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ' ΗΓΗΣΕΣΘΑΙ
ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΣΚΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗ;
ΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ
ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΣΘΑΙ, ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΕΩΥΤΟΥ ΑΔΕΛ-
ΦΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΣΚΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ
ΤΑΥΤΗΝ, ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΘΗΤΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΣΥΓ-
ΓΡΑΦΗΣ, ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΘΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ
ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΣΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣ
ΚΑΙ ΤΟΙΣ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΣΚΑΝΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΗΣΙ ΣΥΓΓΕΓΡΑΜ-
ΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΟΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ.
ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΑΝ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ
ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙΔΗΛΗΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗΝ, ΕΙΡΕΣΙΝ.
ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙ-
ΜΟΝ ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΣΥΜΒΟΥΛΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ' ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ
ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ. ΑΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΞΙΩΣ
ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. ΟΥ ΤΕΜΕΩ
ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘΙΖΟΝΤΑΣ, ΕΚΧΟΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙ
ΠΡΗΒΙΟΣ ΤΗΣΔΕ. ΕΞ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΞΙΩ, ΕΞΕΛΕΥΣΟΜΑΙ
ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΑΝ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙ-
ΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ
ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΤΕ ΚΑΙ
ΔΟΥΛΩΝ. Α ΔΕ ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑ, Η ΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ
ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑ-
ΛΕΙΣΘΑΙ ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ. ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙ-
ΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΕΟΝΤΙ, ΚΑΙ
ΜΗ ΣΥΓΧΕΟΝΤΙ, ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑ-
ΖΟΜΕΝΩ, ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΙΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ.
ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ, ΤΑΝΑΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

ΙΠΠΟΚΡΑΤΗΣ

ΟΡΚΟΣ

ΟΡΚΙΖΟΜΑΙ ΕΙΣ ΤΟΝ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΤΟΝ ΙΑΤΡΟΝ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΟΝ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΗΝ ΥΓΕΙΑΝ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΗΝ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΕΙΣ ΟΛΟΥΣ ΤΟΥΣ ΘΕΟΥΣ ΚΑΙ ΕΙΣ ΟΛΑΣ ΤΑΣ ΘΕΑΣ, ΕΠΙΚΑΛΟΥΜΕΝΟΣ ΑΥΤΟΥΣ ΩΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ, ΟΤΙ ΘΑ ΤΗΡΗΣΩ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΡΙΣΙΝ ΜΟΥ ΑΥΤΟΝ ΕΔΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟΝ ΚΑΙ ΑΥΤΗΝ ΕΔΩ ΤΗΝ ΕΓΓΡΑΦΟΝ ΣΥΜΦΩΝΙΑΝ. ΘΑ ΘΕΩΡΩ ΜΕΝ ΕΚΕΙΝΟΝ, Ο ΟΠΟΙΟΣ ΜΕ ΕΔΙΔΑΣΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΑΥΤΗΝ, ΙΣΟΝ ΠΡΟΣ ΤΟΥΣ ΓΟΝΕΙΣ ΜΟΥ ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΝ ΚΑΜΩ ΚΟΙΝΩΝΟΝ ΤΟΥ ΒΙΟΥ ΜΟΥ ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΝ ΒΟΗΘΩ ΟΤΑΝ ΕΥΡΙΣΚΕΤΑΙ ΕΙΣ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗΝ ΑΝΑΓΚΗΝ, ΚΑΙ ΘΑ ΘΕΩΡΩ ΤΟΥΣ ΑΠΟΓΟΝΟΥΣ ΤΟΥ ΩΣ ΑΔΕΛΦΟΥΣ ΜΟΥ ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΥΣ ΔΙΔΑΣΚΩ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΑΥΤΗΝ. ΕΑΝ ΘΕΛΟΥΝ ΝΑ ΤΗΝ ΜΑΘΟΥΝ, ΧΩΡΙΣ ΑΜΟΙΒΗΝ ΚΑΙ ΕΓΓΡΑΦΟΝ ΣΥΜΦΩΝΙΑΝ, ΘΑ ΠΑΡΕΧΩ ΔΕ ΣΥΜΒΟΥΛΑΣ, ΕΙΔΙΚΑ ΠΡΟΦΟΡΙΚΑ ΜΑΘΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΟΛΑΣ ΤΑΣ ΥΠΟΛΟΙΠΟΥΣ ΓΝΩΣΕΙΣ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΑ ΠΑΙΔΙΑ ΜΟΥ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΑ ΠΑΙΔΙΑ ΤΟΥ ΔΙΔΑΣΚΑΛΟΥ ΜΟΥ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΟΥΣ ΜΑΘΗΤΑΣ, ΟΙ ΟΠΟΙΟΙ ΚΑΙ ΕΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙ ΕΙΝΑΙ ΚΑΙ ΕΧΟΥΝ ΔΩΣΕΙ ΟΡΚΟΝ ΣΥΜΦΩΝΩΣ ΠΡΟΣ ΤΟΝ ΙΑΤΡΙΚΟΝ ΝΟΜΟΝ, ΕΙΣ ΚΑΝΕΝΑ ΔΕ ΆΛΛΟΝ.

ΘΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΩ ΔΕ ΤΗΝ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗΝ ΑΓΩΓΗΝ ΠΡΟΣ ΩΦΕΛΕΙΑΝ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΡΙΣΙΝ ΜΟΥ. ΘΑ ΠΡΟΛΑΜΒΑΝΩ ΔΕ ΒΛΑΒΗΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΔΑΙΚΙΑΝ, ΔΕΝ ΘΑ ΔΩΣΩ ΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΘΑΝΑΤΗΦΟΡΟΝ ΕΙΣ ΚΑΝΕΝΑ, ΟΥΤΕ ΚΑΙ ΕΑΝ ΜΟΥ ΖΗΤΗΘΗ, ΚΑΙ ΟΥΤΕ ΘΑ ΔΩΣΩ ΤΟΙΑΥΤΗΝ ΣΥΜΒΟΥΛΗΝ ΩΣΑΥΤΟΣ ΟΥΤΕ ΕΙΣ ΕΓΚΥΟΝ ΓΥΝΑΙΚΑ ΘΑ ΔΩΣΩ ΕΚ ΤΡΩΤΙΚΟΝ ΦΑΡΜΑΚΟΝ. ΘΑ ΔΙΑΤΗΡΩ ΔΕ ΤΟΝ ΒΙΟΝ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΜΟΥ ΚΑΤΑ ΤΡΟΠΟΝ ΑΓΝΟΝ ΚΑΙ ΣΥΜΦΩΝΟΝ ΠΡΟΣ ΤΟΝ ΘΕΙΟΝ ΝΟΜΟΝ. ΑΚΟΜΗ ΔΕ ΔΕΝ ΘΑ ΧΕΙΡΟΥΡΓΩ ΟΥΤΕ ΚΑΙ ΤΟΥΣ ΠΑΣΧΟΝΤΑΣ ΑΠΟ ΛΙΘΙΑΣΙΝ, ΑΛΛΑ ΘΑ ΤΟΥΣ ΠΑΡΑΠΕΜΠΩ ΕΙΣ ΑΝΔΡΑΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΥΣ, ΕΙΔΙΚΟΥΣ ΔΙΑ ΤΟ ΕΡΓΟΝ ΤΟΥΤΟ. ΕΙΣ ΩΣΑΣ ΔΕ ΟΙΚΙΑΣ ΜΕΤΑΒΑΙΝΩ, ΘΑ ΕΙΣΕΡΧΟΜΑΙ ΠΡΟΣ ΒΟΗΘΕΙΑΝ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ, ΑΠΕΧΩΝ ΠΑΣΗΣ ΕΚΟΥΣΙΑΣ ΑΔΙΚΙΑΣ ΚΑΙ ΑΛΛΗΣ ΔΙΑΦΘΟΡΑΣ ΚΑΙ ΣΑΡΚΙΚΩΝ ΣΧΕΣΕΩΝ ΜΕΤΑ ΓΥΝΑΙΚΩΝ Η ΑΝΔΡΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ.

ΩΣΑ ΔΕ ΙΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑΝ Η ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΝ ΜΟΥ ΜΕΤΑ ΤΩΝ ΆΛΛΩΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ ΕΙΣ ΤΗΝ ΚΑΘΗΜΕΡΙΝΗΝ ΤΟΥΣ ΖΩΗΝ, ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΔΕΝ ΠΡΕΠΕΙ ΠΟΤΕ ΝΑ ΑΝΑΚΟΙΝΩΘΟΥΝ ΕΙΣ ΤΟΥΣ ΆΛΛΟΥΣ, ΘΑ ΚΡΑΤΩ ΜΥΣΤΙΚΑ, ΠΙΣΤΕΥΩΝ ΟΤΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ ΕΙΝΑΙ ΑΠΟΡΡΗΤΑ. ΕΦ' ΟΣΟΝ ΜΕΝ ΛΟΙΠΟΝ ΤΗΡΩ ΑΥΤΟΝ ΕΔΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟΝ ΚΑΙ ΔΕΝ ΤΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙΝΩ, ΕΙΘΕ ΝΑ ΑΠΟΛΑΥΩ ΚΑΙ ΤΗΣ ΖΩΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΤΕΧΝΗΣ, ΕΚΤΙΜΩΜΕΝΟΣ ΕΞΑΕΙ ΑΠΟ ΟΛΟΥΣ ΤΟΥΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥΣ' ΕΑΝ ΟΜΩΣ ΠΑΡΑΒΩ ΑΥΤΟΝ ΚΑΙ ΓΙΝΩ ΕΠΙΟΡΚΟΣ, ΝΑ ΠΑΘΩ ΤΑ ΑΝΤΙΘΕΤΑ ΤΟΥΤΩΝ.

ΙΓΓΟΚΡΑΤΗΣ

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

1. ΣΥΡΙΟΠΟΥΛΟΥ ΒΑΣΙΛΙΚΗ, Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Λοιμωξιολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ (Επιβλέπον μέλος)
2. ΘΕΟΔΩΡΙΔΟΥ-ΠΑΠΑΓΡΗΓΟΡΙΟΥ ΜΑΡΙΑ, Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Λοιμωξιολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ
3. ΡΩΜΑ ΕΛΕΥΘΕΡΙΑ, Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Γαστρεντερολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

Μέλη Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής:

1. ΣΥΡΙΟΠΟΥΛΟΥ ΒΑΣΙΛΙΚΗ, Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Λοιμωξιολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ
2. ΘΕΟΔΩΡΙΔΟΥ-ΠΑΠΑΓΡΗΓΟΡΙΟΥ ΜΑΡΙΑ, Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Λοιμωξιολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ
3. ΡΩΜΑ ΕΛΕΥΘΕΡΙΑ, Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Γαστρεντερολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ
4. ΧΡΟΥΣΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ, Καθηγητής Παιδιατρικής-Ενδοκρινολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ
5. ΔΑΪΚΟΣ Λ. ΓΕΩΡΓΙΟΣ, Καθηγητής Παθολογίας- Λοιμωξιολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ
6. ΜΙΧΟΣ ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ, Αναπληρωτής Καθηγητής Παιδιατρικής-Λοιμωξιολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ
7. ΣΙΑΧΑΝΙΔΟΥ ΣΟΥΛΤΑΝΑ, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Νεογνολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

Στην οικογένειά μου

Στην Καθηγήτρια κ. Β. Συριοπούλου

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ	12
ΠΡΟΛΟΓΟΣ	16
 ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	20
1. ΟΞΕΙΑ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙΔΑ	25
1.1 Ορισμός.....	25
1.2 Αίτια οξείας γαστρεντερίτιδας	26
1.3 Κλινική εικόνα και επιπλοκές οξείας γαστρεντερίτιδας	29
1.4 Παράγοντες κινδύνου για σοβαρή ή εμμένουσα οξεία γαστρεντερίτιδα	31
1.5 Διάγνωση οξείας γαστρεντερίτιδας.....	34
1.6 Αντιμετώπιση οξείας γαστρεντερίτιδας	40
2. ΡΟΤΑ ΙΟΣ.....	46
2.1 Ιστορική αναδρομή.....	46
2.2 Μορφολογία Ρότα ιού	49
2.3 Πρωτεΐνες Ρότα ιού και λειτουργία τους	52
2.4 Ταξινόμηση Ρότα ιού	55
2.5 Μετάδοση και πολλαπλασιασμός Ρότα ιού	58
2.6 Γενετική ποικιλομορφία Ρότα ιού	62
2.7 Παγκόσμια κατανομή γονοτύπων Ρότα ιού	63
3. ΟΞΕΙΑ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙΔΑ ΑΠΟ ΡΟΤΑ ΙΟ.....	68
3.1 Επιδημιολογία και βαρύτητα της νόσου	68
3.2 Κλινική εικόνα και παθοφυσιολογία	72
3.3 Ανοσολογική απάντηση παιδιών σε λοίμωξη από Ρότα ιό.....	75
3.4 Διάγνωση	77
3.5 Θεραπεία	84
3.6 Πρόγνωση και πρόληψη	85

4. ΕΜΒΟΛΙΑ ΡΟΤΑ ΙΟΥ	86
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	92
2. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ	93
2.1 Πληθυσμός της μελέτης.....	93
2.2 Μεθοδολογία.....	95
2.3 Ανίχνευση αντιγόνου Ρότα ιού	96
2.4 Προσδιορισμός γονοτύπων Ρότα ιού	98
2.5 Στατιστική ανάλυση	113
2.6 Δεοντολογία της έρευνας	113
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	114
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	149
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	161
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	167
SUMMARY	170
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	173

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ: Κούκου Δήμητρα - Μαρία
ΟΝΟΜΑ ΠΑΤΡΟΣ: Χρήστος
ΤΟΠΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ: Πειραιάς Αττικής
ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ ΤΑΧΥΔΡΟΜΕΙΟ: dmkoukou@gmail.com

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ – ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

Αποφοίτησα το 2000 από το 5ο Ενιαίο Λύκειο Κορυδαλλού με βαθμό «Άριστα» 19,8/20 και κατόπιν Πανελλήνιων Εισαγωγικών Εξετάσεων εισήχθη στην Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Μετά από εξαετή φοίτηση απέκτησα το πτυχίο της Ιατρικής Σχολής με βαθμό «Λίαν Καλώς» 7,93/10. Στη συνέχεια συνεργάστηκα με το Τμήμα Λοιμώξεων του Χωρέμειου Ερευνητικού Εργαστηρίου της Α' Πανεπιστημιακής Παιδιατρικής Κλινικής στο Νοσοκομείο Παιδών «Η Αγία Σοφία» (Υπεύθυνη Εργαστηρίου: Β. Συριοπούλου, Καθηγήτρια Παιδιατρικής Πανεπιστημίου Αθηνών), όπου διεκπεραίωσα την παρούσα διατριβή. Παράλληλα φοίτησα στο διετές Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών «Κλινική Παιδιατρική και Νοσηλευτική-Έρευνα» και έλαβα το Μεταπτυχιακό δίπλωμα ειδίκευσης με βαθμό «Άριστα» 9,34/10. Ακολούθως απέκτησα τον τίτλο της Παιδιατρικής ειδικότητας μετά από τετραετή εκπαίδευση στην Α' Παιδιατρική Κλινική του Πανεπιστημίου Αθηνών στο Νοσοκομείο Παιδών «Η Αγία Σοφία».

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ

Έχω συμμετάσχει στα εξής ερευνητικά προγράμματα του Τμήματος Λοιμώξεων του Χωρέμειου Ερευνητικού Εργαστηρίου της Α' Πανεπιστημιακής Παιδιατρικής Κλινικής στο Νοσοκομείο Παιδών «Η Αγία Σοφία»:

2009-σήμερα: Πανευρωπαϊκό δίκτυο επιδημιολογικής επιτήρησης και καταγραφής γονοτύπων Ρότα ιού «European Rotavirus Strains Surveillance Network, EuroRotaNet», που έχει οργανωθεί υπό την αιγίδα του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας και έχει κέντρο αναφοράς το εργαστήριο Public Health England (PHE) στο Λονδίνο. Στα πλαίσια του προγράμματος εκπαιδεύτηκα στο τμήμα Ιολογίας του PHE του Λονδίνου στη μοριακή τυποποίηση των γονοτύπων του Ρότα ιού.

2008-σήμερα: Πανελλαδικό δίκτυο επιδημιολογικής επιτήρησης και καταγραφής γονοτύπων Ρότα ιού με τη συμμετοχή 20 Παιδιατρικών Κλινικών της Ελλάδας και κέντρο αναφοράς το τμήμα Λοιμώξεων του Χωρέμειου Ερευνητικού Εργαστηρίου Νοσοκομείου Παίδων «Η Αγία Σοφία» στην Αθήνα.

2007-2008: Πανελλήνια πολυκεντρική μελέτη «Rotascore extension study: μελέτη παρατήρησης οξείας γαστρεντερίτιδας με ή χωρίς Ρότα ιό σε παιδιά», με κέντρο αναφοράς το τμήμα Λοιμώξεων του Χωρέμειου Ερευνητικού Εργαστηρίου Νοσοκομείου Παίδων «Η Αγία Σοφία» στην Αθήνα.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. IN-SEASON AND OUT-OF-SEASON VARIATION OF ROTAVIRUS GENOTYPE DISTRIBUTION AND AGE OF INFECTION ACROSS 12 EUROPEAN COUNTRIES BEFORE THE INTRODUCTION OF ROUTINE VACCINATION, 2007/08 TO 2012/13.

Hungerford D, Vivancos R; EuroRotaNet network members, Read JM, Pitzer VE, Cunliffe N, French N, Iturriza-Gómara M, Aberle S, Van Ranst M, Matthijnsens J, Zeller M, Mladenova Z, Midgley S, Kølsten Fischer T, Syriopoulou VP, Koukou D, Bányai KI, Dóro RN, Kaplon J, Pothier P, Maunula L, Ruggeri FM, Fiore L, Usonis V, Ivaskeviciene I, Vennema H, Kroneman A, Poljsak-Prijatelj M, Steyer A, Buesa J, Cilla G, Montes M, Brytting M, Schloss L, Mas Marques A, Allen DJ, Nawaz S. *Euro Surveill.* 2016;21(2)

2. ROTAVIRUS GASTROENTERITIS IN A NEONATAL UNIT OF A GREEK TERTIARY HOSPITAL: CLINICAL CHARACTERISTICS AND GENOTYPES.

Koukou D, Chatzichristou P, Trimis G, Siahianidou T, Skiathitou AV, Koutouzis EI, Syrogiannopoulos GA, Lourida A, Michos AG, Syriopoulou VP. *PLoS One.* 2015 Jul 27;10(7)

3. ROTAVIRUS GENOTYPES CO-CIRCULATING IN EUROPE BETWEEN 2006 AND 2009 AS DETERMINED BY EUROROTANET, A PAN-EUROPEAN COLLABORATIVE STRAIN SURVEILLANCE NETWORK.

Iturriza-Gómara M, Dallman T, Bányai K, Böttiger B, Buesa J, Diedrich S, Fiore L, Johansen K, Koopmans M, Korsun N, Koukou D, Kroneman A, László B, Lappalainen M, Maunula L, Marques AM, Matthijnssens J, Midgley S, Mladenova Z, Nawaz S, Poljsak-Prijatelj M, Pothier P, Ruggeri FM, Sanchez-Fauquier A, Steyer A, Sitaraviciute-Ivaskeviciene I, Syriopoulou V, Tran AN, Usonis V, VAN Ranst M, D. Rougemont A, Gray J. *Epidemiol Infect.* 2011 Jun;139(6):895-909.

4. FREQUENCY, CLINICAL CHARACTERISTICS, AND GENOTYPE DISTRIBUTION OF ROTAVIRUS GASTROENTERITIS IN GREECE (2007–2008).

D. Koukou, I. Grivea, E. Roma, H. Tsioni, G. Trimis, E. Galanakis, E. Farmaki, E. Iosifidis, A. Michos, A. Siamopoulou-Mavridou, M. Kalmanti, H. Papadopoulos, E. Roilides, M. Theodoridou, G. A. Syrogiannopoulos and V. Syriopoulou, Greek Rotascore Extension Study Group. *J Med Virol.* 2011 Jan;83(1):165-9.

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. ROTAVIRUS GASTROENTERITIS IN A NEONATAL UNIT OF A GREEK TERTIARY HOSPITAL: CLINICAL CHARACTERISTICS AND GENOTYPES

D. Koukou, P. Chatzichristou, G. Trimis, T. Siahnidou, E. Koutouzis, G. Syrogiannopoulos, A. Michos, A. Lourida, V. Syriopoulou. Poster in the 33rd Annual Meeting of the ESPID, May 13-16, 2015, Leipzig, Germany

2. ROTAVIRUS GENOTYPES CIRCULATING IN GREECE DURING THE POST VACCINATION ERA (2008-14)

Dimitra Koukou, Panagiota Chatzichristou, Georgios Trimis, Athanasios Michos, Theodota Liakopoulou, Genovepha Chronopoulou, Eleni Furlani, Vaios Katsaros, Theophilos Merides, Ioanna Grivea, Eleni Bourti, Ilia Antoniou, Eleni Papadimitriou, Georgios Syrogiannopoulos, Vassiliki Syriopoulou. Oral presentation in the 6th European Rotavirus Biology Meeting, May 17-20, 2015, Dijon, France

3. PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS AMONG GREEK, EUROPEAN AND CURRENT ROTAVIRUS VACCINE STRAINS

P. Chatzichristou, D. Koukou, A.G. Michos, V. Pogka, E.I. Koutouzis, E. Charmandari, G. Trimis, G.A. Syrogiannopoulos, V.P. Syriopoulou. Poster in the 32nd Annual Meeting of the ESPID, May 6-10, 2014, Dublin, Ireland

4. DIVERSITY OF ROTAVIRUS GENOTYPES CIRCULATING IN GREECE DURING THE POST VACCINATION ERA (2008-12)

D. Koukou, P. Chatzichristou, G. Trimis, A. Michos, T. Liakopoulou, G. Chronopoulou, V. Katsaros, E. Furlani, T. Merides, I. Grivea, E. Bourti, S. Psychogiopoulou, F. Ladomenou, K. Tsoni, I. Antoniou, A. Lagousis, M. Psalti, K. Klitsakis, V. Korovesi, G. Syrogiannopoulos, E. Galanakis, I. Kavaliotis, S. Kostaridou, A. Siamopoulou, G. Krokkidas, I. Iosifides, M. Binou, V. Syriopoulou. Poster in the 31st Annual Meeting of the ESPID, May 28-June 1, 2013, Milan, Italy

5. GENETIC CHARACTERIZATION OF GREEK ROTAVIRUS ISOLATES DURING 2008-2011

D. Koukou, P. Chatzichristou, G. Trimis, V. Pogka, V. Katsaros, I. Grivea, T. Liakopoulou, G. Chronopoulou, S. Psychogiopoulou, E. Vourti, T. Meridis, A. Lagousis, S. Kostaridou, E. Galanakis, A. Koutrouba, I. Antoniou, D. Rapti, I. Giannakopoulou, V. Korovesi, E. Furlani, I. Kavaliotis, G.A. Syrogiannopoulos, V. Syriopoulou. Oral Presentation in the 4th European Rotavirus Biology Meeting, October 2-5, 2011, Altafiumara-Santa Trada Di Cannitello, Villa San Giovanni (RC), Italy

6. ROTAVIRUS GENOTYPES DISTRIBUTION IN TWO SUCCESSIVE PERIODS (2008-2010) IN GREECE

D. Koukou, G. Trimis, I. Grivea, V. Katsaros, T. Meridis, E. Michailidou, N. Anagnostatou, T. Liakopoulou, E. Vourti, A. Koutrouba, A. Lagousis, I. Antoniou, M. Psalti, D. Rapti, E. Iosifidis, E. Farmaki, I. Giannakopoulou, G. Krokidas, E. Roilides, A. Siamopoulou, S. Kostaridou, E. Galanakis, I. Kavaliotis, G.A. Syrogiannopoulos, V. Syriopoulou. Poster in the 29th Annual Meeting of the ESPID, June 7-11, 2011, Hague, The Netherlands

7. MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF ROTAVIRUS GASTROENTERITIS DURING A MULTICENTRE STUDY IN GREEK CHILDREN

Koukou D, Michos A, Grivea I, Galanakis E, Iosifidis E, Trimis G, Kalmanti M, Roilides E, Syrogiannopoulos G, Syriopoulou V. Poster in the 3rd European Rotavirus Biology Meeting, September 13-16, 2009, Loch Lomond, Scotland

8. ROTAScore EXTENSION STUDY: FREQUENCY AND CLINICAL CHARACTERISTICS OF ROTAVIRUS GASTROENTERITIS IN GREECE

Grivea Ioanna, Koukou Dimitra, Tsioni Heleni, Galanakis Emmanuel, Farmaki Evagelia, Iosifidis Elias, Trimis Georgios, Siamopoulou-Mavridou Antigoni, Kalmanti Maria, Tsepkentzi Heleni, Roilides Emmanuel, Syrogiannopoulos Georgios and Syriopoulou Vassiliki, Greek Rotascore Extension Study Group. Poster in the 27th Annual Meeting of the ESPID, June 9-13, 2009, Brussels, Belgium

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ο Ρότα ιός αποτελεί το σημαντικότερο αίτιο οξείας γαστρεντερίτιδας στα παιδιά παγκοσμίως. Στις αναπτυσσόμενες χώρες αποτελεί σημαντικό αίτιο θνητότητας προκαλώντας 250.000 θανάτους ετησίως, εκ των οποίων το 85% συμβαίνει στις χώρες της Ασίας και Υποσαχάριας Αφρικής. Στις αναπτυγμένες χώρες ο Ρότα ιός αποτελεί σημαντικό αίτιο νοσηλείας των παιδιών και επίσκεψης στον παιδίατρο προκαλώντας σημαντικές επιπτώσεις στην ποιότητα ζωής των οικογενειών και οικονομικό κόστος στο σύστημα υγείας των κρατών. Το 2006 κυκλοφόρησαν δύο ασφαλή και αποτελεσματικά εμβόλια έναντι της γαστρεντερίτιδας από Ρότα ιό και το 2009 ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (Π.Ο.Υ.) πρότεινε την εφαρμογή τους σε παγκόσμιο επίπεδο.

Η γενετική ποικιλομορφία και η μεταβλητότητα της επιδημιολογίας του Ρότα ιού αποτελούν αντικείμενο πολλών μελετών ανά τον κόσμο. Ο Π.Ο.Υ. έχει οργανώσει έξι μεγάλα δίκτυα επιτήρησης (Νότια και Ανατολική Ασία, Αφρική, Αυστραλία, Αμερική και Ευρώπη), τα οποία συλλέγουν επιδημιολογικά στοιχεία και μελετούν την κατανομή των γονοτύπων του Ρότα ιού πριν και μετά την εφαρμογή των εμβολίων. Στην Ευρώπη το δίκτυο επιτήρησης του Ρότα ιού οργανώθηκε το 2007 υπό την αιγίδα του Π.Ο.Υ. και με τη χρηματοδότηση των δύο εταιρειών GlaxoSmithKline (GSK) και Sanofi Pasteur-MSD, που κυκλοφόρησαν το μονοδύναμο και το πενταδύναμο εμβόλιο αντίστοιχα. Οι χώρες που συμμετείχαν στη μελέτη αρχικά ήταν έντεκα (Φιλανδία, Δανία, Ολλανδία, Ουγγαρία, Γερμανία, Γαλλία, Ιταλία, Ισπανία, Σλοβενία, Σουηδία, Αγγλία), το 2008 προστέθηκαν άλλες τρεις χώρες (Λιθουανία, Βουλγαρία και Βέλγιο) και το 2009 προστέθηκε η Ελλάδα και η Αυστρία. Το Πανευρωπαϊκό δίκτυο Ρότα ιού (European Rotavirus Network - EuroRotaNet) συλλέγει και δημοσιεύει κάθε χρόνο επιδημιολογικά στοιχεία του Ρότα ιού από κάθε χώρα-μέλος του.

Στην Ελλάδα έχει οργανωθεί από το 2009 ένα επιμέρους δίκτυο από 20 παιδιατρικές κλινικές της χώρας, που συλλέγουν επιδημιολογικά δεδομένα και δείγματα κοπράνων από παιδιά με γαστρεντερίτιδα από Ρότα ιό. Τα παραπάνω δεδομένα και δείγματα συγκεντρώνονται στο εργαστήριο αναφοράς της μελέτης, που είναι το τμήμα Λοιμώξεων του Χωρέμειου Ερευνητικού Εργαστηρίου της Α΄ Παιδιατρικής Κλινικής Πανεπιστημίου Αθηνών στο Νοσοκομείο Παίδων «Η Αγία Σοφία», όπου γίνεται η μοριακή τυποποίηση των δειγμάτων κοπράνων από τα παιδιά με γαστρεντερίτιδα από Ρότα ιό. Επιστημονική υπεύθυνη του εργαστηρίου και της μελέτης αυτής είναι η κυρία Β. Συριοπούλου, Καθηγήτρια Παιδιατρικής, η οποία μου ανέθεσε και το θέμα της παρούσας διατριβής με τίτλο «Γαστρεντερίτιδα από Ρότα ιό: επιδημιολογία και κατανομή γονοτύπων».

Ολοκληρώνοντας την εκπόνηση της μελέτης αυτής θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου προς την κυρία Β. Συριοπούλου, που μου εμπιστεύτηκε τη διεκπεραίωση μιας πολύ σημαντικής και δύσκολης εργασίας, που πραγματοποιήθηκε σε πανελλαδικό επίπεδο και είχε υψηλές απαιτήσεις τόσο οργάνωσης όσο και μεθοδικότητας. Επίσης την ευχαριστώ θερμά για την ευκαιρία που μου έδωσε να εκπαιδευτώ σε μοριακές τεχνικές ανάλυσης γονιδιώματος του Ρότα ιού και να φέρω εις πέρας αυτή τη διατριβή. Η συμβολή της ήταν καθοριστική τόσο για την εργαστηριακή όσο και συγγραφική διεκπεραίωση της μελέτης. Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον κύριο Γ. Χρούσο, Καθηγητή Παιδιατρικής, που κατά τη διάρκεια της θητείας του ως Διευθυντής της Α΄ Παιδιατρικής Κλινικής Πανεπιστημίου Αθηνών, μου έδωσε την ευκαιρία να πραγματοποιήσω την παρούσα διατριβή και να αποκτήσω σπουδαία κλινική εμπειρία μέσα από την ολοκλήρωση της ειδικότητάς μου στην Κλινική αυτή.

Θερμές ευχαριστίες εκφράζω επίσης στις Καθηγήτριες Παιδιατρικής κυρία Μ. Θεοδωρίδου και κυρία Ε. Ρώμα, μέλη της τριμελούς επιτροπής, που με τις εύστοχες υποδείξεις τους και τις πολύτιμες συμβουλές τους με βοήθησαν στην ολοκλήρωση της παρούσας έρευνας. Ακόμα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Αναπληρωτή Καθηγητή Παιδιατρικής κύριο Α. Μίχο για τις συμβουλές που μου προσέφερε ως προς το σχεδιασμό της μελέτης καθώς και για τις εύστοχες παρατηρήσεις του κατά τη

συγγραφή της διατριβής. Επίσης εκφράζω τις ευχαριστίες μου στον κύριο Γ. Λ. Δαΐκο, Καθηγητή Παθολογίας-Λοιμωξιολογίας και την κυρία Σ. Σιαχανίδου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής και Νεογνολογίας που με τίμησαν ως μέλη της επταμελούς επιτροπής της διατριβής μου.

Τελειώνοντας θα ήθελα να αναφερθώ στο προσωπικό του Τμήματος Λοιμώξεων του Χωρέμειου Ερευνητικού Εργαστηρίου και να τους ευχαριστήσω για τη βοήθεια που μου προσέφεραν απλόχερα κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της διατριβής μου και ιδιαίτερα τη Βιολόγο του Τμήματος Παναγιώτα Χατζηχρήστου, το Βιοπαθολόγο του Τμήματος Τριαντάφυλλο Συριόπουλο, τους γραμματείς του Τμήματος, Κατερίνα Κυριαζή και Φώτη Κουτούζη και τη βοηθό εργαστηρίου Σοφία Ταχμιντζή. Ιδιαίτερη ευγνωμοσύνη οφείλω ακόμα στους Διευθυντές, Καθηγητές, Παιδιάτρους και Βιοπαθολόγους όλων των Κλινικών, που συμμετείχαν εθελοντικά στην παρούσα μελέτη και συνέβαλαν καθοριστικά με τη συλλογική τους προσπάθεια στην πανελλήνια καταγραφή επιδημιολογικών δεδομένων του Ρότα ιού.

Σύγκρουση συμφερόντων: Η συγγραφέας δεν έχει οικονομικό ή άλλο ενδιαφέρον, που θα μπορούσε να δημιουργήσει σύγκρουση συμφέροντος. Η μελέτη χρηματοδοτήθηκε εξίσου από την GlaxoSmithKline (GSK) Biologicals και τη Sanofi Pasteur-MSD (SP-MSD) μέσω του Π.Ο.Υ. και της Διοικητικής επιτροπής του EuroRotaNet (“EuroRotaNet Steering Committee”), καθώς και από την τοπική φαρμακευτική εταιρεία Vianex S.A.



ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η οξεία γαστρεντερίτιδα (ΟΓ) είναι λοίμωξη του γαστρεντερικού, που προσβάλλει άτομα όλων των ηλικιών (Banyai et al., 2018). Στις αναπτυγμένες χώρες καταγράφονται κατά μέσο όρο 1 έως 3 επεισόδια ΟΓ ανά παιδί ετησίως, ενώ στις αναπτυσσόμενες ο αριθμός επεισοδίων ΟΓ κυμαίνεται από 1 έως 18 επεισόδια ανά παιδί ετησίως (Dennehy, 2011). Η θνητότητα από ΟΓ είναι μεγαλύτερη στις αναπτυσσόμενες χώρες για λόγους που σχετίζονται με τη μη τήρηση κανόνων υγιεινής και την έλλειψη παροχής ιατρικής φροντίδας (Parashar et al., 2003). Υπολογίζεται ότι κάθε χρόνο σημειώνονται περίπου 2 με 3 εκατομμύρια θάνατοι από ΟΓ παγκοσμίως. (Dennehy, 2011, Musher and Musher, 2004), (Kosek et al., 2003). Τα παιδιά προσχολικής ηλικίας είναι πιο ευάλωτα στην ΟΓ και το 15% περίπου των θανάτων από ΟΓ συμβαίνει σε παιδιά ηλικίας <5 ετών.

Το πιο συνηθισμένο αίτιο ΟΓ είναι οι ιοί (Jansen et al., 2008, Banyai et al., 2018). Οι ιογενείς γαστρεντερίτιδες αποτελούν τη δεύτερη συχνότερη κλινική οντότητα μετά τις ιογενείς λοιμώξεις του αναπνευστικού. Μέχρι τη δεκαετία του 1970 δεν υπήρχε γνωστός αιτιολογικός παράγοντας στο 80% περίπου των νοσηλευόμενων ασθενών με ΟΓ. Το 1973 ανακαλύφθηκε ο Ρότα ιός, ο οποίος αποτελεί την κυριότερη αιτία ΟΓ σε παιδιά παγκοσμίως (30-60% των νοσηλειών λόγω ΟΓ) και ευθύνεται για το 50% των επιδημικών διαρροϊκών επεισοδίων σε βρέφη και παιδιά (Karikian and Shope, 1996), (Parashar et al., 2006b).

Οι Ρότα ιοί ανήκουν στην οικογένεια των Reoviridae. Αποτελούνται από καψίδιο τριών στρωμάτων, που περικλείει 11 τμήματα δίκλωνου RNA. Το γονιδίωμα του Ρότα ιού κωδικοποιεί 12 ιϊκές πρωτεΐνες “Viral Proteins, VP”; 6 δομικές (VP1-VP4, VP6 και VP7) και 6 μη δομικές “Non Structural Proteins, NSP” (NSP1-NSP6). Η αλληλουχία και η δραστικότητα της δομικής πρωτεΐνης VP6 καθορίζει την ομάδα του ιού. Έτσι οι Ρότα ιοί ταξινομούνται σε ομάδες από το Α έως το J και κάθε μία από αυτές προσβάλλει διαφορετικό είδος ζώου (Matthijnssens et al., 2012b, Banyai et al.,

2017). Οι Ρότα ιοί ομάδας A είναι οι πιο συνηθισμένοι και προσβάλλουν συχνότερα τον άνθρωπο. Οι ομάδες B και C προκαλούν σπάνια λοιμώξεις σε ανθρώπους και συχνότερα σε ζώα, όπως χοίρους, βοοειδή, πρόβατα και ποντίκια. Οι άλλες ομάδες Ρότα ιών ανευρίσκονται σε διάφορες κατηγορίες ζώων, όπως σκύλους, πιθήκους και πτηνά. Οι Ρότα ιοί της ομάδας A ταξινομούνται περαιτέρω σε G και P γονότυπους ανάλογα με την αλληλουχία των VP7 και VP4 δομικών πρωτεϊνών του εξωτερικού περιβλήματος του ιού αντίστοιχα. Μέχρι στιγμής έχουν βρεθεί 27G και 35P τύποι, εκ των οποίων οι 14 G και 17 P δημιουργούν τουλάχιστον 80 συνδυασμούς, που προσβάλλουν τον άνθρωπο. Οι πιο συνηθισμένοι συνδυασμοί, που ανιχνεύονται στους ανθρώπους και προκαλούν σοβαρή ΟΓ είναι οι εξής: G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] και G9P[8] (Banyai et al., 2018).

Η δυνατότητα μετάλλαξης του ιού με διάφορους μηχανισμούς, όπως οι σημειακές μεταλλάξεις και η ανταλλαγή γονιδιώματος μεταξύ ανθρώπινων και ζωικών στελεχών, καθιστά το Ρότα ιό ιδιαίτερα μεταδοτικό. Οι Ρότα ιοί μεταδίδονται συνήθως με τα κόπρανα, με τη στενή προσωπική επαφή, με σταγονίδια ή εμέσματα και μπορεί να επιβιώσουν σε επιφάνειες, σε πισίνες ή ακόμα και σε πόσιμο νερό για εβδομάδες (Malek et al., 2006). Η μετάδοσή τους μπορεί να συμβεί παρά τα συνήθη μέτρα υγιεινής, όπως είναι το πλύσιμο των χεριών και τα αντισηπτικά (Gleizes et al., 2006). Οι Ρότα ιοί είναι εξαιρετικά λοιμογόνοι και πρακτικά όλα τα παιδιά θα μολυνθούν τουλάχιστον μία φορά μέχρι τα 5 πρώτα χρόνια της ζωής τους, παρουσιάζοντας συμπτώματα όπως διαρροϊκές κενώσεις, έμετο και πυρετό, τα οποία οδηγούν πολλές φορές σε αφυδάτωση, ηλεκτρολυτικές διαταραχές ή ακόμα και θάνατο. Οι βαριές περιπτώσεις ΟΓ και αφυδάτωσης χρήζουν νοσηλείας σε νοσοκομείο, παρατηρούνται συνήθως στις ηλικίες 3-36 μηνών και αφορούν στο πρώτο επεισόδιο ΟΓ από Ρότα ιό. Τα επόμενα επεισόδια συνήθως έχουν ηπιότερη κλινική εικόνα και αυτοπεριορίζονται (Coffin et al., 2006). Εξαίρεση αποτελούν τα νεογνά, που μπορεί να νοσούν από Ρότα ιό και να είναι ασυμπτωματικά ή να παρουσιάζουν σοβαρά συμπτώματα όπως βλεννοαιματηρές κενώσεις, μετεωρισμό κοιλίας ακόμα και νεκρωτική εντεροκολίτιδα (Akinci et al., 1991, Rotbart et al., 1983, de Villiers and Driessen, 2012).

Η λοίμωξη από Ρότα ιό ακολουθεί εποχιακή κατανομή. Ειδικότερα σε χώρες με εύκρατο κλίμα ο Ρότα ιός έχει αυξημένη επίπτωση κυρίως τους χειμερινούς μήνες που μπορεί να φτάσει στο 70% των παιδιών με συμπτώματα ΟΓ (Ratner et al., 2001). Στην περίοδο αυτή καταγράφονται επιδημίες στην κοινότητα, όπως σε βρεφονηπιακούς σταθμούς και σχολεία (Ford-Jones et al., 2000) και αυξάνονται τα κρούσματα νοσοκομειακής λοίμωξης σε παιδιατρικές κλινικές (Rogers et al., 2000), σε τμήματα ανοσοκατασταλμένων ασθενών (Rogers et al., 2000) και σε μονάδες νεογνών (Shim et al., 2012, Kim et al., 2009, Tai et al., 2012). Η πρώτη νοσοκομειακή επιδημία περιγράφηκε το 1975 στο Λονδίνο και έκτοτε ακολούθησαν πολλές μελέτες που περιγράφουν νοσοκομειακές λοιμώξεις από Ρότα ιό κυρίως σε παιδιατρικά τμήματα, όπου το ποσοστό συχνότητας ανέρχεται στο 30-87% (Gleizes et al., 2006).

Ο Ρότα ιός δημιουργεί σοβαρό πρόβλημα δημόσιας υγείας και δεν κάνει διάκριση σε αναπτυγμένες και αναπτυσσόμενες χώρες (Parashar et al., 2006a). Σύμφωνα με στοιχεία του Π.Ο.Υ. μέχρι και το 2006 νοσούσαν ετησίως σε παγκόσμιο επίπεδο 111 εκατομμύρια παιδιά <5 ετών, εκ των οποίων 25 εκατομμύρια είχαν ανάγκη ιατρικής φροντίδας, 2,4 εκατομμύρια είχαν ανάγκη νοσηλείας και 325.000 έως 500.000 πέθαιναν από επιπλοκές της ΟΓ από Ρότα ιό (Parashar et al., 2003). Συγκεκριμένα στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής (Η.Π.Α.) και την Ευρώπη ο Ρότα ιός ήταν υπεύθυνος για 3,5 εκατομμύρια επεισόδια ΟΓ σε παιδιά <5 ετών ετησίως, 24.000 έως 110.000 νοσηλείες και 75 έως 125 θανάτους (Parashar et al., 1998b). Το 82% των θανάτων που αποδίδεται στο Ρότα ιό αφορά στις αναπτυσσόμενες χώρες, όπως στη Νοτιοανατολική Ασία και την υποσαχάρια Αφρική (Glass, 2006). Αντίθετα στην Ευρωπαϊκή ένωση και τις Η.Π.Α. τα περισσότερα επεισόδια ΟΓ από Ρότα ιό είναι μικρής διάρκειας και δεν απαιτούν συνήθως ιατρική αντιμετώπιση, ωστόσο έχουν σημαντικές οικονομικές και κοινωνικές επιπτώσεις στην οικογένεια (Parashar et al., 2006a).

Από το 2006 κυκλοφορούν παγκοσμίως δύο ασφαλή και αποτελεσματικά εμβόλια, το Rotarix και το Rotateq, τα οποία κυκλοφορούν σήμερα σε περισσότερες από 100 χώρες και εφαρμόζονται σε τουλάχιστον 80 χώρες στο πλαίσιο του εθνικού

τους προγράμματος εμβολιασμού (Burnett et al., 2018). Το Rotarix της εταιρείας GlaxoSmithKline (GSK) είναι ένα μονοδύναμο εμβόλιο και αποτελείται από το εξασθενημένο ανθρώπινο στέλεχος G1P[8], που αποτελεί τον πιο συχνό γονότυπο παγκοσμίως. Το Rotateq της εταιρείας Merck Sharp and Dohme (MSD) είναι ένα πενταδύναμο εμβόλιο, που συντίθεται από ανασυνδυασμό ανθρώπινων και βοοειδών στελεχών και περιλαμβάνει αντιγόνα των πιο συχνών γονοτύπων G1, G2, G3, G4 και P[8] (Ruiz-Palacios et al., 2006, Vesikari et al., 2006b).

Τα δύο εμβόλια του Ρότα ιού είναι ασφαλή και αποτελεσματικά. Στις αναπτυγμένες χώρες η αποτελεσματικότητα των εμβολίων έναντι της σοβαρής ΟΓ από Ρότα ιό ξεπερνάει το 90% (Ruiz-Palacios et al., 2006) και στις αναπτυσσόμενες χώρες το 50-75% (Armah et al., 2010). Από το 2007 και μετά η συστηματική εφαρμογή του εμβολιασμού κατά του Ρότα ιού σε περισσότερες από 100 χώρες του κόσμου φαίνεται ότι έχει αλλάξει την επιδημιολογία του ιού. Το 2013 υπολογίστηκε από τον Π.Ο.Υ. ότι οι θάνατοι από επιπλοκές της ΟΓ από Ρότα ιό μειώθηκαν σε 215.000 παγκοσμίως, ωστόσο το 90% αυτών εξακολουθεί να σημειώνεται στην Αφρική και την Ασία (Tate et al., 2016). Στις Η.Π.Α. τα ποσοστά νοσηλείας λόγω ΟΓ από Ρότα ιό μειώθηκαν κατά 60-90% (Burnett et al., 2017) και παρατηρήθηκαν αλλαγές στην επιδημιολογία της λοίμωξης. Η εποχικότητα του ιού μετατοπίστηκε κατά 1-2 μήνες, η μέση ηλικία των παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό ήταν μεγαλύτερη, η ανίχνευση του ιού ήταν αυξημένη κάθε δεύτερο έτος της μελέτης και εμφανίστηκαν νέοι γονότυποι προκαλώντας μικροεπιδημίες, που ήταν ωστόσο αυτοπεριοριζόμενες (Sederdahl et al., 2018).

Η μελέτη της επιδημιολογίας του Ρότα ιού είναι δύσκολο να πραγματοποιηθεί. Τα στοιχεία επιπολασμού της νόσου συνήθως προκύπτουν από τη διάγνωση των εξιτηρίων των νοσηλευόμενων ασθενών, που όμως σε ποσοστό έως και 47% καταγράφουν τα περιστατικά ως ΟΓ και δεν αναφέρουν ακριβώς τη λοίμωξη από Ρότα ιό ως αιτία της νοσηλείας. Το αίτιο της ΟΓ άλλωστε δεν επιβεβαιώνεται εργαστηριακά, καθώς η εργαστηριακή διάγνωση δε μεταβάλλει την αντιμετώπιση της ΟΓ παρά μόνο αυξάνει το κόστος της νοσηλείας. Επίσης στις μελέτες δεν συμπεριλαμβάνονται τα ασυμπτωματικά περιστατικά λοίμωξης από Ρότα ιό ή τα

περιστατικά που έχουν συμπτώματα ΟΓ και δεν καταφεύγουν στον ιατρό. Δυσχερής είναι επίσης η αποτύπωση των γονοτύπων του Ρότα ιού ανά τον κόσμο. Η επιδημιολογία γονοτύπων του Ρότα ιού είναι ιδιαίτερη, καθώς αλλάζει από χρονιά σε χρονιά και διαφορετικοί γονότυποι μπορεί να κυκλοφορούν την ίδια στιγμή στην ίδια περιοχή. Οι μελέτες καταγραφής γονοτύπων του Ρότα ιού γίνονται συνήθως σε περιορισμένη γεωγραφική περιοχή και έχουν μικρή χρονική διάρκεια. Τα δείγματα, που συλλέγονται, είναι λίγα και λαμβάνονται από νοσηλευόμενους ασθενείς, που όμως πάσχουν από σοβαρή λοίμωξη.

Στην Ελλάδα οι επιδημιολογικές μελέτες που αφορούν στο Ρότα ιό είναι ελάχιστες, έχουν περιορισμένη διάρκεια και το δείγμα τους είναι μικρό. Η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη που διερευνά την επιδημιολογία της λοίμωξης από Ρότα ιό στα παιδιά προσχολικής ηλικίας σε πανελλαδικό επίπεδο και αποτυπώνει την κατανομή των γονοτύπων του Ρότα ιού, που κυκλοφορούν στη χώρα μας, κατά τη διάρκεια επτά διαδοχικών χρόνων. Στόχος της μελέτης είναι η συσχέτιση της επιδημιολογίας του Ρότα ιού με τους γονότυπους που κυκλοφορούν και η σύγκριση των επιδημιολογικών δεδομένων της λοίμωξης από Ρότα ιό την περίοδο της πρώιμης και όψιμης εφαρμογής των δύο εμβολίων στη χώρα μας. Η συνεχής επιδημιολογική επιτήρηση και γενετική ανάλυση των στελεχών του ιού, που προκαλούν ΟΓ τόσο στην κοινότητα όσο και στο νοσοκομείο, θα βοηθήσουν σημαντικά στην εκτίμηση της αποτελεσματικότητας των εμβολίων και θα συμβάλλουν στην παρατήρηση πιθανής ανάδυσης νέων παθογόνων στελεχών.

1. ΟΞΕΙΑ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙΔΑ

1.1 ΟΡΙΣΜΟΣ

Ο όρος οξεία γαστρεντερίτιδα (ΟΓ) υποδηλώνει λοίμωξη της γαστρεντερικής οδού, που οφείλεται σε ιογενή, μικροβιακά ή παρασιτικά αίτια, εκδηλώνεται με διάρροια ή/και έμετο, κοιλιακό άλγος και πυρετό. Ο όρος ΟΓ χρησιμοποιείται συνήθως για να περιγράψει τη λοιμώδη διάρροια, αν και υπάρχουν πολλά γνωστά μη λοιμώδη αίτια γαστρεντερικής νόσου με έμετο ή/και διάρροια. Η οξεία διάρροια συνήθως διαρκεί λιγότερο από 7 ημέρες. Σε περίπτωση, που διαρκεί περισσότερο από 14 ημέρες, χαρακτηρίζεται ως εμμένουσα διάρροια.

Σύμφωνα με την ESPGHAN (Guarino et al., 2014) «Οξεία Γαστρεντερίτιδα ορίζεται η μείωση της συνοχής της σύστασης των κοπράνων (χαλαρή ή υδαρής κένωση) και/ή η αύξηση στη συχνότητα των κενώσεων (τυπικά περισσότερες από 3 κενώσεις/24ωρο) με ή χωρίς έμετο ή πυρετό». Η αλλαγή στη σύσταση των κενώσεων είναι πιο ενδεικτική στον ορισμό της ΟΓ από ότι η αύξηση του αριθμού των κενώσεων ειδικά στους πρώτους μήνες της ζωής (Guarino et al., 2014). Επομένως η ΟΓ πρέπει να ορίζεται τόσο με ποσοτικό όσο και με ποιοτικό τρόπο αναφέροντας τυχόν αλλαγές στη σύσταση των κοπράνων.

Ο ποσοτικός ορισμός της ΟΓ ως «3 ή περισσότερες χαλαρές ή υδαρείς κενώσεις ή οποιοσδήποτε αριθμός χαλαρών κενώσεων με πρόσμιξη αίματος στη διάρκεια ενός 24ώρου» (Fonseca et al., 2004) είναι ο πιο αποδεκτός ορισμός της ΟΓ και χρησιμοποιείται συνήθως στις επιδημιολογικές μελέτες παρατήρησης. Ωστόσο αυτός ο ορισμός δε λαμβάνει υπόψη διαφορές στις ηλικιακές ομάδες, στις διαιτητικές ή πολιτισμικές συνήθειες των ασθενών. Έτσι ο ορισμός πρέπει να προσαρμόζεται στην ηλικία, καθώς η συχνότητα των κενώσεων είναι μεγαλύτερη στα βρέφη κυρίως κάτω των 3 μηνών και μπορεί να διαφοροποιείται ανάλογα με τη διατροφή. Τέλος ο όγκος της κένωσης, που δε συμπεριλαμβάνεται στον ορισμό, πρέπει να λαμβάνεται υπόψη σε ορισμένες κλινικές καταστάσεις με σύμπτωμα τη διάρροια.

1.2 ΑΙΤΙΑ ΟΞΕΙΑΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙΔΑΣ

Μελέτες σε νοσηλευόμενα παιδιά, έδειξαν ότι 45% έως 75% των παιδιών με ΟΓ είχαν έναν τουλάχιστον παθογόνο μικροοργανισμό στα κόπρανα (Guarino et al., 2014). Η συχνότητα αυτών διαφοροποιείται ανάλογα με τη χώρα, την ηλικία και την εποχή. Τα κυριότερα λοιμώδη αίτια ΟΓ φαίνονται στον Πίνακα 1 και περιλαμβάνουν τρεις κατηγορίες παθογόνων: Ιούς, Μικρόβια και Παράσιτα.

Οι ιοί αποτελούν τη συχνότερη αιτία ΟΓ στα παιδιά (75-90%) τόσο στις αναπτυγμένες όσο και στις αναπτυσσόμενες χώρες (Churgay and Aftab, 2012). Ο Ρότα ιός (*Rotavirus*) αντιπροσωπεύει το πιο σημαντικό παθογόνο από τους ιούς σε όλο τον κόσμο και είναι υπεύθυνος για το 37% των θανάτων σχετιζόμενων με ΟΓ σε παιδιά μικρότερα των 5 ετών και για το 5% των θανάτων γενικά στα παιδιά αυτής της ηλικίας (Tate et al., 2012). Η συστηματική εφαρμογή των εμβολίων του Ρότα ιού έχει οδηγήσει σε μείωση της νοσηρότητας της ΟΓ στα παιδιά μικρότερα των 5 ετών. Έτσι οι Νοροϊοί (*Norwalk-like viruses*) αποτελούν σήμερα εξίσου σημαντική αιτία ΟΓ στα παιδιά μικρότερα των 5 ετών σε χώρες με υψηλό ποσοστό εφαρμογής του εμβολίου και στις Η.Π.Α., όπου ευθύνονται για 14.000 νοσηλείες, 281.000 επισκέψεις στα επείγοντα ιατρεία, 627.000 επισκέψεις στα εξωτερικά ιατρεία νοσοκομείων και για \$273 εκατομμύρια κόστος νοσηλείας ετησίως (Payne et al., 2013). Οι Καλυκοϊοί (*Caliciviruses*), Αστροϊοί (*Astroviruses*) και εντερικοί Αδενοϊοί (*enteric Adenoviruses*) ολοκληρώνουν τους ιογενείς εντερικούς παράγοντες της ΟΓ.

Στις αναπτυγμένες χώρες, τα μικρόβια ευθύνονται σε μικρό ποσοστό, περίπου 2-10%, για τις περιπτώσεις ΟΓ στα παιδιά. Στις Η.Π.Α. τα πιο συχνά αίτια ΟΓ είναι: *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella* και *Escherichia coli* (EHEC species) (Dennehy, 2005). Στις αναπτυσσόμενες χώρες η *Escherichia coli* (ETEC species) είναι το πιο σημαντικό μικροβιακό αίτιο και ακολουθούν τα *Campylobacter*, *Salmonella* και *Shigella* (Wenneras and Erling, 2004). Επίσης το *C. difficile* είναι σημαντικό αίτιο ΟΓ, που προκαλείται από τη χρήση αντιβιοτικών στα παιδιά. Οποιοδήποτε αντιβιοτικό μπορεί να προκαλέσει λοίμωξη με *C. difficile*, αν και οι πενικιλίνες, οι κεφαλοσπορίνες και η κλινδαμυκίνη είναι οι πιο συχνές αιτίες (Dennehy, 2005).

Περίπου 50% των νεογνών και μικρών βρεφών είναι αποικισμένα με *C. difficile*. Συμπτωματική ΟΓ από *C difficile* είναι απίθανο να συμβεί στα βρέφη μικρότερα των 12 μηνών (Dennehy, 2005).

Τα παράσιτα είναι σπάνιο αίτιο ΟΓ στα υγιή παιδιά, ενώ προκαλούν συχνά διάρροια σε ανοσοκατασταλμένα παιδιά ή παιδιά που ζουν σε χώρες με χαμηλό κοινωνικοοικονομικό επίπεδο, όπου προκαλούν ενδημικά φαινόμενα και οδηγούν σε υποσιτισμό. Σε αυτές τις περιπτώσεις η διάρροια τείνει να γίνει χρόνια. Η επίπτωση της ΟΓ από παράσιτα στις αναπτυσσόμενες χώρες είναι 1-8%. Τα πιο συχνά παράσιτα στις Η.Π.Α. είναι το *Cryptosporidium* και η *Giardia* (Dennehy, 2005). Άλλα πιο σπάνια παράσιτα είναι τα *Isospora belli*, *Strongyloides stercoralis*, *Trichuris trichiura* και *Entamoeba histolytica*. Η νοσηρότητά τους εξαρτάται από τη γεωγραφική περιοχή και την ανοσολογική κατάσταση του παιδιού.

Πίνακας 1. Τα κυριότερα αίτια Οξείας Γαστρεντερίτιδας στα παιδιά.

ΙΟΙ	ΜΙΚΡΟΒΙΑ	ΠΑΡΑΣΙΤΑ
Rotavirus	Shigella spp	Giardia lamblia
Norovirus (Calicivirus)	Salmonella spp (enterica, thyphi)	Cryptosporidium
Astrovirus	Campylobacter jejuni	Isospora belli
Adenovirus	Yersinia spp (enterocolitica, pseudotuberculosis)	Entamoeba histolytica
Corona-like virus	E. coli spp (EHEC, ETEC)	Strongyloides stercoralis
Cytomegalovirus	Vibrio spp (cholerae, parahaemolyticus, vulnificus)	Trichuris trichiura
	Clostridium (perfringens, difficile)	Cyclospora cayetanensis
	Staphylococcus aureus	

Τα αίτια της ΟΓ διαφέρουν ανάλογα με την ηλικιακή ομάδα. Η επίπτωση της ΟΓ από Ρότα ιό φαίνεται ότι είναι μεγαλύτερη στα παιδιά ηλικίας ≤ 5 ετών σε σύγκριση με τις υπόλοιπες ηλικιακές ομάδες. Το *Campylobacter* είναι το πιο συχνό παθογόνο μετά την ηλικία των 5 ετών. Στον Πίνακα 2 φαίνονται τα κυριότερα αίτια ΟΓ ανά ηλικιακή ομάδα παιδιών στην Ευρώπη (Guarino et al., 2008).

Πίνακας 2. Τα κυριότερα αίτια Οξείας Γαστρεντερίτιδας ανά ηλικιακή ομάδα παιδιών στην Ευρώπη.

ΗΛΙΚΙΑ <1 ΕΤΟΥΣ	ΗΛΙΚΙΑ 1-5 ΕΤΩΝ	ΗΛΙΚΙΑ >5 ΕΤΩΝ
Rotavirus	Rotavirus	Campylobacter jejuni
Norovirus (Calicivirus)	Norovirus (Calicivirus)	Salmonella
Adenovirus	Adenovirus	Rotavirus
Salmonella	Salmonella spp	
	Campylobacter jejuni	
	Yersinia	

Τα εντεροπαθογόνα επίσης διαφέρουν ανάλογα με το κλίμα και την εποχή. Οι ιογενείς γαστρεντερίτιδες εμφανίζονται συνήθως το χειμώνα και την άνοιξη ενώ οι μικροβιακές το καλοκαίρι. Σε ανασκόπηση 6 μελετών, που έγιναν στην Ευρώπη, φάνηκε ότι η ΟΓ είχε μεγαλύτερη επίπτωση την περίοδο μεταξύ Ιανουαρίου και Μαρτίου. Οι περισσότερες περιπτώσεις οφείλονταν σε ιογενείς λοιμώξεις, όπως ο Ρότα ιός και οι Νοροϊοί. Ο Ρότα ιός είχε μεγαλύτερη επίπτωση από τον Ιανουάριο έως και το Μάρτιο σε όλες τις χώρες με εξαίρεση τη Σουηδία, όπου είχε τον Απρίλιο. Από τα μικροβιακά αίτια το *Campylobacter* και η *Salmonella* ανιχνεύθηκαν όλο το χρόνο και κυρίως τις περιόδους Μάιο με Ιούνιο και Σεπτέμβριο με Οκτώβριο (Guarino et al., 2008).

1.3 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΚΑΙ ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ ΟΞΕΙΑΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙΔΑΣ

Οι περισσότερες από τις κλινικές εκδηλώσεις της ΟΓ συνδέονται με το υπεύθυνο παθογόνο, τη φύση του παθογόνου και τον ενοφθαλμισμό του, το μολυσματικό φορτίο και από την εμφάνιση επιπλοκών (πχ. αφυδάτωση, διαταραχές ηλεκτρολυτών κλπ). Συνήθως η κατανάλωση προσχηματισμένων τοξινών (πχ από το μικρόβιο *Staphylococcus Aureus*) συνδέεται με ταχεία εκδήλωση ναυτίας και εμέτου, πιθανώς με συνοδό πυρετό, διάρροια εντός 8-72 ωρών και κοιλιακό άλγος. Η εμφάνιση υδαρούς διάρροιας και κοιλιακού άλγους μετά από διάστημα επώασης 8-16 ωρών οφείλεται στη λοίμωξη από *Clostridium perfringens* ή *Bacillus cereus*, που παράγουν τοξίνες. Κοιλιακό άλγος και υδαρής διάρροια μετά από περίοδο επώασης 16-48 ωρών μπορεί να οφείλεται σε Νοροϊούς και κάποια παράσιτα, που παράγουν εντεροτοξίνες, όπως *Cryptosporidium* ή *Cyclospora*. Μικρόβια, όπως η *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolytica*, η εντεροδιεισδυτική *E.Coli* και το *Vibrio parahaemolyticus* προκαλούν διάρροια με πρόσμιξη αίματος και λευκοκυττάρων, κοιλιακό άλγος, τεινεσμό και πυρετό. Τα στοιχεία αυτά υποδηλώνουν μικροβιακή δυσεντερία. Η αιματηρή διάρροια με κοιλιακό άλγος μετά από περίοδο επώασης 72-120 ωρών συνδέεται με λοιμώξεις από *Shigella* και *E.Coli* που παράγει τοξίνη Shiga, όπως η *E.Coli* O157:H7. Οι μικροοργανισμοί, που προκαλούν δυσεντερία ή αιμορραγική διάρροια μπορούν ωστόσο να προκαλέσουν και υδαρή διάρροια χωρίς πυρετό.

Πολλές από τις εκδηλώσεις της ΟΓ στα παιδιά είναι μη ειδικές. Ορισμένα κλινικά χαρακτηριστικά βοηθούν στη διαφοροποίηση της αιτίας της διαρροϊκής νόσου και στην ταχεία διαλογή των ασθενών, ώστε να χορηγηθεί έγκαιρα αντιβιοτική θεραπεία ή ειδική δίαιτα. Αδρά η διαφορική διάγνωση, που πρέπει να γίνεται, είναι ότι ο υψηλός πυρετός (>40°C), η πρόσμιξη αίματος στα κόπρανα, το κοιλιακό άλγος και η συμμετοχή από το ΚΝΣ συνήθως υποδηλώνουν μικροβιακή λοίμωξη, ενώ οι έμετοι και τα συμπτώματα από το ανώτερο αναπνευστικό σχετίζονται με ΟΓ ιογενούς αιτιολογίας (Guarino et al., 2014). Πολλές φορές βέβαια η συμπτωματολογία παρουσιάζει μεγάλη αλληλοεπικάλυψη. Η θετική προγνωστική αξία των συμπτωμάτων της δυσεντερίας είναι μικρή, ωστόσο η απουσία συμπτωμάτων

δυσεντερίας έχει πολύ μεγαλύτερη προγνωστική αξία για την ΟΓ μικροβιακής αιτιολογίας.

Οι περισσότερες από τις επιπλοκές της ΟΓ, όπως η αφυδάτωση και οι ηλεκτρολυτικές διαταραχές, οφείλονται στην καθυστερημένη διάγνωση και αντιμετώπιση. Η μη έγκαιρη και κατάλληλη ενυδάτωση μπορεί να είναι επικίνδυνη ακόμα και για τη ζωή των βρεφών και των μικρών παιδιών. Η έλλειψη αντιμετώπισης της ΟΓ μπορεί να προκαλέσει παράταση των διαρροϊκών κενώσεων με επακόλουθο υποσιτισμό ή άλλες επιπλοκές, όπως δευτερογενείς λοιμώξεις και ανεπάρκεια μικροθρεπτικών συστατικών (πχ σίδηρος, ψευδάργυρος). Στις αναπτυσσόμενες χώρες η μικροβιαμία είναι συνηθισμένη επιπλοκή σε υποσιτιζόμενα παιδιά με ΟΓ.

Εξωεντερικές εκδηλώσεις και επιπλοκές είναι σπάνιες και συνδέονται με συγκεκριμένα παθογόνα. Οι εκδηλώσεις αυτές δεν είναι παθογνωμονικές για τη λοίμωξη και δεν έχουν πάντα στενή χρονική σχέση με το διαρροϊκό σύνδρομο. Κάποιες από αυτές φαίνονται παρακάτω (Πίνακας 3).

Πίνακας 3. Εντεροπαθογόνα και εξωεντερικές εκδηλώσεις.

ΕΞΩΕΝΤΕΡΙΚΗ ΕΚΔΗΛΩΣΗ	ΣΧΕΤΙΚΑ ΕΝΤΕΡΟΠΑΘΟΓΟΝΑ
Εστιακές λοιμώξεις λόγω συστηματικής εξάπλωσης βακτηριακών παθογόνων	Salmonella, Shigella, Yersinia, Campylobacter, Clostridium difficile
Αντιδραστική αρθρίτιδα	Salmonella, Shigella, Yersinia, Campylobacter, Clostridium difficile
Σύνδρομο Guillain-Barre	Campylobacter
Σπειραματονεφρίτιδα	Shigella, Campylobacter, Yersinia
Νεφροπάθεια IgA	Campylobacter
Οζώδες ερύθημα	Yersinia, Campylobacter, Salmonella
Αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο	Shigella dysenteriae, Escherichia Coli O157H7
Αιμολυτική αναιμία	Campylobacter, Yersinia

1.4 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΓΙΑ ΣΟΒΑΡΗ Η΄ ΕΜΜΕΝΟΥΣΑ ΟΞΕΙΑ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙΔΑ

Οι κυριότεροι παράγοντες κινδύνου για ΟΓ είναι η περιβαλλοντική μόλυνση και η αυξημένη έκθεση σε εντεροπαθογόνα. Άλλοι παράγοντες κινδύνου είναι η μικρή ηλικία, η ανοσολογική ανεπάρκεια, οι συλλοιμώσεις, ο υποσιτισμός και η μη σίτιση αποκλειστικά ή κατά κύριο λόγο με θηλασμό. Οι περισσότερες περιπτώσεις διάρροιας υποχωρούν μέσα σε μία εβδομάδα. Ένα μικρό ποσοστό διαρροϊκών νόσων δεν υποχωρούν και συνεχίζουν για περισσότερο από 2 εβδομάδες, οπότε η διάρροια χαρακτηρίζεται ως «εμμένουσα». Σε περίπτωση, που τα επεισόδια διάρροιας συνεχίζονται για περισσότερες από 14 ημέρες ή αν είναι πολύ συχνά τότε πιθανόν να παρουσιαστούν σιτιστικές διαταραχές, ανεπαρκής πρόσληψη πρωτεϊνών και θερμίδων, δευτεροπαθείς λοιμώξεις και πιθανώς θάνατος. Τα επεισόδια αυτά αποτελούν το 3-20% όλων των επεισοδίων διάρροιας σε παιδιά <5 ετών και ευθύνονται για το 50% όλων των θανάτων λόγω διάρροιας κυρίως στις αναπτυσσόμενες χώρες. Παράγοντες κινδύνου για εμμένουσα ΟΓ σύμφωνα με την ESPGHAN (Guarino et al., 2014) είναι οι ακόλουθοι:

1.4.1. Είδος εντεροπαθογόνου

Στα παιδιά με εμμένουσα διάρροια τα κύρια εντερικά παθογόνα, που ανιχνεύονται είναι: *Rotavirus*, *Norovirus*, *Astrovirus*, *enteroaggregative Escherichia coli*, *Giardia*, *Cryptosporidium* και *Entamoeba histolytica*. Διάφορες μελέτες επιβεβαιώνουν ότι οι ιοί και κυρίως οι Ρότα ιοί είναι η πιο σημαντική αιτία εμμένουσας και σοβαρής διάρροιας στα παιδιά στις αναπτυσσόμενες χώρες, ενώ τα παράσιτα στις αναπτυσσόμενες χώρες (Friesema et al., 2012). Αν και ο *Norovirus* προκαλεί συχνά και σοβαρά επεισόδια εμέτου, οι *Norovirus* και *Adenovirus* είναι λοιμώξεις λιγότερο σοβαρές από το Ρότα ιό (Wiegering et al., 2011, Rimoldi et al., 2011). Η ΟΓ από *Salmonella spp.* σχετίζεται με περισσότερα διαρροϊκά επεισόδια ανά ημέρα και μεγαλύτερης διάρκειας σε σχέση με τις συνήθεις ιογενείς λοιμώξεις. Τα παράσιτα (*Cryptosporidium*, *Giardia* και *E. histolytica*) (Moore et al., 2010, Allison et al., 2011) και κάποια στελέχη *enterotoxigenic E. coli* (ETEC) (Rivera et al., 2010) είναι

σημαντικά αίτια εμμένουσας διάρροιας στον αναπτυσσόμενο κόσμο. Τέλος συλλοίμωξη με περισσότερα από ένα παθογόνα σχετίζεται με πιο σοβαρή ΟΓ (Valentini et al., 2013).

1.4.2. Ηλικία

Βρέφη <6 μηνών έχουν υψηλότερη έκθεση στο Ρότα ιό και εμφανίζουν πιο συχνά αφυδάτωση. Στις αναπτυσσόμενες χώρες η μικρή ηλικία (<6 μηνών) σχετίζεται με μεγαλύτερη βαρύτητα και εμμένουσα διάρροια (Moore et al., 2010, Rivera et al., 2010, Ochoa et al., 2009, Pathela et al., 2006, Strand et al., 2012).

1.4.3. Διατροφή

Ο μητρικός θηλασμός μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο ΟΓ στα βρέφη (Morales et al., 2012, Morrow et al., 2005). Στις αναπτυσσόμενες χώρες ο πρόωρος απογαλακτισμός σχετίζεται με πρόωρη έναρξη σοβαρής ή και παρατεταμένης διάρροιας (Manger et al., 2011, Moore et al., 2010).

1.4.4. Υποκείμενη χρόνια νόσος ή ανοσοανεπάρκεια

Παιδιά με ανοσοανεπάρκεια ή υποκείμενη χρόνια νόσο έχουν μεγαλύτερο ρίσκο να αναπτύξουν παρατεταμένη και σοβαρή νόσο (πχ από *Rotavirus* ή *Norovirus*) ή μπορεί να έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο να προσβληθούν από ευκαιριακές λοιμώξεις (πχ *C. difficile*, *Cryptosporidium*, *Giardia*) (Bok and Green, 2012, Henke-Gendo et al., 2009, Sugata et al., 2012, Kaiser et al., 2012). Παρατεταμένη αντιγοναιμία κατά τη διάρκεια λοίμωξης από *Rotavirus* παρατηρήθηκε σε ασθενείς, που έχουν υποβληθεί σε Μεταμόσχευση Μυελού των Οστών (Sugata et al., 2012). Παιδιά με μεταμόσχευση νεφρού κινδυνεύουν από *Cryptosporidium* (Bandin et al., 2009). Στις αναπτυσσόμενες χώρες ο υποσιτισμός, η έλλειψη πρωτεϊνών, βιταμίνης Α, φυλλικού οξέος, η προηγούμενη χρήση αντιβιοτικών και η ανοσοανεπάρκεια είναι παράγοντες κινδύνου για εμμένουσα διάρροια από παράσιτα (Sutra et al., 2012, Umamaheswari et al., 2010, Manger et al., 2011). Το *C. difficile* είναι σημαντικός παράγοντας σοβαρής διάρροιας σε χρόνιες νόσους, όπως οι ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου και οι κακοήθειες.

1.4.5. Κλινική εικόνα

Η ανορεξία, ο πυρετός, ο έμετος και η πρόσμιξη βλέννης στα κόπρανα συσχετίζονται με εμμένουσα διάρροια. Επίσης ο πυρετός, η σοβαρή αφυδάτωση και ο λήθαργος, που απαντώνται συχνά στη λοίμωξη από Ρότα ιό, συσχετίζονται με σοβαρή διάρροια (Payne et al., 2008, Ansaldi et al., 2008). Η ΟΓ από Ρότα ιό σχετίζεται με μεγαλύτερο κίνδυνο μεταβολικών διαταραχών, κυρίως υπογλυκαιμία και με καλοήθεις απύρετους σπασμούς, που δεν οφείλονται σε σοβαρή αφυδάτωση ή ηλεκτρολυτικές διαταραχές (Day et al., 2012, Chan et al., 2011, Verrotti et al., 2009). Επιδημιολογική μελέτη σοβαρής ΟΓ (Shai et al., 2013) έδειξε ότι σημαντικός αριθμός περιστατικών παρουσίασε εγκεφαλοπάθεια. Επίσης σε αναδρομική μελέτη ΟΓ από *nontyphoid Salmonella* τα παιδιά με διάρροια, που εμφανίστηκαν τοξικά ή παρουσίασαν σπασμούς κατά την εισαγωγή στο νοσοκομείο, ήταν πιο πιθανό να έχουν μικροβιαίμια συγκριτικά με αυτά, που είχαν μόνο γαστρεντερικά συμπτώματα (Chisti et al., 2011). Στις αναπτυσσόμενες χώρες ο βαθμός της αφυδάτωσης, η εμμένουσα διάρροια και τα συστηματικά συμπτώματα σχετίζονται με χειρότερη έκβαση της νόσου. Βέβαια στις χώρες αυτές ο σοβαρός υποσιτισμός, οι υποκείμενοι νόσοι και συνυπάρχουσες λοιμώξεις είναι επιβαρυντικοί παράγοντες και επηρεάζουν την έκβαση των παιδιών με ΟΓ (Shkalim et al., 2012).

1.4.6. Κοινωνικοοικονομικοί παράγοντες και προέλευση δείγματος

Παιδιά, που παρακολουθούν παιδικό σταθμό συνήθως μολύνονται από Ρότα ιό κι έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο να εκδηλώσουν σοβαρή ΟΓ (Grimprel et al., 2010). Η μετάδοση της λοίμωξης από τον παιδικό σταθμό μπορεί να επηρεάσει την εξέλιξη της ΟΓ, διότι σχετίζεται με μεγαλύτερη έκθεση σε εντεροπαθογόνα και αυξημένο κίνδυνο σοβαρής ή παρατεταμένης διάρροιας. Αυστηρά μέτρα υγιεινής, που αφορούν στην αλλαγή πάνας, το πλύσιμο χεριών, τη χρήση αλκοολούχων και αντισηπτικών διαλυμάτων χεριών και κατάλληλος εξοπλισμός παρασκευής τροφίμων μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο (Kotch et al., 2007, Sandora et al., 2005).

Ο κίνδυνος νοσοκομειακής προέλευσης της ΟΓ σχετίζεται με τη μικρή ηλικία και αυξάνεται με τη διάρκεια νοσηλείας; μπορεί να φτάσει και το 70% στα μικρά παιδιά, που μένουν στο νοσοκομείο για 6 ή περισσότερες ημέρες (Ogilvie et al., 2012, Garcia-Basteiro et al., 2011, Waisbourd-Zinman et al., 2009). Η επίπτωση της νοσοκομειακής ΟΓ μειώνεται με την αύξηση της ηλικίας (26%-48% τον πρώτο χρόνο ζωής και 2%-7% το 2^ο χρόνο) (Gleizes et al., 2006), όπως αντίστοιχα και η θνητότητα που οφείλεται σε νοσοκομειακής ΟΓ από Ρότα ιό (Ogilvie et al., 2012). Τέλος η νοσοκομειακή λοίμωξη φαίνεται να είναι πιο ήπια συγκριτικά με τη λοίμωξη από την κοινότητα (Wildi-Runge et al., 2009) και μπορεί εύκολα να προληφθεί με τήρηση των μέτρων υγιεινής (Waisbourd-Zinman et al., 2011).

1.5 ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΟΞΕΙΑΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙΔΑΣ

Η διάγνωση της ΟΓ γίνεται κλινικά και το αίτιο επιβεβαιώνεται με κατάλληλες εργαστηριακές μεθόδους. Σημαντική είναι η ταχεία εκτίμηση και η αξιολόγηση της σοβαρότητας της αφυδάτωσης του ασθενούς με κατάλληλες κλίμακες βαρύτητας. Η εκτίμηση των παιδιών με ΟΓ σύμφωνα με το «ολιστικό σύστημα διαχείρισης των παιδικών ασθενειών» (Integrated Management of Childhood Illness, IMCI), που εφαρμόζεται από τον Π.Ο.Υ. κυρίως στις αναπτυσσόμενες χώρες, όπου υπάρχει υψηλή θνησιμότητα λόγω ΟΓ, περιλαμβάνει τα εξής:

1.5.1 Λήψη ιστορικού

Η λήψη του ιστορικού περιλαμβάνει πληροφορίες σχετικά με τη βαρύτητα και τη διάρκεια των συμπτωμάτων (διάρροια, έμετος, πυρετός), τη σύσταση των κενώσεων, την έκθεση του παιδιού σε περιβάλλον με άτομα με παρόμοια συμπτώματα, την κατανάλωση μολυσμένων τροφών ή νερού, την παρακολούθηση παιδικού σταθμού, τα πρόσφατα ταξίδια σε χώρα, όπου ενδημεί η ΟΓ και τη χρήση αντιμικροβιακών ουσιών.

1.5.2. Εκτίμηση της αφυδάτωσης

Ο καλύτερος τρόπος εκτίμησης της αφυδάτωσης είναι το ποσοστό απώλειας βάρους σώματος του ασθενούς. Οι πληροφορίες από τους γονείς για το ιστορικό των συμπτωμάτων δεν είναι πάντα αξιόπιστο μέτρο εκτίμησης της αφυδάτωσης, ωστόσο η αναφορά φυσιολογικής διούρησης ελαττώνει σημαντικά την πιθανότητα αφυδάτωσης. Τρία κλινικά σημεία για την ταχεία εκτίμηση της αφυδάτωσης είναι: ο παρατεταμένος χρόνος τριχοειδικής επαναπλήρωσης (ΧΤΕ), η μη φυσιολογική σπαργή του δέρματος και η μη φυσιολογική αναπνευστική λειτουργία.

Η ταξινόμηση της αφυδάτωσης σε ήπια, μέτρια και σοβαρή είναι σημαντική για την κατάλληλη αντιμετώπιση της ΟΓ. Υπάρχουν κλίμακες αξιολόγησης που εκτιμούν την αφυδάτωση με βάση την κλινική εξέταση (κλίμακες αφυδάτωσης-dehydration scales) και κλίμακες που εκτιμούν την ΟΓ βασιζόμενες σε μια ομάδα συμπτωμάτων (πχ διάρροια, έμετος, πυρετός) και προτείνουν την ανάγκη για νοσηλεία σε νοσοκομείο ή για επανεκτίμηση (κλίμακες βαρύτητας-severity scores) (Guarino et al., 2014). Οι κλίμακες αυτές περιγράφονται παρακάτω.

A. Κλίμακες αφυδάτωσης (Clinical Dehydration Scales)

Είναι χρήσιμο να υπάρχει ένα κοινό εργαλείο, που να εκτιμά την αφυδάτωση. Η χρήση του Clinical Dehydration Scale (CDS) υποστηρίζεται από κλινικά σημεία και είναι εύκολο να χρησιμοποιηθεί στην εκτίμηση της αφυδάτωσης (Friedman et al., 2004, Goldman et al., 2008). Αυτή η κλίμακα θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με άλλα κριτήρια για να κατευθύνει την αξιολόγηση του ασθενούς και την ανάγκη ιατρικής παρέμβασης (ενδοφλέβια ενυδάτωση, εργαστηριακές εξετάσεις, νοσηλεία, παρακολούθηση σε κλινική ή επείγοντα ιατρεία). Βαθμολογία μηδέν (0) σημαίνει καθόλου αφυδάτωση; 1 έως 4 μερική αφυδάτωση; 5 έως 8 μέτρια προς σοβαρή αφυδάτωση. (Πίνακας 4)

Πίνακας 4. Κλίμακα εκτίμησης αφυδάτωσης (Clinical Dehydration Scale, CDS) για παιδιά.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ	ΒΑΘΜΟΙ		
	0	1	2
Γενική εικόνα	Καλή	Ανησυχία, ευερεθιστότητα, λήθαργος	Υπνηλία, παγωμένο δέρμα με εφίδρωση, κωματώδης κατάσταση
Οφθαλμοί	Φυσιολογικοί	Ελαφρώς βυθισμένοι	Εξαιρετικά βυθισμένοι
Βλεννογόνοι (γλώσσα)	Υγροί	Κολλώδεις	Στεγνοί
Δάκρυα	Φυσιολογικά	Μειωμένα δάκρυα	Απουσία δακρύων

Β. Κλίμακες βαρύτητας οξείας γαστρεντερίτιδας (Severity Scores)

Η κλίμακα βαρύτητας παρέχει πιο σφαιρική εικόνα της γενικής κατάστασης του παιδιού και περιλαμβάνει την αφυδάτωση και άλλες παραμέτρους (Freedman et al., 2010). Η κλασική κλίμακα “Vesikari scale” είναι 20βαθμη κλίμακα με απλή βαθμονόμηση και αποτελείται από 7 μεταβλητές για την αξιολόγηση των ασθενών (Πίνακας 5). Η ΟΓ ταξινομείται σε ήπια, μέτρια και σοβαρή ανάλογα με το αν η τελική βαθμολογία κυμαίνεται μεταξύ 0-8, 9-10, και ≥ 11 αντίστοιχα (Freedman et al., 2010). Πρόσφατα οι Schnadower και συνεργάτες (Schnadower et al., 2013) δημοσίευσαν ότι αυτή η κλίμακα παρουσιάζει στατιστικά σημαντική συσχέτιση με το βαθμό της αφυδάτωσης, την ανάγκη για νοσηλεία σε νοσοκομείο, την ανάγκη για επακόλουθη ημερήσια φροντίδα του ασθενούς και την απουσία των γονέων από την εργασία. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για αξιόπιστο εργαλείο αξιολόγησης της σοβαρότητας της ΟΓ σε παγκόσμιο επίπεδο και υποστήριξαν τη χρήση της.

Πίνακας 5. Τροποποιημένη κλίμακα βαρύτητας “Vesikari scale” για παιδιά.

ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ	ΒΑΘΜΟΙ			
	0	1	2	3
Διάρκεια διάρροιας (σε ώρες)	0	1-96	97-120	≥121
Μέγιστος αριθμός διαρροϊκών κενώσεων ανά 24ωρο	0	1-3	4-5	≥6
Διάρκεια εμέτων (σε ώρες)	0	1-24	25-48	≥49
Μέγιστος αριθμός εμέτων ανά 24ωρο	0	1	2-4	≥5
Μέγιστη μετρημένη θερμοκρασία (°C)	<37.0	37.1-38.4	38.5- 38.9	≥39.0
Αφυδάτωση	Καθόλου	Καθόλου	1-5%	≥6%
Θεραπεία	Καμία	Ενδοφλέβια ενυδάτωση	Ανάγκη για νοσηλεία	

1.5.3. Προσδιορισμός της αιτίας της οξείας γαστρεντερίτιδας

Ο προσδιορισμός της πιθανής αιτιολογίας της ΟΓ είναι χρήσιμο να γίνεται κλινικά, ώστε να χορηγηθεί αντιμικροβιακή θεραπεία, όταν ενδείκνυται. Η ναυτία και ο έμετος είναι μη ειδικά συμπτώματα και υποδηλώνουν λοίμωξη της ανώτερης μοίρας του εντέρου συνήθως ιογενούς αιτιολογίας. Η απουσία πυρετού ή ο χαμηλός πυρετός με ήπιο ή μέτριο περιομφαλικό κοιλιακό άλγος και υδαρή διάρροια υποδεικνύουν προσβολή του λεπτού εντέρου και συνδέονται με μικρότερη πιθανότητα σοβαρής μικροβιακής λοίμωξης. Ο πυρετός παραπέμπει συνήθως σε φλεγμονώδη διεργασία και σε μικροβιακή γαστρεντερίδα. Πυρετός ωστόσο εκδηλώνεται και κατόπιν αφυδάτωσης ή συλλοίμωξης (ουρολοίμωξη, οξεία μέση ωτίτιδα κλπ). Πυρετός με έντονο κοιλιακό άλγος και τεινεσμό υποδηλώνουν προσβολή του παχέος εντέρου και του ορθού πιθανώς από μικροβιακή λοίμωξη.

1.5.4. Εξέταση κοπράνων

Η μικροσκοπική εξέταση κοπράνων και η καλλιέργεια κοπράνων μπορούν να προσφέρουν σημαντικές πληροφορίες για την αιτιολογία της ΟΓ. Τα δείγματα κοπράνων θα πρέπει να εξετάζονται ως προς την παρουσία βλέννης, αίματος και λευκοκυττάρων. Η παρουσία λευκοκυττάρων υποδηλώνει μικροβιακή διείσδυση στο βλεννογόνο του παχέος εντέρου, αν και κάποιοι ασθενείς με σιγκέλλωση έχουν ελάχιστα λευκοκύτταρα στα πρώτα στάδια της λοίμωξης, όπως συμβαίνει και στη λοίμωξη από *E. Coli* ή *E. Histolytica*, που παράγουν τοξίνη shiga. Στις περιοχές, όπου ενδημούν τα παράσιτα, που προκαλούν διάρροια, όπως η *G. Lamblia* και η *E. Histolytica*, κατά τη μικροσκοπική εξέταση θα πρέπει να αναζητούνται και τα παράσιτα αυτά.

Καλλιέργειες κοπράνων θα πρέπει να εκτελούνται όσο το δυνατόν πιο σύντομα από την έναρξη των συμπτωμάτων σε περίπτωση παιδιών με διαρροϊκές κενώσεις και πρόσμιξη αίματος, σε περίπτωση που η μικροσκοπική εξέταση κοπράνων αναδεικνύει λευκοκύτταρα, σε περιπτώσεις έξαρσης από πιθανολογούμενο στέλεχος που προκαλεί αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο (HUS) και σε ανοσοκατασταλμένα παιδιά με διάρροια. Η διάγνωση της μικροβιακής ΟΓ έχει βελτιωθεί με τη χρήση μεθόδων μοριακής διάγνωσης, όπως η αντίδραση αλυσιδωτής πολυμεράσης (PCR). Στα παιδιά, που εμφανίζουν μη επιπλεγμένη υδαρή διάρροια, ενώ προηγουμένως ήταν σε καλή κατάσταση, δε χρειάζεται εργαστηριακή αξιολόγηση παρά μόνο για επιδημιολογικούς σκοπούς.

Οι περισσότεροι από τους ιούς, που προκαλούν ΟΓ δεν αναπτύσσονται σε κυτταροκαλλιέργειες και επομένως η απομόνωσή τους με αυτή τη μέθοδο δεν μπορεί να αποτελέσει μέθοδο αναφοράς. Αντίθετα, η αναγνώρισή τους με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (HM) είναι πολύ εύκολη λόγω της διαφορετικής μορφολογίας τους, αν και η ευαισθησία της μεθόδου είναι πολύ χαμηλή (απαιτούνται τουλάχιστον 10^6 ιικά σωματίδια/ml διαλύματος). Η ανίχνευση των Ρότα ιών με το HM είναι εφικτή, καθώς οι Ρότα ιοί απεκκρίνονται σε υψηλό αριθμό κατά τη χρονική περίοδο της έξαρσης των διαρροϊκών κενώσεων (μέχρι και 10^{11} ιικά σωματίδια/ml κοπράνων). Οι Αστροϊοί

επίσης ανευρίσκονται σε μεγάλες ποσότητες στα κόπρανα και ανιχνεύονται εύκολα με ΗΜ. Οι υπόλοιποι ιοί και ειδικά οι Καλικοϊοί πολλαπλασιάζονται σε μικρές ποσότητες και με το ΗΜ είναι πολύ δύσκολος ο εντοπισμός τους. Τεχνικοί και οικονομικοί περιορισμοί θέτουν το ΗΜ εκτός πεδίου εφαρμογής για την κλινική διάγνωση των ιογενών λοιμώξεων. Οι παθητικές μέθοδοι ανοσοσυγκόλλησης (Passive Particle Agglutination Test ή PPAT) χρησιμοποιούνται επίσης στη διάγνωση των ιογενών λοιμώξεων αλλά έχουν μικρή εφαρμογή λόγω της χαμηλής τους ευαισθησίας.

Οι μοριακές μέθοδοι και ειδικότερα η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης με ή χωρίς αντίστροφη μεταγραφάση (RT-PCR ή PCR αντίστοιχα) παρέχουν εξαιρετικά υψηλή ειδικότητα και ευαισθησία και πολύ χαμηλά όρια ανίχνευσης των ιών (μέχρι 20-100 ιικά σωματίδια ανά αντίδραση). Έτσι η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης σε συνδυασμό με ανοσολογικές τεχνικές, που ανιχνεύουν αντισώματα στον ορό ασθενών και αντιγόνα των ιών στα κόπρανα με ανοσοενζυμικές δοκιμασίες (Enzyme Immunoassays ή EIA), όπως η ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) χρησιμοποιούνται πλέον για την εργαστηριακή διάγνωση και την επιδημιολογική επιτήρηση της ιογενούς ΟΓ (Πίνακας 6).

Πίνακας 6. Διαγνωστικές μέθοδοι για την ανίχνευση ιών, που προκαλούν οξεία γαστρεντερίτιδα. Η κλίμακα από (-) έως (+++) υποδηλώνει τα σχετικά επίπεδα ευαισθησίας και τη σχετική διαγνωστική αξία της μεθόδου.

Ιός	ΗΜ	PPAT	EIA	PCR
Rotavirus	+	+	++	+++ (RT-PCR)
Adenovirus	+	—	++	+++
Norovirus (Calicivirus)	+/-	—	++	+++ (RT-PCR)
Astrovirus	+	—	+	+++ (RT-PCR)

1.6 ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΛΗΨΗ ΟΞΕΙΑΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙΔΑΣ

1.6.1. Ενδείξεις για επίσκεψη στον ιατρό

Η διαλογή των περιστατικών είναι απαραίτητη στη διαχείριση της μη επιπλεγμένης ΟΓ ή στην εκτίμηση της ανάγκης για ιατρική επίσκεψη (Guarino et al., 2014). Οι ερωτήσεις του ιατρού από το τηλέφωνο θα πρέπει να είναι εύκολες, ευκολονόητες και συγκεκριμένες:

- ηλικία παιδιού
- παράγοντες κινδύνου του παιδιού
- πρόσφατο ιατρικό ιστορικό
- διάρκεια της νόσου
- αριθμός επεισοδίων διάρροιας ή εμέτου και υπολογισμός αφυδάτωσης
- ικανότητα του παιδιού να λάβει υγρά από το στόμα
- κατάσταση ενυδάτωσης και διούρηση

Βρέφη και παιδιά πρέπει να παραπέμπονται για ιατρική εξέταση και εκτίμηση στις ακόλουθες περιπτώσεις:

- ηλικία <2 μηνών
- σοβαρή υποκείμενη νόσος (πχ Σακχαρώδης Διαβήτης, Νεφρική ανεπάρκεια)
- επίμονοι έμετοι
- συχνή διάρροια μεγάλου όγκου (>8 επεισόδια/μέρα)
- αναφερόμενα σημεία βαριάς αφυδάτωσης

1.6.2. Ενδείξεις για εισαγωγή σε νοσοκομείο

Οι συστάσεις για εισαγωγή σε νοσοκομείο βασίζονται σε ομοφωνίες και περιλαμβάνουν τις εξής καταστάσεις:

- Σοβαρή αφυδάτωση (>9% του σωματικού βάρους)
- Συμμετοχή από το ΚΝΣ (λήθαργος, σπασμοί κλπ)
- Ανθεκτικοί ή χολώδεις έμετοι
- Αποτυχία της ενυδάτωσης από το στόμα
- Υποψία νόσου, που χρειάζεται χειρουργική αντιμετώπιση

- Καταπληξία
- Καταστάσεις, στις οποίες δεν υπάρχει ασφαλής παρακολούθηση και αντιμετώπιση του περιστατικού στο σπίτι

1.6.3. Αντιμετώπιση παιδιών με οξεία γαστρεντερίτιδα

Η American Academy of Pediatrics (AAP), η European Society of Pediatric Gastroenterology and Nutrition (ESPGAN) και ο Π.Ο.Υ. συστήνουν σε παιδιά με ήπια προς μέτρια ΟΓ να χορηγείται διάλυμα «oral rehydration solution» (ORS) ως θεραπεία εκλογής τόσο σε αναπτυγμένες όσο και σε αναπτυσσόμενες χώρες (King et al., 2003, Steiner et al., 2004, Sandhu, 2001).

Μετα-ανάλυση 16 μελετών έδειξε ότι 1545 παιδιά με ήπια προς μέτρια αφυδάτωση, που έλαβαν ORS, είχαν σημαντικά βραχύτερη νοσηλεία και λιγότερες επιπλοκές, όπως σπασμούς και θάνατο συγκριτικά με παιδιά που έλαβαν ενδοφλέβια ενυδάτωση (Fonseca et al., 2004). Το ποσοστό αποτυχίας του ORS (ποσοστό παιδιών που χρειάζονται τελικά ενδοφλέβια ενυδάτωση) σύμφωνα με μελέτες, που συγκρίνουν το ORS με την ενδοφλέβια ενυδάτωση είναι περίπου 4% (Bellemare et al., 2004). Άλλη μετα-ανάλυση έδειξε ότι διαλύματα χαμηλής ωσμωτικότητας (reduced-osmolality ORS) με osmolality <250 mmol/L έχουν λιγότερες αποτυχίες στη θεραπεία και σχετίζονται με λιγότερες διαρροϊκές κενώσεις και εμέτους συγκρινόμενα με τα συνηθισμένα διαλύματα ORS (standard-osmolality ORS) (Hahn et al., 2002).

Στις ΗΠΑ υπάρχουν έτοιμα σκευάσματα ORS χαμηλής ωσμωτικότητας, που είναι διαθέσιμα ως Pedialyte, Infalyte και Naturalyte και στην Ευρώπη ως Dioralyte και Diocalm Junior. Στις αναπτυσσόμενες χώρες οι κλινικοί ιατροί συνήθως χρησιμοποιούν το διάλυμα ORS του WHO συσκευασμένο σε φακελίσκους (sachet) ή το διάλυμα, που παρασκευάζεται ως εξής: ανάμιξη 3 g (1 κουταλιά) αλάτι και 18 g (6 κουταλιές) ζάχαρη σε 1 liter καθαρού νερού. Νέες έρευνες προτείνουν τη χρήση του διαλύματος ORS βασισμένο σε πολυμερή (polymer-based ORS), που φτιάχνεται από σύμπλεγμα υδατανθράκων όπως ρύζι, σιτάρι ή αραβόσιτο και μπορεί να μειώσει τον αριθμό και τη διάρκεια των διαρροϊκών κενώσεων συγκριτικά με τα διαλύματα ORS,

που βασίζονται στη γλυκόζη (Alam et al., 2009, Gregorio et al., 2009). Με αυτά τα διαλύματα οι υδατάνθρακες πέπτονται αργά στο λεπτό έντερο, απελευθερώνοντας γλυκόζη, που διευκολύνει την πρόσληψη νατρίου από το έντερο χωρίς να επιβαρύνεται με σημαντικό ωσμωτικό φορτίο στο περιεχόμενό του.

Στο τμήμα επειγόντων περιστατικών η αρχική αντιμετώπιση ασθενών με ΟΓ περιλαμβάνει διόρθωση της αφυδάτωσης. Παιδιά, που έχουν υγρούς βλεννογόνους στοματικής κοιλότητας, βρεγμένες πάνες ή καλή αναφερόμενη διούρηση και δάκρυα τότε δεν είναι αφυδατωμένα και δε χρειάζονται ORS. Σε αυτήν την περίπτωση το ORS θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί μόνο για αναπλήρωση συνεχιζόμενων απωλειών λόγω διαρροϊκών κενώσεων.

Σε περίπτωση αφυδάτωσης η ποσότητα και το είδος των υγρών, που θα χορηγηθούν εξαρτάται από το βαθμό αφυδάτωσης του παιδιού:

Ήπια ή καθόλου αφυδάτωση: δε χρειάζεται καμία θεραπεία και γενικά αυτά τα παιδιά επιστρέφουν σε φυσιολογική σίτιση όσο το δυνατόν γρηγορότερα. Η έγκαιρη επανασίτιση φαίνεται ότι μειώνει τη διάρκεια της νόσου και βελτιώνει τη σιτιστική κατάσταση του παιδιού. Αν το παιδί θηλάζει, η μητέρα θα πρέπει να ενθαρρύνεται να συνεχίσει το θηλασμό συχνότερα από το συνηθισμένο ωράριο και για μεγαλύτερη διάρκεια σε κάθε γεύμα. Αν το παιδί δε θηλάζει αποκλειστικά, πλήρης επανασίτιση θα πρέπει να ξεκινήσει μόλις τελειώσει η φάση της επανυδάτωσης, ιδανικά σε 2-4 ώρες. Υγρά από το στόμα όπως νερό, σούπα, ρυζόνερο και διαλύματα ενυδάτωσης θα πρέπει να χορηγηθούν σε ποσότητα περίπου 500 mL/μέρα για παιδιά μικρότερα των 2 ετών, 1000 mL/μέρα για παιδιά 2-10 ετών και 2000 mL/μέρα για παιδιά μεγαλύτερα των 10 ετών. Οι απώλειες υγρών θα πρέπει να αντικαθίστανται επιπλέον με ORS με 10 mL/kg βάρους σώματος για κάθε διαρροϊκή κένωση και 2 mL/kg βάρους σώματος για κάθε επεισόδιο εμέτου (τόσο για θηλάζοντα όσο και για μη θηλάζοντα βρέφη). Τα λιπαρά φαγητά και σκευάσματα πλούσια σε ζάχαρη θα πρέπει να αποφεύγονται. Για τα περισσότερα βρέφη δεν υπάρχουν κλινικές μελέτες, που να έχουν δείξει όφελος ως προς την εξέλιξη της ΟΓ από τη χρήση γάλακτος χωρίς λακτόζη ή από περιοριστικές δίαιτες τύπου BRAT (μπανάνα, ρύζι, μήλο και τοστ).

Ήπια προς μέτρια αφυδάτωση: θα πρέπει να αντιμετωπίζεται με 50-100 mL/kg ORS σε διάστημα 2-4 ωρών για να αντικαταστήσουν το υπολογιζόμενο έλλειμμα υγρών και επιπλέον ORS για τις συνεχιζόμενες απώλειες (10 mL/kg βάρους σώματος για κάθε διαρροϊκή κένωση και 2 mL/kg βάρους σώματος για κάθε επεισόδιο εμέτου). Μετά την αρχική φάση ενυδάτωσης του ασθενούς συνεχίζεται συντήρηση υγρών, όπως αναφέρεται παραπάνω. Το ORS πρέπει να χορηγείται αργά από τον γονέα με κουτάλι ή σύριγγα με ρυθμό 5 mL κάθε 1-2 λεπτά. Αν είναι ανεκτό από τον ασθενή, η συχνότητα της χορήγησης του ORS μπορεί να μειωθεί αργά με την πάροδο του χρόνου. Οι ασθενείς που δεν ανέχονται το ORS από το στόμα, εναλλακτικά η ενυδάτωση θα πρέπει να γίνεται με ρινογαστρικό σωλήνα. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η ενυδάτωση με ρινογαστρικό σωλήνα είναι το ίδιο αποτελεσματική με την ενδοφλέβια ενυδάτωση, πιο οικονομική και με λιγότερες επιπλοκές (Fonseca et al., 2004, Nager and Wang, 2002). Οι ασθενείς θα πρέπει να επανεκτιμώνται τακτικά από τον κλινικό ιατρό για να επιβεβαιώσουν την επάρκεια της από του στόματος ενυδάτωσης.

Σοβαρή αφυδάτωση: αποτελεί επείγουσα κατάσταση, που χρειάζεται άμεση αντιμετώπιση με ενδοφλέβια υγρά. Στις περιπτώσεις αυτές χορηγείται εφάπαξ 20-30 mL/kg Lactated Ringer (LR) ή Normal Saline (NS) σε 60 λεπτά. Αν ο ΧΤΕ, ο σφυγμός και/ή γενική κατάσταση του ασθενούς δε βελτιωθούν, μία δεύτερη εφάπαξ δόση θα πρέπει να χορηγηθεί. Μετά από αυτό ο ασθενής θα πρέπει να λάβει έγχυση 70 mL/kg LR ή NS σε 5 ώρες (παιδιά < 12 μηνών) ή 2.5 ώρες (μεγαλύτερα παιδιά). Αν δεν είναι προσιτές περιφερικές φλέβες, η ενδοοστική έγχυση θα πρέπει να προτιμάται. Εργαστηριακές εξετάσεις, που περιλαμβάνουν ηλεκτρολύτες ορού, διττανθρακικά, ουρία, κρεατινίνη και γλυκόζη, θα πρέπει να γίνονται. Από τη στιγμή που ολοκληρωθεί η ανάνηψη και η διανοητική κατάσταση του ασθενούς επανέλθει στα φυσιολογικά, η ενυδάτωση θα πρέπει να συνεχίζεται με το διάλυμα ORS, όπως περιγράφεται παραπάνω, καθώς έχει αποδειχτεί ότι μειώνει τον κίνδυνο υπονατριάμιας και υπερνατριάμιας, όταν συγκρίνεται με την ενδοφλέβια ενυδάτωση.

1.6.4. Φαρμακευτική θεραπεία

Αντιεμετικά: Το Ondansetron χορηγείται από του στόματος ή ενδοφλέβια και μπορεί να είναι αποτελεσματικό σε μικρά παιδιά με εμέτους λόγω ΟΓ. Περισσότερες μελέτες ωστόσο χρειάζονται σχετικά με την ασφάλεια του φαρμάκου στα παιδιά. Δεν υπάρχει ένδειξη για χρήση άλλων αντιεμετικών στα παιδιά.

Αντιπερισταλτικά : Η Loperamide δε συστήνεται για την αντιμετώπιση ΟΓ στα παιδιά.

Προσροφητικά: Η Diosmectite (φυσικό πυριτικό αργίλιο και μαγνήσιο) χρησιμοποιείται στην αντιμετώπιση ΟΓ στα παιδιά.

Αντιεκκριτικά: Το Racecadotril χρησιμοποιείται στην αντιμετώπιση ΟΓ στα παιδιά. Το Bismuth subsalicylate δε συστήνεται για την αντιμετώπιση ΟΓ στα παιδιά. Παιδιά >6 μηνών στις αναπτυσσόμενες χώρες μπορεί να επωφεληθούν από τη χρήση του ψευδαργύρου στην αντιμετώπιση της ΟΓ.

Προβιοτικά: Η θεραπεία με προβιοτικά συμπληρωματικά του ORS, είναι αποτελεσματική στη μείωση της διάρκειας και της έντασης των συμπτωμάτων της ΟΓ. Η χρήση συγκεκριμένων προβιοτικών (*Lactobacillus rhamnosus* και *Saccharomyces boulardii*) έχει αποδειχθεί ότι βοηθούν συμπληρωματικά στην αντιμετώπιση της ΟΓ εκτός από την ενυδάτωση.

Αντιμικροβιακά: Η αντιμικροβιακή θεραπεία δεν είναι απαραίτητη στην πλειονότητα των παιδιών με ΟΓ. Η ΟΓ σε ένα παιδί χωρίς υποκείμενη νόσο είναι συνήθως αυτοπεριοριζόμενη ανεξάρτητα από τον αιτιολογικό παράγοντα, που σπάνια είναι γνωστός στην έναρξη της νόσου. Ακόμα και χωρίς αντιμικροβιακή θεραπεία, γενικά συμβαίνει βελτίωση μέσα σε λίγες ημέρες, ο παθογόνος μικροοργανισμός αυτοπεριορίζεται και οι επιπλοκές είναι σπάνιες. Ακόμη και στην οξεία μικροβιακή γαστρεντερίτιδα δε χρειάζεται αντιμικροβιακή θεραπεία να δίδεται ως ρουτίνα, παρά μόνο σε ορισμένες περιπτώσεις ασθενών, που πάσχουν από συγκεκριμένα παθογόνα και σε συγκεκριμένες κλινικές καταστάσεις. Ενδείξεις για χορήγηση αντιμικροβιακών ανάλογα με τον αιτιολογικό παράγοντα φαίνονται στον Πίνακα Α (ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ).

1.6.5. Πρόληψη

Η πρόληψη παραμένει το πιο σημαντικό μέτρο στη διαχείριση της ΟΓ. Σημαντικά μέτρα για την πρόληψη της διασποράς των εντερικών παθογόνων στην κοινότητα περιλαμβάνουν κατάλληλα μέτρα υγιεινής στην προετοιμασία και παρασκευή των φαγητών, τήρηση μέτρων υγιεινής στην ύδρευση του νερού, παστερίωση του γάλακτος, πλύσιμο των χεριών, τήρηση κανόνων υγιεινής στην απομάκρυνση των λυμάτων, αποκλεισμό των μολυσμένων ατόμων από τη διαχείριση τροφίμων, την παροχή υγειονομικής περίθαλψης και τη χρήση δημόσιων αρδευτικών εγκαταστάσεων (πχ. πισίνες, λίμνες κλπ).

Τρόφιμα όπως αυγά ή άλλα ζωικής προέλευσης πρέπει να μαγειρεύονται προσεκτικά και να μην καταναλώνονται ωμά. Πλύσιμο των χεριών μετά από επεξεργασία ωμών πουλερικών, χρήση σανίδας κοπής και σκευών στην κουζίνα, που πλένονται εύκολα με σαπούνι και νερό μετά από επαφή με ωμά πουλερικά, αποφυγή επαφής φρούτων και λαχανικών με υγρά από ωμά πουλερικά και καλό ψήσιμό τους είναι σημαντικά. Καλό πλύσιμο χεριών μετά από επαφή με απεκκρίσεις γάτας ή σκύλου ειδικότερα διαρροϊκά κόπρανα μικρών οικιακών ζώων είναι σημαντικό. Τέλος η πιο σημαντική διαδικασία για τη μείωση της κοπρανοστοματικής μετάδοσης παθογόνων στους παιδικούς σταθμούς είναι το συχνό πλύσιμο των χεριών σε συνδυασμό με εκπαίδευση του προσωπικού στη σωστή τήρηση κανόνων υγιεινής.

Η American Academy of Pediatrics (AAP) συνιστά τα ακόλουθα μέτρα πρόληψης κατά την αντιμετώπιση των παιδιών με ΟΓ στο νοσοκομείο:

- Η νοσηλεία του ασθενούς, αν είναι δυνατόν, να γίνεται σε απομόνωση (ξεχωριστό δωμάτιο), κυρίως αν πρόκειται για μικρότερα παιδιά, που δεν έχουν έλεγχο των σφιγκτήρων.
- Το ιατρονοσηλευτικό προσωπικό πρέπει να τηρεί τα μέτρα πρόληψης επαφής με τον ασθενή (χρήση γαντιών και προστατευτικού ρουχισμού μιας χρήσεως).
- Καλό πλύσιμο των χεριών μετά την απομάκρυνση των γαντιών και χρήση αντισηπτικού (αλκοόλ 75%).

2. ΡΟΤΑ ΙΟΣ

2.1 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Η ΟΓ ήταν ανέκαθεν συχνή νόσος και αιτία θανάτου στα παιδιά. Σύμφωνα με αναφορές του 18^{ου} αιώνα το 80% των βρεφών, που νοσηλεύονταν σε βρεφοκομεία της Ιρλανδίας, πέθαιναν από «βρεφική χολέρα» κατά τη διάρκεια των δύο πρώτων ετών της ζωής τους. Στην Αμερική στις αρχές του 20ού αιώνα 100-200 βρέφη ανά 1000 γεννήσεις πέθαιναν εξαιτίας διαρροϊκής νόσου και ιδιαίτερα κατά τους καλοκαιρινούς μήνες και γι αυτό την ονόμαζαν «καλοκαιρινή διάρροια». Στο Λονδίνο την περίοδο Μάρτιος 1942 - Απρίλιος 1943 πέθαναν περίπου 109 από 216 παιδιά που νοσηλεύτηκαν με σοβαρή διάρροια χωρίς να προσδιοριστεί το εντερικό παθογόνο (Gairdner, 1945). Μετά το 1940 η θνησιμότητα από γαστρεντερίτιδα μειώθηκε στις 1,64/1000 γεννήσεις εξαιτίας πολλών παραγόντων, όπως βελτίωση των συνθηκών υγιεινής στα σπίτια, καλύτερο βιοτικό και μορφωτικό επίπεδο των γονιών, καλύτερη διαχείριση των απορριμμάτων, χρήση ψυγείων για τη συντήρηση των τροφίμων στα σπίτια, βελτίωση των συνθηκών νοσηλείας και αντιμετώπισης των ασθενών στα νοσοκομεία.

Στις αρχές του 20ού αιώνα η ΟΓ αποδιδόταν αιτιολογικά μόνο σε μικρόβια, αφού οι διαθέσιμες τεχνικές δεν ήταν κατάλληλες για αναγνώριση μη μικροβιακών παθογόνων. Το 1929 ο Zahorsky περιέγραψε τη «χειμερινή νόσο εμέτων», που προσέβαλε κυρίως βρέφη και μικρά παιδιά και υπέθεσε ότι κάποια ιογενής αιτία προκαλούσε τη νόσο αυτή (Zahorsky, 1929). Το 1943 οι Light και Hodes προκάλεσαν πειραματικά γαστρεντερίτιδα σε αγελάδες χρησιμοποιώντας διήθημα κοπράνων από βρέφη με διάρροια, αλλά δεν μπόρεσαν να απομονώσουν σε κυτταροκαλλιέργειες το αίτιο της διάρροιας (Light and Hodes, 1943). Το 1965 ο Ferris δημοσίευσε αναδρομική μελέτη, που έγινε σε ασθενείς με ΟΓ στο Fairfield Hospital της Μελβούρνης (Ferris, 1965) και τα δεδομένα, που αναλύθηκαν αφορούσαν στην ηλικία, το μήνα νοσηλείας και την αιτία της γαστρεντερίτιδας. Τα περιστατικά, που σημειώθηκαν το καλοκαίρι αποδόθηκαν σε *Salmonella sp.* ή *Shigella sp.*, ωστόσο τα περισσότερα περιστατικά σημειώθηκαν το χειμώνα. Έτσι ήταν σαφές ότι υπήρχε κάποιο αίτιο, που προκαλούσε

χειμερινές επιδημίες διάρροιας κυρίως σε παιδιά κάτω των 5 ετών, στα οποία κανένα από τα ήδη γνωστά αίτια γαστρεντερίτιδας δε μπορούσε να αποδοθεί. Η αποτυχία να αναγνωριστεί παθογόνο σημειώθηκε στο 81% των παιδιών ηλικίας <5 μηνών, 78% των παιδιών ηλικίας <2 ετών και 76% των παιδιών ηλικίας <5 ετών, που εισήχθησαν στο Fairfield Hospital από το 1962-1964. Παρόμοια περιστατικά με γαστρεντερίτιδα από άγνωστα αίτια είχαν επίσης σημειωθεί στο Σύδνεϋ της Αυστραλίας και στο Τορόντο του Καναδά.

Το 1970 ο Townley διορίστηκε Διευθυντής στο γαστρεντερολογικό τμήμα του Royal Children's Hospital (RCH) στη Μελβούρνη και ήταν υπεύθυνος για τη νοσηλεία παιδιών με ΟΓ. Την περίοδο εκείνη είχε βελτιωθεί η τεχνική και η ασφάλεια των βιοψιών εντέρου στα παιδιά για τη διάγνωση της κοιλιοκάκης και άλλων νοσημάτων δυσασπορρόφησης του εντέρου. Το 1972 ο Townley ξεκίνησε μια μελέτη στο RCH με σκοπό να προσδιοριστούν οι ιστολογικές αλλοιώσεις του εντέρου σε παιδιά με γαστρεντερίτιδα και να εκτιμηθεί το επίπεδο των δισακχαριτιδικών ενζύμων του δωδεκαδακτύλου σε αυτά. Για να αναλυθεί η μικροβιακή χλωρίδα χρησιμοποιήθηκαν δείγματα βιοψίας του ανώτερου τμήματος του λεπτού εντέρου. Τα αποτελέσματα της βιοψίας έδειξαν σοβαρή φλεγμονή στο ανώτερο τμήμα του λεπτού εντέρου και ατροφία των εντερικών λαχνών ισοδύναμη της κοιλιοκάκης σε περίπου 1/3 των ασθενών (Townley and Barnes, 1973, Davidson and Barnes, 1979). Το στομάχι και το ορθό είχαν μικρότερες βλάβες. Καλλιέργειες για αερόβια και αναερόβια δεν έδειξαν γνωστά μικρόβια ή ιούς ως αίτια-παθογόνα αυτών των βλαβών (Barnes et al., 1974).

Το Μάιο του 1973 μία μεγαλύτερη ερευνητική ομάδα με επικεφαλής τη βιολόγο Ruth Bishop εξέτασε σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ιστοτεμάχια δωδεκαδακτύλου από παιδιά με γαστρεντερίτιδα και ανακάλυψε άφθονα ιϊκά σωματίδια στα επιθηλιακά κύτταρα, που βρίσκονταν στην ανώτερη επιφάνεια των λαχνών (Bishop et al., 1973). Ο ιός, που αναγνωρίστηκε, έμοιαζε με ρεο-ιό ή σφαιρο-ιό και είχε πολύ μεγάλη ομοιότητα με ήδη γνωστούς ιούς, που προκαλούν γαστρεντερίτιδα σε νεογνικά ποντίκια (Adams and Kraft, 1963) και βοοειδή (Mebus et al., 1969). Ο ιός απεκκρινόταν σε ποσότητα $>10^{10}$ ιϊκά σωματίδια ανά ml κοπράνων και η διάμετρός του προσδιορίστηκε με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο αρνητικής φάσης

σε 70 nm (Bishop et al., 1974). Την ίδια περίοδο ο Karikian et al. ανακοίνωσε την ανακάλυψη ενός μικρού σωματιδίου (27 nm) σε δείγμα κοπράνων από ενήλικες, που είχαν μολυνθεί εθελοντικά με οξεία μη μικροβιακή γαστρεντερίτιδα (Karikian et al., 1972), ο οποίος τελικά ονομάστηκε Καλικοϊός (calicovirus) ή Norwalk virus και ήταν ξεκάθαρα διαφορετικός από τον ιό που είχε ανακαλύψει η Bishop στα παιδιά.

Αρχικά υπήρξαν διάφορες εκδοχές για την ονομασία του νέου ιού, που απεκκρινόταν από παιδιά με ΟΓ όπως reovirus, orbivirus, duovirus, infantile gastrenteritis virus και new virus. Η ομοιότητά του με τροχό στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ήταν το κίνητρο να ονομασθεί Ρότα ιός (*Rotavirus*) και να καταταχθεί στην οικογένεια των *Reoviridae*. Οι ανθρώπινοι Ρότα ιοί γρήγορα συσχετίστηκαν με προηγούμενες αναφορές στη βιβλιογραφία, που περιέγραφαν διάρροια σε νεογνήματα ποντίκια (EDIM virus) (Adams and Kraft, 1963), νεογνήματα μοσχάρια (NCDV) (Mebus et al., 1969) και με ιούς, που απομονώθηκαν από ορθικό δείγμα υγιών πιθήκων (SA11) (Malherbe and Strickland-Cholmley, 1967). Έτσι αποδείχθηκε ότο ο Ρότα ιός αποτελεί αιτία διάρροιας στα μωρά πολλών θηλαστικών ζώων και πτηνών.

Η σημασία του Ρότα ιού σαν αίτιο σοβαρής ΟΓ εξακριβώθηκε μετά από ένα χρόνο έρευνας στα παιδιά ηλικίας <5 ετών, που προσκομίστηκαν στο νοσοκομείο RCH της Μελβούρνης. Οι Ρότα ιοί εντοπίστηκαν σε δείγματα κοπράνων στο 52% των παιδιών με ΟΓ κατά τη διάρκεια 1974-75 και ήταν το αίτιο για το 73% των εισαγωγών στο νοσοκομείο κατά τη διάρκεια του χειμώνα αυτής της περιόδου (Davidson et al., 1975). Ένα από τα σημαντικά επιτεύγματα αυτής της μελέτης εκτός από την αναφορά στο Ρότα ιό ήταν η καινοτομία να σταματήσει η χρήση των αντιβιοτικών για τη θεραπεία της γαστρεντερίτιδας. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής γρήγορα επιβεβαιώθηκαν και από άλλες μελέτες σε Ηνωμένο Βασίλειο, Καναδά και ΗΠΑ. Την ίδια περίοδο και άλλες πιο περιορισμένες έρευνες στη Σιγκαπούρη, Νέα Γουινέα, Ινδία, Ινδονησία και Ιαπωνία έδειξαν ότι οι Ρότα ιοί ήταν αίτιο διάρροιας σε μικρά παιδιά και σοβαρότερη λοίμωξη είχαν τα βρέφη <12 μηνών (Soenarto et al., 1981).

2.2 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΡΟΤΑ ΙΟΥ

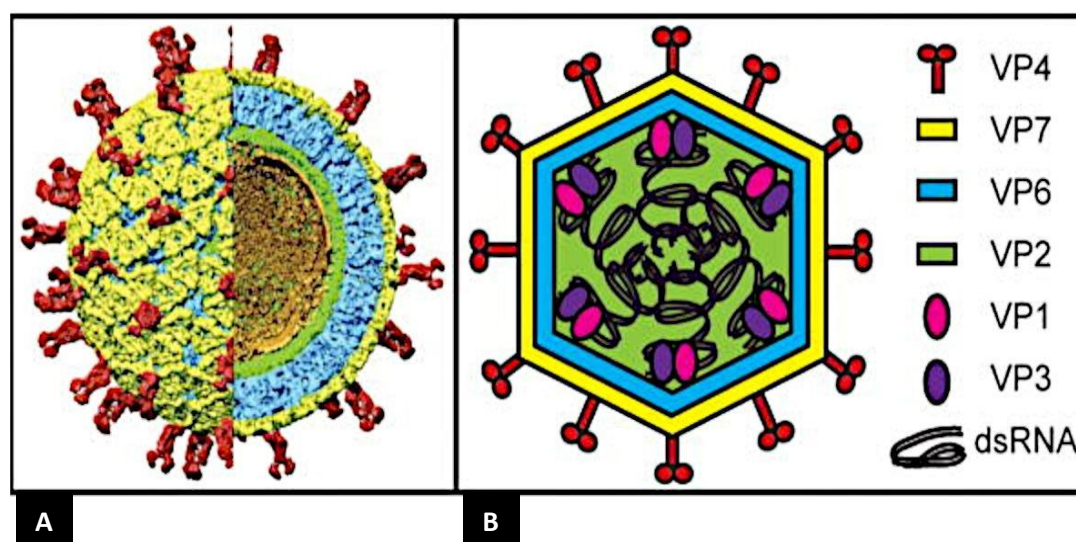
Ο Ρότα ιός είναι ένας RNA ιός και έχει διάμετρο 76,5 nm (Εικόνα 1). Το γονιδιώμα του αποτελείται από 11 δίκλιωνα μόρια RNA (dsRNA) συνολικού μεγέθους 18.555 νουκλεοτιδίων και περιβάλλεται από πρωτεϊνικό καψίδιο τριτοταγούς εικοσαεδρικής δομής. Κάθε διπλή έλικα ή τμήμα dsRNA είναι αριθμημένο από το 1 έως το 11 και φέρει ένα γονίδιο. Κάθε γονίδιο κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη, εκτός από το γονίδιο 11, που κωδικοποιεί δύο πρωτεΐνες (McClain et al., 2010). Έξι από τα τμήματα dsRNA κωδικοποιούν δομικές ιϊκές πρωτεΐνες (Viral Proteins, VP), που ενσωματώνονται μαζί με το γενετικό υλικό στο μολυσματικό μόριο του ιού (virion) και ονομάζονται VP1, VP2, VP3, VP4, VP6 και VP7. Τα υπόλοιπα πέντε τμήματα dsRNA κωδικοποιούν μη δομικές πρωτεΐνες (Non Structural Proteins, NSP) που έχουν λειτουργικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό του ιού και ονομάζονται NSP1, NSP2, NSP3, NSP4, NSP5 και NSP6. Το τμήμα dsRNA 11 κωδικοποιεί μαζί τις NSP5 και NSP6. Το μολυσματικό μόριο του Ρότα ιού (virion) αποτελείται από 3 ομόκεντρα στρώματα, που περιγράφονται παρακάτω και απεικονίζονται στην Εικόνα 1.

Το εξωτερικό καψίδιο, αποτελείται από δύο δομικές πρωτεΐνες (VP7 και VP4), που παράγουν εξουδετερωτικά αντισώματα (Malik et al., 2008, Aoki et al., 2009, Dormitzer et al., 2002). Το μεγαλύτερο μέρος του εξωτερικού καψιδίου σχηματίζεται από την VP7 πρωτεΐνη, που σχηματίζει το κέλυφος γύρω από τον ιό. Η VP4 πρωτεΐνη σχηματίζει προεξοχές (spikes), που προβάλλουν εκτός του καψιδίου. Στο έντερο η παρουσία πρωτεάσης τύπου θρυψίνης προκαλεί διάσπαση της VP4 πρωτεΐνης σε δύο πολυπεπτίδια VP8* και VP5* (Ruggeri and Greenberg, 1991, Arias et al., 1996). Η VP8* είναι η κορυφή της πρωτεΐνης VP4, ενώ η VP5* είναι η βάση της πρωτεΐνης VP4 (Settembre et al., 2011). (Dormitzer et al., 2002, Larralde et al., 1991, Kovacs-Nolan et al., 2003, Padilla-Noriega et al., 1992).

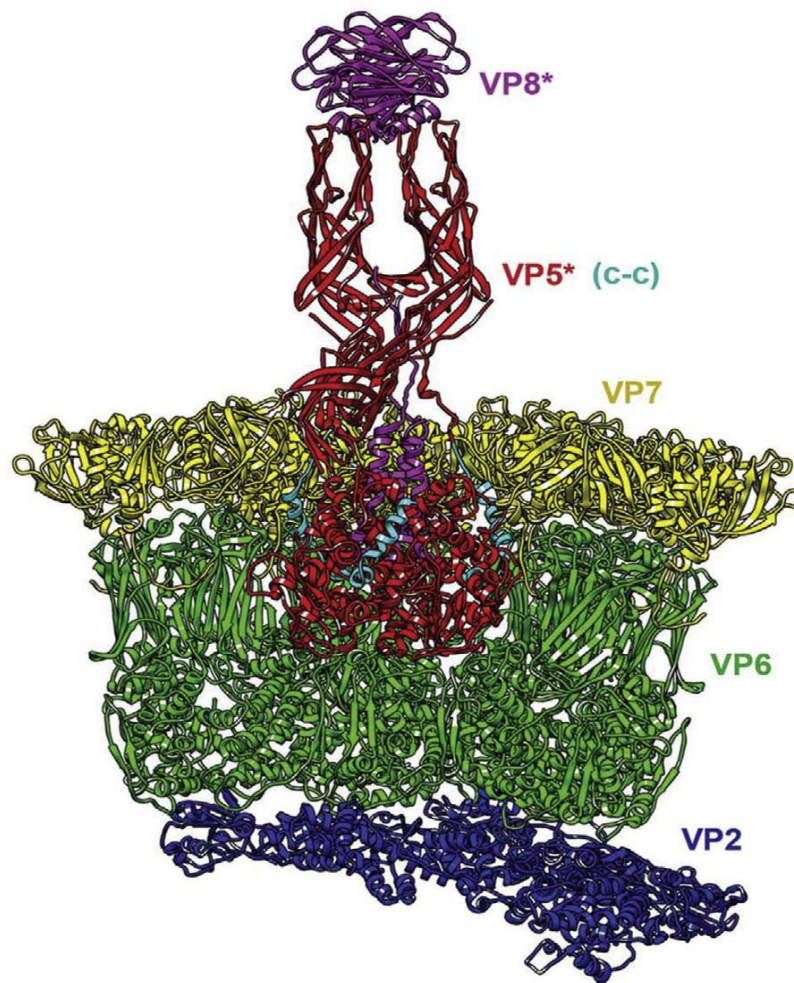
Το μεσαίο στρώμα του ιού αποτελείται από την πρωτεΐνη VP6, που είναι δομημένη σε εικοσαεδρικό συμμετρικό σχήμα. Η VP6 είναι η πιο σταθερή, άφθονη και ανοσογονική πρωτεΐνη του ιού. Η VP6 πρωτεΐνη προκαλεί διασταυρούμενη ετεροτυπική ανοσία και επάγει την παραγωγή T κυτταρικής (CD4+) απάντησης και IgA

αντισωμάτων (Esquivel et al., 2000, Estes et al., 1987, Franco et al., 2006, Tang et al., 1997).

Ο πυρήνας του ιού αποτελείται από τρεις δομικές πρωτεΐνες (VP1, VP1 και VP3) και από το dsRNA (Liu et al., 1992, Lu et al., 2008). Το εσωτερικό μέρος του πυρήνα καλύπτεται από τη VP2 πρωτεΐνη, στην οποία είναι προσδεμένες οι VP1 και VP3 πρωτεΐνες σχηματίζοντας ένα διμερές μόριο. Εκεί πραγματοποιείται ο πολλαπλασιασμός του Ρότα ιού (McClain et al., 2010), καθώς η VP1 πρωτεΐνη λειτουργεί και ως RNA πολυμεράση (viral polymerase) και η VP3 ως ένζυμο καλύπτρας (viral capping enzyme).



Εικόνα 1. Α. Ρότα ιός: κρυο-ηλεκτρονική μικρογραφία-εικόνα κατασκευής ενός ώριμου τριπλού στρώματος σωματιδίου Ρότα ιού (Triple-Layered Particle, TLP) σε 9.5Å ανάλυση. Η λεία εξωτερική επιφάνεια είναι φτιαγμένη από την VP7 γλυκοπρωτεΐνη (κίτρινο) και σ' αυτήν είναι ενσωματωμένες προεξοχές VP4 πρωτεΐνης (κόκκινο). Το ενδιάμεσο στρώμα VP6 φαίνεται με μπλε και το λεπτό στρώμα που φαίνεται με πράσινο είναι το περίβλημα του πυρήνα από την πρωτεΐνη VP2. Τμήματα του ιϊκού dsRNA, που βρίσκονται εντός του VP2 κελύφους φαίνονται με χρυσό. Τα συστατικά του συμπλέγματος πολυμεράσης (Polymerase Complex (PC) components), δηλαδή η VP1 (viral polymerase) και VP3 (viral capping enzyme) δε φαίνονται σε αυτή τη δομή, αλλά βρίσκονται κολλημένες στην εσωτερική επιφάνεια της VP2. **Β.** Σχηματική απεικόνιση του TLP σωματιδίου του Ρότα ιού. Απεικονίζονται οι δομικές πρωτεΐνες και το dsRNA του ιού σύμφωνα με τα χρώματα, που φαίνονται στο υπόμνημα. (Elsevier, Trends in Microbiology)(McClain et al., 2010)



Εικόνα 2. Τρισδιάστατη απεικόνιση των δομικών πρωτεϊνών του Ρότα ιού. Με κόκκινο και μωβ απεικονίζονται τα δύο μέρη VP5* και VP8* της πρωτεΐνης VP4, που προεξέχουν και αλληλεπιδρούν με το τριπλό σωματίδιο του ιού (triple-layered particle, TLP). Το τμήμα της VP5* πρωτεΐνης που διαπερνά το εξωτερικό στρώμα (κίτρινο χρώμα) και το μεσαίο στρώμα (πράσινο χρώμα) του ιού δημιουργεί στη βάση του ένα σφαιρικό σχηματισμό που περιβάλλεται από 6 πρωτεΐνες VP6. Το εσωτερικό στρώμα του ιού (μπλε χρώμα) περιβάλλει το δίκλωνο RNA (δεν απεικονίζεται στο σχήμα). Settembre et al. (2011).

2.3 ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΡΟΤΑ ΙΟΥ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥΣ

Οι ιοί αλληλεπιδρούν με τον ξενιστή σε όλα τα στάδια του πολλαπλασιασμού τους, από την είσοδό τους στο κύτταρο έως και την έξοδό τους (Randall and Goodbourn, 2008). Η αλληλεπίδραση αυτή είναι σημαντική τόσο για τον πολλαπλασιασμό του ιού όσο και για την αναγνώριση του μολυσματικού παράγοντα από τον ξενιστή. Οι πρωτεΐνες του Ρότα ιού συμμετέχουν στην αλληλεπίδραση του ιού με τον ξενιστή με διαφορετικό τρόπο η κάθε μία.

2.3.1. Δομικές Πρωτεΐνες

Η **VP1** λειτουργεί ως RNA πολυμεράση και είναι υπεύθυνη για τη σύνθεση του ιϊκού mRNA και dsRNA. Στο μολυσμένο κύτταρο το ένζυμο αυτό παράγει mRNA αντίγραφα για τη σύνθεση των ιϊκών πρωτεϊνών και αντίγραφα του γονιδιώματος του ιού για να παραχθούν νέα σωματίδια του ιού.

Η **VP2** αποτελεί το στρώμα του πυρήνα του ιού. Εκεί τα δίκλινα μόρια RNA (dsRNA) του ιού είναι προσεκτικά συσκευασμένα και πολλαπλασιάζονται με τη βοήθεια της VP1 πρωτεΐνης.

Η **VP3** λειτουργεί ως ένζυμο, που ονομάζεται γουανυλική τρανσφεράση και αποτελεί συστατικό του εσωτερικού του πυρήνα του ιού. Η γουανυλική τρανσφεράση είναι ένα ένζυμο, που καταλύει το σχηματισμό της 5'καλύπτρας στην μετα-μεταγραφική επεξεργασία του mRNA (m-RNA capping). Η καλύπτρα σταθεροποιεί το ιϊκό mRNA προστατεύοντάς το από ένζυμα, που το διασπούν και λέγονται νουκλεάσες (Trask et al., 2012).

Η **VP4** βρίσκεται στην επιφάνεια του ιού, προεξέχει σαν ακίδα και είναι ευαίσθητη στις πρωτεάσες (Protease sensitive). Συγκεκριμένα διασπάται από τις πρωτεάσες του εντέρου σε δύο μέρη (VP5* και VP8*). Στη συνέχεια ενώνεται με υποδοχείς στην επιφάνεια των κυττάρων του ξενιστή και βοηθάει την είσοδο του ιού στο κύτταρο. Η VP4 πρωτεΐνη καθιστά τον ιό παθογόνο και επάγει την παραγωγή εξουδετερωτικών αντισωμάτων από τον ξενιστή. Επίσης καθορίζει τον Ρ γονότυπο του στελέχους του ιού.

Η **VP6** λειτουργεί ως αντιγόνο και αποτελεί τον κύριο όγκο του μεσαίου στρώματος του ιού. Χρησιμοποιείται για την εργαστηριακή διάγνωση της λοίμωξης από Ρότα ιό και καθορίζει τις ομάδες, στις οποίες ταξινομούνται οι Ρότα ιοί (Greenberg and Estes, 2009).

Η **VP7** είναι γλυκοπρωτεΐνη, που σχηματίζει την εξωτερική επιφάνεια του ιού. Εκτός από τη δομική της λειτουργία καθορίζει τον G γονότυπο του στελέχους και μαζί με την VP4 πρωτεΐνη εμπλέκεται στην ανοσολογική απάντηση του ξενιστή κατά τη μόλυνση με τον ιό.

B. Μη Δομικές Πρωτεΐνες

Η **NSP1** είναι μη δομική πρωτεΐνη. Προσδένεται στο 5' άκρο του ιϊκού mRNA και ενισχύει την NSP3 πρωτεΐνη στην αναστολή της μετάφρασης του mRNA του κυττάρου (Chung and McCrae, 2011). Επιπλέον η NSP1 φαίνεται να αλληλεπιδρά στην κυτταρική μεταγραφή του ρυθμιστικού παράγοντα *Interferon Regulatory Factor 3* (*IRF3*) στοχεύοντας στην αποδόμησή του από το πρωτεόσωμα. Έτσι μπλοκάρει την παραγωγή ιντερφερόνης και αναστέλλει την αντιϊκή άμυνα του ξενιστή (Arnold et al., 2013b, Arnold et al., 2013a, Graff et al., 2009). Η NSP1 φαίνεται να μην είναι χρήσιμη στον πολλαπλασιασμό του Ρότα ιού *in vitro* αν και ο ρόλος της σε αυτό δεν είναι ακόμα ξεκάθαρος (Hu et al., 2012b).

Η **NSP2** είναι μη δομική πρωτεΐνη με RNA δεσμευτικό ρόλο. Συσσωρεύεται στα κυτταροπλασματικές δομές, όπου πραγματοποιείται ο πολλαπλασιασμός του ιού (viroplasm) και χρησιμεύει στην αντιγραφή του γονιδιώματος του ιού.

Η **NSP3** είναι δεσμευμένη με το ιϊκό mRNA στα μολυσμένα κύτταρα και αλληλεπιδρά με το μεταφραστικό μηχανισμό του ξενιστή. Παρακωλύει την κυτταρική mRNA μετάφραση και την κυτταρική πρωτεϊνοσύνθεση (Chung and McCrae, 2011). Η NSP3 έχει συσχετιστεί και με τη συστηματική διασπορά του ιού (Mossel and Ramig, 2002, Ramig, 2004).

Η **NSP4** λειτουργεί ως εντεροτοξίνη του Ρότα ιού. Σε πειράματα που έχουν γίνει σε ποντίκια η NSP4, όταν χορηγείται ενδοπεριτοναϊκά, προκαλεί διάρροια και γι αυτό θεωρείται εντεροτοξίνη (Ball et al., 1996). Η NSP4 είναι μια διαμεμβρανική

γλυκοπρωτεΐνη και συσσωρεύεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο (ER) κοντά στις ηλεκτρονικά πυκνές δομές, όπου πραγματοποιείται ο πολλαπλασιασμός του ιού (viroplasms) (Trask et al., 2012). Έχει αποδειχθεί ότι η NSP4 έχει ιδιότητες πορίνης και προκαλεί απελευθέρωση ασβεστίου από το ER. Δεν είναι σαφές πώς η ενδοκυτταρική NSP4 απελευθερώνει ασβέστιο από το ER αλλά υπάρχει ένδειξη ότι γίνεται με ένα μηχανισμό που εξαρτάται από τη φωσφολιπάση C (PLC) (Hu et al., 2012b, Tian et al., 1995, Berkova et al., 2007). Επίσης η NSP4 είναι απαραίτητη για τον πολλαπλασιασμό του ιού, τη μεταγραφή και τη μορφογένεσή του και συμμετέχει στο σχηματισμό του εξωτερικού καψιδίου του ιού. Ακόμα η NSP4 και τα τμήματά της, που εκλύονται μετά τη διάσπασή της από μολυσμένα κύτταρα, προκαλούν μέσω των toll-like receptors 2 απελευθέρωση κυτοκινών από τα μακροφάγα και πυροδοτούν την απελευθέρωση σεροτονίνης (5-HT, 5 Hydroxytryptamine) από τα ανθρώπινα εντροκύτταρα (EC) (Hagbom et al., 2011).

Η **NSP5** κωδικοποιείται από το γονιδιακό τμήμα 11 του Ρότα ιού και συσσωρεύεται κατά τη μεταγραφή του ιού σε συγκεκριμένες περιοχές των μολυσμένων κυττάρων (viroplasm). Εκεί η NSP5 αλληλεπιδρά με το RNA και την NSP2 πρωτεΐνη, ώστε να απομονώσουν το ιϊκό RNA και τις πρωτεΐνες του καψιδίου και να δημιουργήσουν τα ιϊκά σωματίδια (virions).

Η **NSP6** δεν κωδικοποιείται από όλους τους Ρότα ιούς, αλλά όταν υπάρχει κωδικοποιείται από το τμήμα 11 όπως και η **NSP5**. Ο ακριβής ρόλος της NSP6 είναι ακόμα άγνωστος αλλά φαίνεται να εντοπίζεται και αυτή στα «viroplasms» και να δεσμεύει νουκλεϊκό οξύ (ssRNA και dsRNA) (Hu et al., 2012b).

Οι πρωτεΐνες του Ρότα ιού και οι λειτουργίες τους περιγράφονται συνοπτικά στον Πίνακα Β (ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ).

2.4 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΡΟΤΑ ΙΟΥ

Οι Ρότα ιοί αποτελούν γένος ιών, που ανήκει στην οικογένεια *Reoviridae*. Η οικογένεια *Reoviridae* αποτελείται από δύο υποοικογένειες; τη *Sedoreovirinae* (γένη *Cardoreovirus*, *Mimoreovirus*, *Orbivirus*, *Phytoreovirus*, *Rotavirus*, *Seadornavirus*) και τη *Spinareovirinae* (γένη *Aquareovirus*, *Coltivirus*, *Cypovirus*, *Dinovernavirus*, *Fijivirus*, *Idnoreovirus*, *Mycoreovirus*, *Orthoreovirus*, *Oryzavirus*).

Η ταξινόμηση του Ρότα ιού βασίζεται στη δομή του γονιδιώματός του και την ανοσολογική απόκριση, που προκαλούν οι πρωτεΐνες VP6, VP4 και VP7. Συγκεκριμένα:

➤ Η πρωτεΐνη **VP6** καθορίζει την ομάδα (group) του ιού ή αλλιώς την αντιγονική ιδιότητα της οροομάδας και είναι η πιο ανοσογονική πρωτεΐνη κατά τη λοίμωξη από Ρότα ιό. Σύμφωνα με τη γενετική ποικιλομορφία της VP6 και την ορολογική αντίδραση που προκαλεί, υπάρχουν τουλάχιστον 10 διαφορετικές ομάδες Ρότα ιών, που ταξινομούνται από το A έως το I. (Matthijnsens et al., 2012a). Η ομάδα A (group A) είναι η πιο συνηθισμένη και ευθύνεται για το μεγαλύτερο ποσοστό λοίμωξης από Ρότα ιό στους ανθρώπους (90%). Φυλογενετικά στην ομάδα A υπάρχουν 2 μεγάλες υποομάδες (genogroups); genogroup I και genogroup II. Οι ομάδες B και C έχουν ανιχνευθεί επίσης σε ανθρώπους αλλά σπανιότερα. Συνήθως οι ομάδες B έως και I ανιχνεύονται σε ζώα, όπως βοοειδή (Mebus et al., 1969), πιθήκους (Malherbe and Harwin, 1963), πτηνά (Kindler et al., 2013; Otto et al., 2012; Trojnar et al., 2009), νυχτερίδες (Estes and Greenberg, 2013; He et al., 2013) και ποντίκια (Adams and Kraft, 1963),

➤ Οι πρωτεΐνες επιφανείας **VP4** και **VP7** επάγουν εξουδετερωτικά αντισώματα και φαίνεται ότι παίζουν ρόλο στην ανοσολογική απάντηση του ξενιστή. Με βάση τις δύο αυτές πρωτεΐνες έχει καθιερωθεί ένα διπλό σύστημα ταξινόμησης των Ρότα ιών της ομάδας A, οι οποίοι χαρακτηρίζονται από έναν G και έναν P τύπο ανάλογα με το γονότυπο των γονιδίων VP7 και VP4 που κωδικοποιούν τις αντίστοιχες πρωτεΐνες (G για τις glycoproteins του VP7 γονιδίου και P για τις protease-sensitive proteins του VP4 γονιδίου). Ομοίως ανάλογα με τα αντισώματα που επάγουν οι G και P πρωτεΐνες στον ορό του ξενιστή προκύπτει αντίστοιχα και ο ορότυπος του ιού. Μέχρι στιγμής έχουν

προσδιοριστεί τουλάχιστον 27 G και 37 P τύποι, από τους οποίους τουλάχιστον 11G και 11 P τύποι φαίνεται να μολύνουν τον άνθρωπο (Matthijssens et al., 2011).

Η τελική ονομασία ενός στελέχους Ρότα ιού ομάδας Α προκύπτει από τον εξής συνδυασμό; ένα γράμμα G μαζί με έναν αριθμό, που δηλώνει το γονότυπο ή τον ορότυπο του ιού και ένα γράμμα P μαζί με έναν αριθμό κι ένα γράμμα, όταν πρόκειται για τον ορότυπο ή έναν αριθμό μέσα σε αγκύλες όταν πρόκειται για το γονότυπο. Για παράδειγμα το ανθρώπινο στέλεχος Wa φέρει την ονομασία G1P1A (ορότυπος) ή G1P[8] (γονότυπος), το στέλεχος DS-1 φέρει την ονομασία G2P1B (ορότυπος) ή G2P[4] (γονότυπος) κλπ (Estes and Desselberger, 2012). Οι Ρότα ιοί ανασυνδυάζονται πολύ εύκολα τόσο in vitro όσο και in vivo, καθώς οι πρωτεΐνες VP7 και VP4 κωδικοποιούνται από διαφορετικά τμήματα RNA. Έτσι είναι πολύ εύκολο να προκύψουν διάφοροι συνδυασμοί G και P τύπων. Μέχρι σήμερα έχουν βρεθεί 45 συνδυασμοί G και P τύπων. (Matthijssens et al., 2008, Maunula and Von Bonsdorff, 2002).

Πρόσφατα προτάθηκε ένα νέο σύστημα ταξινόμησης των Ρότα ιών, που βασίζεται στην αλληλούχηση ολόκληρου του γονιδιώματος του ιού (Matthijssens et al., 2008). Σύμφωνα με αυτήν την ταξινόμηση τα τμήματα του γονιδιώματος, που συνθέτουν τις πρωτεΐνες VP7-VP4-VP6-VP1-VP2-VP3-NSP1-NSP2-NSP3-NSP4-NSP5/6 αντιστοιχούν στα ακρωνύμια Gx-P[x]-Ix-Rx-Cx-Mx-Ax-Nx-Tx-Ex-Hx (όπου x= ο αριθμός διαφορετικών γονοτύπων). Κάθε ένα από τα εννιά γονίδια του ιού, εκτός αυτών που αντιστοιχούν στον G- και P- τύπο, φέρουν περισσότερους από 8 εναλλακτικούς γονότυπους (Πίνακας 7).

Η αλληλούχηση ολόκληρου του γονιδιώματος του ιού έχει αποκαλύψει ότι υπάρχει εκτεταμένη γονιδιακή και αντιγονική ποικιλία τόσο στα ανθρώπινα όσο και στα ζωικά στελέχη. Φυλογενετικές αναλύσεις έχουν δείξει ότι τα στελέχη των Ρότα ιών ομάδας Α που απομονώνονται στους ανθρώπους και φέρουν το γονότυπο P[8] (πχ. G1P[8], G3P[8], G4P[8] και G9P[8]) προέρχονται φυλογενετικά από την ίδια υποομάδα (genogroup I, Wa-like) και έχουν κοινή καταγωγή με στελέχη, που απομονώνονται στους χοίρους. Αντίστοιχα τα ανθρώπινα στελέχη που φέρουν το

γονότυπο G2P[4] προέρχονται φυλογενετικά από άλλη υποομάδα (genogroup II, DS-1-like) και σχετίζονται με στελέχη βοείου προέλευσης. Συνεπώς η νέα ταξινόμηση που βασίζεται σε ολόκληρο το γονιδίωμα του ιού επιτρέπει καλύτερη προσέγγιση της φύσης του Ρότα ιού καθώς δίνει πληροφορίες για διαδικασίες, που μπορεί να συμβαίνουν σε μοριακό επίπεδο κατά τον πολλαπλασιασμό του ιού, όπως ο γονιδιακός ανασυνδυασμός μεταξύ ανθρώπινων ή και ζωικών στελεχών, οι σημειακές μεταλλάξεις κλπ.

Πίνακας 7. Νέο σύστημα ταξινόμησης των Ρότα ιών, όπως καθιερώθηκε από το Rotavirus Classification Working Group ^a.

ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΡΟΤΑ ΙΟΥ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ	ΑΚΡΩΝΥΜΙΟ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΠΟΥ ΚΑΘΟΡΙΖΕΙ ΤΗΝ ΟΝΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΓΟΝΟΤΥΠΟΥ
VP7	27 G	<u>G</u> lycosylated
VP4	37 P	<u>P</u> rotease-sensitive
VP6	18 I	<u>I</u> nnner capsid
VP1	9 R	<u>R</u> dR _{pc} ^b
VP2	9 C	<u>C</u> ore protein
VP3	8 M	<u>M</u> ethyltransferase
NSP1	19 A	Interferon <u>A</u> ntagonist
NSP2	10 N	<u>N</u> TPase
NSP3	12 T	<u>T</u> ranslation enhancer
NSP4	15 E	<u>E</u> nterotoxin
NSP5	11 H	P <u>H</u> osphoprotein

^a Rotavirus Classification Working Group, 6th Meeting, October 2013 Valencia/ Spain.

^b RNA-dependent RNA polymerase.

2.5 ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΚΑΙ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΡΟΤΑ ΙΟΥ

Οι Ρότα ιοί είναι πολύ μολυσματικοί και μπορούν να μεταδοθούν μέσω της κοπρανο-στοματικής οδού, μέσω σταγονιδίων του αναπνευστικού ή μέσω μολυσμένου νερού (Parashar et al., 1998a, Fragoso et al., 1986). Τα παιδιά, που μολύνονται με Ρότα ιό και νοσούν, διασπείρουν τον ιό με τα κόπρανα πριν από την έναρξη των συμπτωμάτων και μπορεί να αποβάλουν περισσότερα από 10^{10} ή 10^{11} σωματίδια Ρότα ιού ανά γραμμάριο κοπράνων. Λιγότερο από 100 σωματίδια χρειάζονται για να μολυνθούν νέες επαφές (Karikian and Chanock, 1996, Karikian et al., 1983, Ward et al., 1986). Η πιθανότητα μετάδοσης του Ρότα ιού μπορεί να μειωθεί με το συχνό πλύσιμο χεριών και αποστειρώνοντας μολυσμένα υλικά ή αντικείμενα σε υψηλή θερμοκρασία ($>50^{\circ}\text{C}$). Επίσης ο ιός μπορεί να απενεργοποιηθεί με διάφορα αντισηπτικά, όπως 95% ή 75% αιθανόλη, που καταστρέφουν το εξωτερικό τμήμα του ιού (Estes et al., 1979, Meng et al., 1987).

Σύμφωνα με *in vitro* πειράματα σε MA104 κυτταρικές σειρές ο Ρότα ιός πολλαπλασιάζεται μετά από 10 με 12 ώρες επώασης στους 37°C , όταν υπάρχουν τουλάχιστον 10 ιικά σωματίδια ανά κύτταρο και τα κύτταρα βρίσκονται στο μέγιστο επίπεδο μόλυνσης (Knipe and Howley, 2013). Ο πολλαπλασιασμός του ιού διαφέρει αναλόγως τον τύπο του κυττάρου (Estes and Desselberger, 2012).

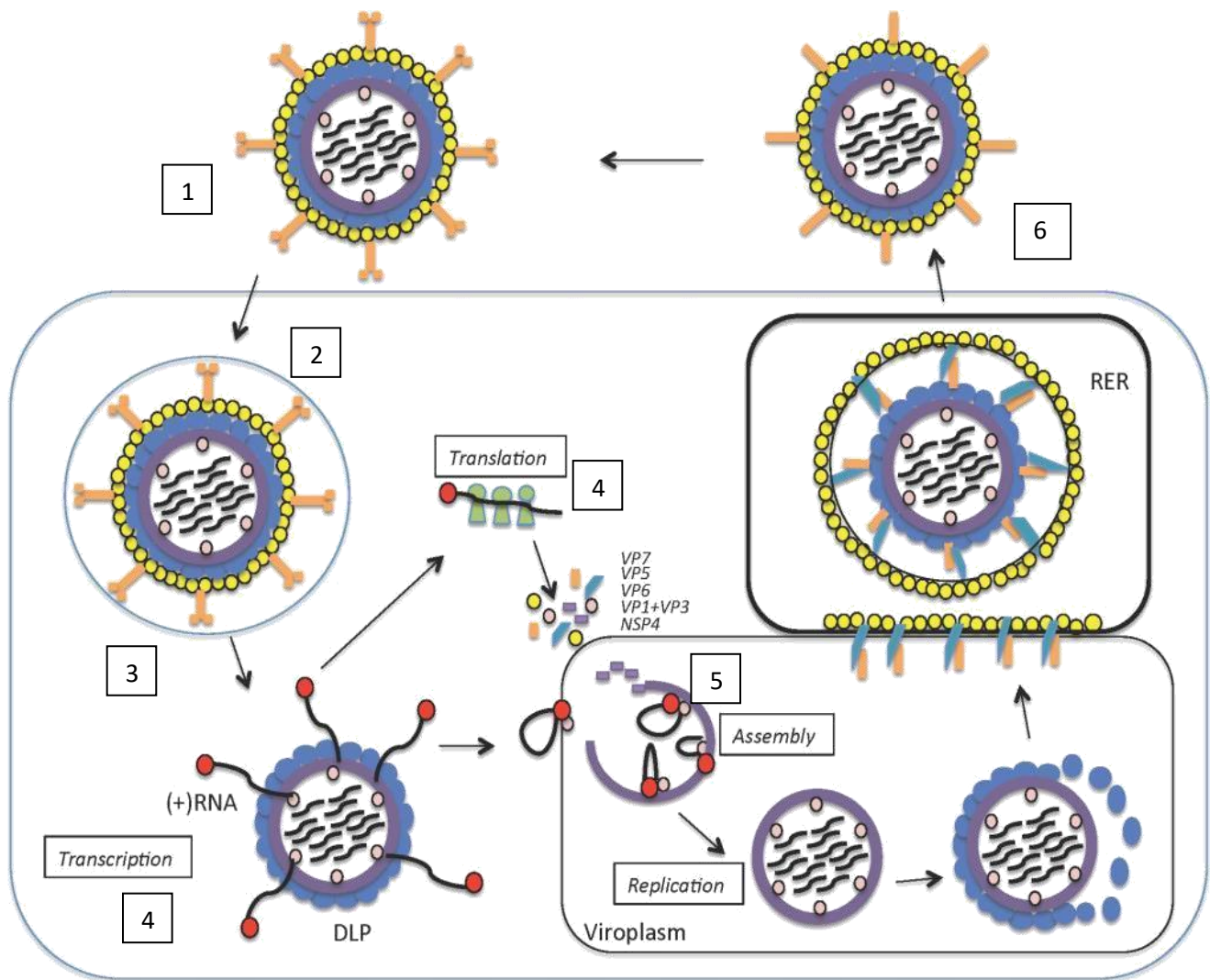
Στον άνθρωπο ο Ρότα ιός πολλαπλασιάζεται στα ώριμα επιθηλιακά κύτταρα του λεπτού εντέρου. Το μολυσματικό μόριο του ιού με το τριπλό περίβλημα (TLP, triple-layered particle) προσδένεται στο κύτταρο ξενιστή και εισβάλλει είτε μέσω άμεσης φαγοκυττάρωσης είτε μέσω πρόσδεσης σε υποδοχέα και ενδοκύττωσης. Οι κυτταρικοί υποδοχείς του Ρότα ιού δεν έχουν πλήρως χαρακτηριστεί, αν και το σιαλικό οξύ (Haselhorst et al., 2009), οι toll-like receptors (TLR) (Ge et al., 2013), οι ιντεγκρίνες και τα αντιγόνα ιστοσυμβατότητας των ομάδων αίματος έχουν συσχετιστεί (Zhang et al., 2000, Hu et al., 2012a, Nordgren et al., 2014). Επίσης γνωρίζουμε ότι η διαδικασία μόλυνσης του κυττάρου από τον ιό περιλαμβάνει αλληλεπίδραση με πρωτεύοντες και δευτερεύοντες υποδοχείς, με τους τελευταίους να λειτουργούν ως συνυποδοχείς σε θέσεις, που έπονται της πρόσδεσης του ιού στο

κύτταρο (Lopez and Arias, 2004). Ο πολλαπλασιασμός του ιού συμβαίνει αποκλειστικά στο κυτταρόπλασμα, σε περιοχές που είναι κοντά στον πυρήνα και το ενδοπλασματικό δίκτυο (ER). Οι περιοχές αυτές καλούνται «viroplasm» και φαίνονται ως πυκνές δομές στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

Συνοπτικά τα βήματα πολλαπλασιασμού του ιού είναι τα ακόλουθα και απεικονίζονται στην Εικόνα 3 (Knipe and Howley, 2013, Trask et al., 2012).

1. **Προσκόλληση (Virus attachment)** του ιού στην κυτταρική επιφάνεια μέσω της VP8* πρωτεΐνης, που είναι προϊόν αποδόμησης της VP4 πρωτεΐνης από τις πρωτεάσες του εντέρου.
2. **Είσοδος στο κύτταρο (Cell entry).** Ο ιός εισέρχεται στο εντεροκύτταρο μέσω διαμεσολαβούμενου υποδοχέα ενδοκύττωσης, που αλληλεπιδρά με την VP5* πρωτεΐνη, που είναι το δεύτερο προϊόν της διάσπασης της VP4 πρωτεΐνης του ιού. Η ενδοκύττωση του ιού εξαρτάται επίσης από τη συγκέντρωση του ενδοκυττάριου ασβεστίου (Ruiz et al., 1997). Εναλλακτικά ο ιός μπορεί να εισέλθει στο κύτταρο μέσω απευθείας σύντηξης (Kaljot et al., 1988).
3. **Αποκάλυψη του TLP (Uncoating of the TLP).** Η χαμηλή συγκέντρωση ασβεστίου στο κυτταρόπλασμα φαίνεται ότι αποτελεί έναυσμα για την απομάκρυνση του εξωτερικού καψιδίου του ιού (πρωτεΐνες VP7, VP5* και VP8*). Τα ιϊκά σωματίδια διπλής στιβάδας (Double layered particles, DLPs), που αποτελούνται από τις πρωτεΐνες του πυρήνα (VP1, VP2, VP3) και του μεσαίου στρώματος (VP6) απελευθερώνονται στο κυτταρόπλασμα και ξεκινούν τη μεταγραφή του ιού.
4. **Μεταγραφή και μετάφραση (Transcription and translation).** Το σύμπλεγμα πολυμεράσης (Polymerase Complex) αποτελούμενο από τις VP1 και VP3 πρωτεΐνες, που βρίσκεται στο εσωτερικό του πυρήνα του ιού αρχίζει να μεταγράφει καθένα από τα έντεκα τμήματα dsRNA. Τα θετικής πολικότητας RNA που προκύπτουν εξέρχονται μέσω δώδεκα υδάτινων πόρων τάξης Ι, που βρίσκονται στις κορυφές του άξονα συμμετρίας του DLP σωματιδίου και λειτουργούν είτε ως mRNA για απευθείας μετάφραση και σύνθεση ιϊκών πρωτεϊνών στα κυτταρικά ριβοσώματα είτε σαν πρότυπο για την αντιγραφή (replication) και τη σύνθεση του ιϊκού RNA.

5. **Σύνθεση (Assembly).** Οι NSP2 και NSP5 είναι μη δομικές πρωτεΐνες του ιού, που αλληλεπιδρούν και σχηματίζουν τις περιοχές εντός του μολυσμένου κυττάρου, που καλούνται «*viroplasms*». Εκεί γίνεται ο πολλαπλασιασμός και η μορφογένεση του ιού (Silvestri et al., 2004, Vascotto et al., 2004, Campagna et al., 2005). Τα «*viroplasms*» επίσης περιέχουν τις πρωτεΐνες VP1, VP2, VP3, VP6 και NSP4. Η πρωτεΐνη NSP5 αλληλεπιδρά με τη VP2 και με τη VP1 κατά τη διαδικασία της σύνθεσης (Arnoldi et al., 2007), ώστε να συνδυαστούν τα 11 τμήματα dsRNA με τις πρωτεΐνες VP1, VP2, VP3 και VP6 και να προκύψουν τα DLPs. Ακολουθεί η διαδικασία σύνθεσης του εξωτερικού καψιδίου του ιού, που δεν είναι πλήρως γνωστή. Φαίνεται ότι σε αυτό το στάδιο η πρωτεΐνη NSP4 παίζει καθοριστικό ρόλο καθώς λειτουργεί σαν ενδοκυττάριος υποδοχέας για τη VP6 πρωτεΐνη και προσελκύει τα DLPs εντός του Ενδοπλασματικού Δικτύου (ER). Εκεί τα DLPs ενσωματώνουν την πρωτεΐνη VP4, που βρίσκεται στην κυτταροπλασματική μεριά της μεμβράνης του ER. Έτσι δημιουργείται το σύμπλεγμα NSP4/VP4/DLP. Η απομάκρυνση της μεμβράνης του ER και της NSP4 συμβαίνει μέσα στο ER μετά από αλληλεπίδραση με την VP7 πρωτεΐνη και σχηματίζεται το τελικό TLP. Η πρωτεΐνη VP4 μπορεί να προστεθεί και αργότερα κοντά στην κυτταροπλασματική μεμβράνη (Delmas et al., 2004).
6. **Απελευθέρωση (Virus release).** Το νεοσύστατο TLP απελευθερώνεται από το μολυσμένο κύτταρο με κυτταρική λύση ή με μεταφορά μέσω Golgi και σύντηξη στην επιφάνεια του εντεροκυττάρου. Τα σωματίδια του Ρότα ιού που απελευθερώνονται στον αυλό του εντέρου είναι και πάλι ελεύθερα να εκτεθούν στα ένζυμα του εντερικού σωλήνα (πρωτεάσες τύπου θρυψίνης), που διασπούν την ευαίσθητη σε πρωτεάση VP4 πρωτεΐνη του ιού σε VP5* και VP8*, δημιουργώντας και πάλι ένα μολυσματικό σωματίδιο του ιού (virion).



Εικόνα 3. Στάδια πολλαπλασιασμού του Ρότα ιού στο κύτταρο στόχο: (1) Προσκόλληση (Virus attachment), (2) Είσοδος στο κύτταρο (Cell entry), (3) Αποκάλυψη του TLP (Uncoating of the TLP, (4) Μεταγραφή και μετάφραση (Transcription and translation), (5) Σύνθεση (Assembly), (6) Απελευθέρωση (Virus release). DLP=double-layered particle, RER= rough endoplasmic reticulum membrane.

2.6 ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΙΑ ΡΟΤΑ ΙΟΥ

Το γονιδίωμα του Ρότα ιού, όπως συμβαίνει με τους περισσότερους RNA ιούς, είναι πολύ εύπλαστο και μπορεί να υποστεί μεταλλάξεις 100 φορές περισσότερο από τους DNA ιούς (Rahman et al., 2005, Blackhall et al., 1996). Τρεις είναι οι μηχανισμοί, που ενέχονται στην εξέλιξη και τη διαφοροποίηση των Ρότα ιών, μολονότι δεν είναι γνωστό ποια είναι η συνεισφορά τους στην επιβάρυνση της λοίμωξης από Ρότα ιό.

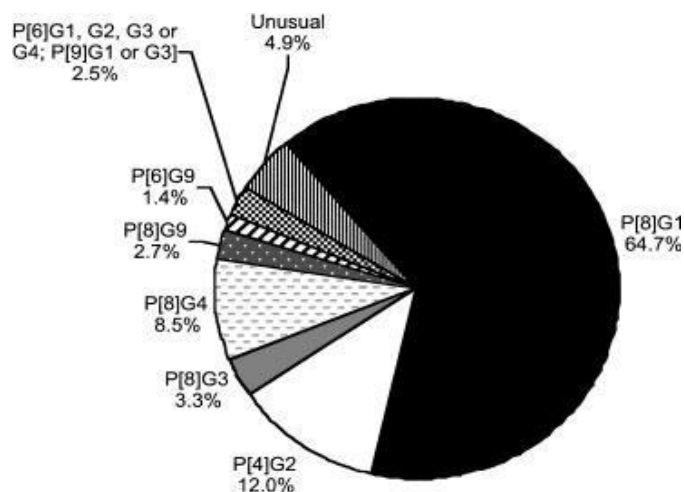
1. Αντιγονική ολίσθηση (Antigenic drift). Σημειακές μεταλλάξεις μπορεί να συμβούν με πιθανότητα 5×10^{-5} ανά νουκλεοτίδιο και ανά αντιγραφή, δηλαδή κάθε νέο αντίγραφο ιού διαφέρει από το πατρικό του τουλάχιστον κατά μία μετάλλαξη. Οι σημειακές μεταλλάξεις οδηγούν σε αντιγονικές αλλαγές, που μπορούν να οδηγήσουν σε ανάδυση διαφορετικών στελεχών εντός της ίδιας ομάδας γονοτύπων, που διαφεύγουν της εγκατεστημένης αντισωματικής απάντησης.

2. Αντιγονική διαφυγή (Antigenic shift). Η ανταλλαγή τμημάτων του γονιδιώματος του Ρότα ιού μέσω ανασυνδυασμού μπορεί να συμβεί κατά τη διάρκεια διπλής λοίμωξης ενός κυττάρου είτε από δύο ανθρώπινα στελέχη είτε από δύο στελέχη που προσβάλλουν τον άνθρωπο και κάποιο ζώο. Οι πρωτεΐνες VP6, VP7 και VP4 κωδικοποιούνται από διαφορετικά τμήματα του γονιδιώματος του ιού, επομένως οι πιθανοί συνδυασμοί που προκύπτουν κατά τον ανασυνδυασμό είναι πάρα πολλοί. Ο γενετικός ανασυνδυασμός έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να συμβεί *in vivo* (Ramig, 1997) μεταξύ ανθρώπινων ή/και ζωικών στελεχών και θεωρείται ότι είναι πολύ σημαντικός μηχανισμός στη δημιουργία της ποικιλίας των στελεχών που συνυπάρχουν στη φύση (Unicomb et al., 1999, Zao et al., 1999, Ramachandran et al., 1996). Στην περίπτωση στελεχών, που προκύπτουν από ανασυνδυασμό οι σημειακές μεταλλάξεις είναι σποραδικές αλλά μπορεί να συσσωρευτούν με την πάροδο του χρόνου και να οδηγήσουν στην ανάπτυξη γενεών (lineages) και υπογενεών (sublineages) ανάμεσα στους γονότυπους (Iturriza-Gomara et al., 2001).

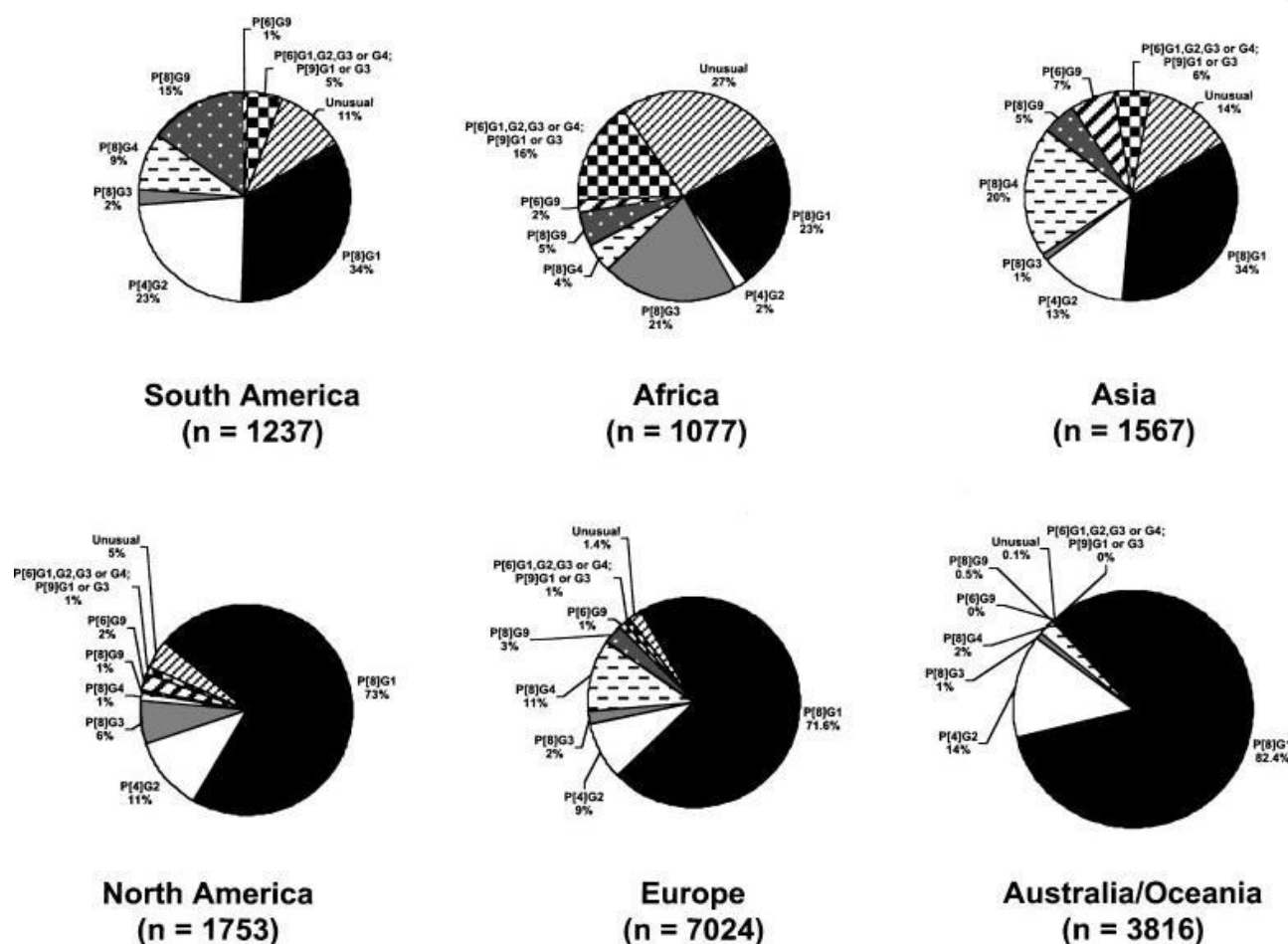
3. Αναδιάταξη (Rearrangement). Η κατάτμηση ή η αποκοπή τμήματος του γονιδιώματος του Ρότα ιού μπορεί να προκαλέσει την παραγωγή νέων πρωτεϊνών με διαφορετικές λειτουργίες και κατά συνέπεια τη δημιουργία νέων στελεχών Ρότα ιού.

2.7 ΠΑΓΚΟΣΜΙΑ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΡΟΤΑ ΙΟΥ

Λόγω της μεταβλητής φύσης του Ρότα ιού και των συνεχώς μεταβαλλόμενων γενετικών χαρακτηριστικών του, η επιδημιολογική μελέτη και η επιτήρησή του είναι ζωτικής σημασίας. Τα στελέχη του Ρότα ιού μπορεί να είναι ζωικής ή ανθρώπινης προέλευσης (Santos and Hoshino, 2005). (Πίνακας Γ, Πίνακας Δ, ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ). Από τα στελέχη του Ρότα ιού, που προσβάλλουν τον άνθρωπο πέντε είναι τα πιο συνηθισμένα; G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] και G9P[8] και είναι υπεύθυνα για περισσότερο από το 90% της ΟΓ από Ρότα ιό στα παιδιά παγκοσμίως (Εικόνα 4). Αναλύοντας τα δεδομένα για τους G/P συνδυασμούς που κυκλοφορούν ανά ήπειρο και χώρα φάνηκε ότι διάφοροι συνδυασμοί ποικίλουν από περιοχή σε περιοχή (Εικόνα 5). Για παράδειγμα οι 5 συχνοί γονότυποι G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] και G9P[8] αντιπροσωπεύουν πάνω από το 90% των λοιμώξεων από Ρότα ιό στη Βόρεια Αμερική, την Ευρώπη και την Αυστραλία. Ωστόσο στην Αφρική, τη Νότια Αμερική και την Ασία οι παραπάνω γονότυποι αντιπροσωπεύουν μόνο το 50-68%. Επίσης ο G1P[8] γονότυπος απαντάται σε ποσοστό μεγαλύτερο από 70% στη Βόρεια Αμερική, Αυστραλία και Ευρώπη, ενώ αντιπροσωπεύει μόνο το 30% των λοιμώξεων στη Νότια Αμερική και Ασία και το 23% στην Αφρική (Santos and Hoshino, 2005). (Εικόνα 5)



Εικόνα 4. Παγκόσμια κατανομή ανθρώπινων G και P τύπων Ρότα ιού σύμφωνα με ανασκόπηση 124 μελετών από 52 χώρες σε πέντε ηπείρους μεταξύ 1989 και 2004.



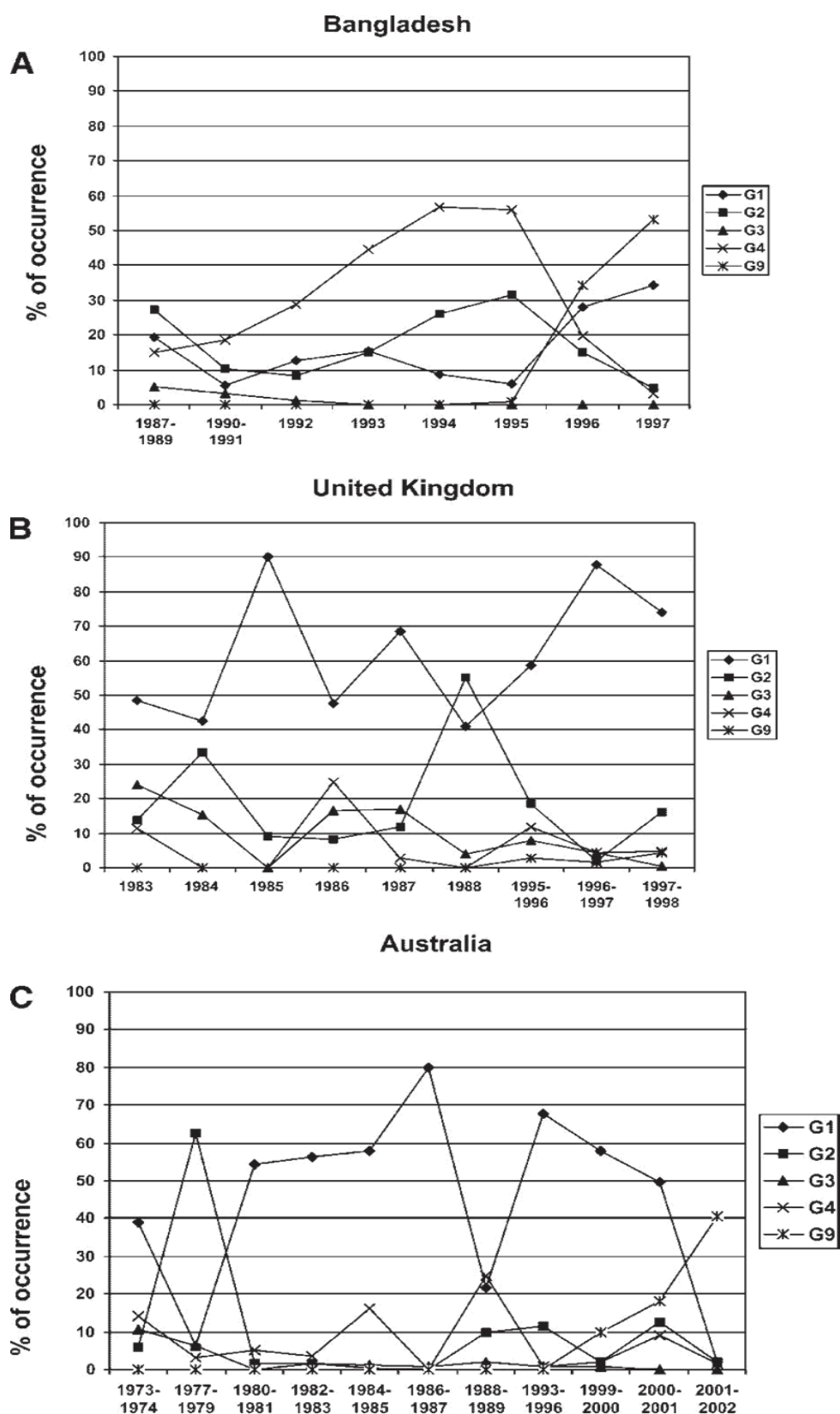
Εικόνα 5. Κατανομή γονοτύπων ανθρώπινων Ρότα ιών ανά ήπειρο. (Santos and Hoshino, 2005)

Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι διαφορετικοί G και P τύποι κυκλοφορούν στην ίδια περιοχή την ίδια χρονική περίοδο. Επίσης η κατανομή γονοτύπων Ρότα ιού μπορεί να έχει ετήσια διακύμανση σε μία περιοχή ή μπορεί να διαφέρει κατά την ίδια χρονική περίοδο σε διαφορετικές περιοχές μίας χώρας (Karikian and Shope, 1996, Koshimura et al., 2000, Iturriza-Gomara et al., 2000b, Bishop et al., 2001, Unicombe et al., 1999, Koopmans and Brown, 1999). Στην Εικόνα 6 απεικονίζεται χαρακτηριστικά η ποικιλία στην κατανομή γονοτύπων σε τρεις διαφορετικές χώρες (Μπαγκλαντές, Ηνωμένο Βασίλειο και Αυστραλία) κατά τη διάρκεια των χρόνων.

Προοπτική 10ετής μελέτη (1987–1997) στο Μπαγκλαντές έδειξε μια τυπική ετήσια εικόνα διακύμανσης της κατανομής γονοτύπων Ρότα ιού G1–G4 και G9 (Εικόνα 6, Α). Κατά τη διάρκεια των τριών πρώτων χρόνων ο G2 ήταν ο συχνότερος γονότυπος και ακολουθούσαν οι G1 και G4 γονότυποι. Από τον τέταρτο χρόνο της μελέτης τα G4 στελέχη έγιναν τα πιο συχνά και παρέμειναν κυρίαρχα μέχρι το 1995; το 1995 το G9 στέλεχος εμφανίστηκε και η επίπτωση του G4 μειώθηκε αισθητά. Το 1996 και 1997 ο G9 ήταν ο συχνότερος γονότυπος, που ανιχνεύθηκε στη χώρα (34.4% and 53.0%, αντίστοιχα). Η επίπτωση των G4 στελεχών κατά τη διάρκεια της ίδιας περιόδου ήταν μόλις 19.7% και 3.1%, αντίστοιχα. (Unicomb et al., 1999).

Δέκα χρόνια επιτήρησης Ρότα ιού στο Ηνωμένο Βασίλειο, από το 1983 έως το 1988 και από το 1995 έως το 1998, έδειξαν επίσης ετήσια διακύμανση στην κατανομή των G γονοτύπων (Εικόνα 6, Β). Συνολικά ο γονότυπος G1 ήταν ο συχνότερος, ωστόσο το 1984 ο G2 ήταν ο δεύτερος συχνότερος γονότυπος και το 1988 έγινε ο πιο επικρατής. Το 1986 ο G4 αναδείχθηκε ως ο δεύτερος συχνότερος γονότυπος. Την περίοδο 1995–1996 ο γονότυπος G9 ανιχνεύθηκε στο Ηνωμένο Βασίλειο για πρώτη φορά και το 1997–1998 ήταν ο τέταρτος συχνότερος γονότυπος. (Iturriza-Gomara et al., 2000b, Beards et al., 1989).

Μελέτη κατανομής γονοτύπων στην Αυστραλία διεξήχθη για τουλάχιστον 22 χρόνια (1973– 1974, 1977–1989, 1993–1996, 1999–2002) (Εικόνα 6, C) και παρέχει αξιόπιστη βάση δεδομένων για ετήσια ανάλυση της κατανομής των γονοτύπων. Ο G1 γονότυπος ήταν ο πιο συχνός στη χώρα σε όλη την 28χρονη περίοδο (1973–2001) εκτός από τα έτη 1977–1979 και 1988–1989, όταν οι G2 και G4 αντίστοιχα, ήταν οι κυρίαρχοι γονότυποι. Ο γονότυπος G9 αναδύθηκε το 1999–2000 κι έγινε κυρίαρχος σε εθνικό επίπεδο το 2001–2002. Ενδιαφέρον ήταν το εύρημα ότι καθώς η επίπτωση του G9 αυξήθηκε το 1999–2000 η αντίστοιχη επίπτωση του G1 μειώθηκε (Bishop et al., 1991, Kirkwood et al., 2002). Παρόμοια αύξηση του G9P[8] σημειώθηκε μετά το 2000 και σε άλλες χώρες και έτσι σταδιακά ο G9P[8] έγινε ο πέμπτος συχνότερος γονότυπος σε παγκόσμια κατανομή.



Εικόνα 6. Εποχιακή κατανομή των G γονοτύπων του Ρότα ιού σε χώρες τριών διαφορετικών ηπείρων: (Α) Μπαγκλαντές, (Β) Ηνωμένο Βασίλειο και (C) Αυστραλία.

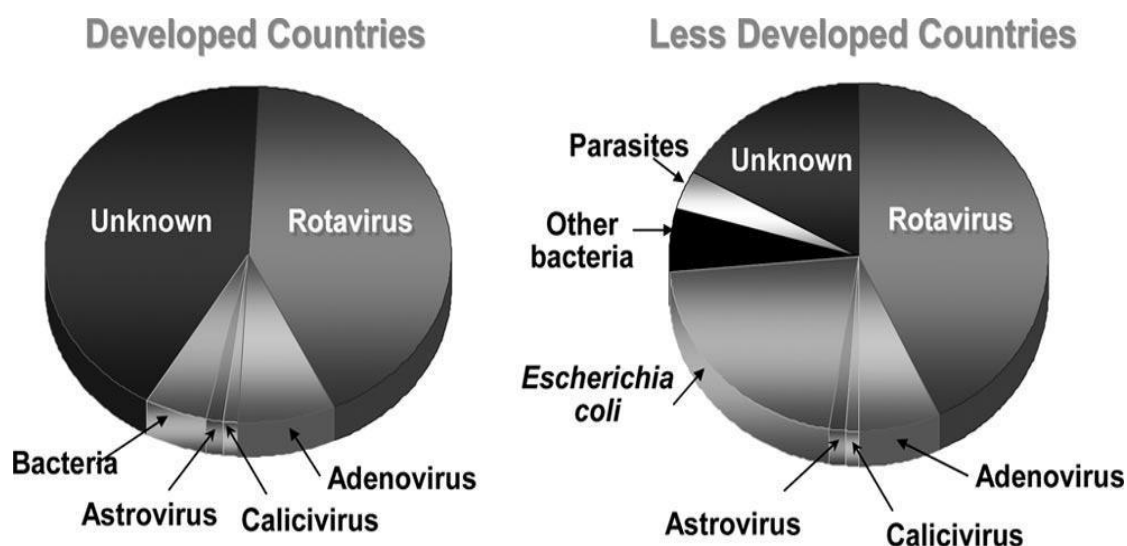
Στελέχη, που θεωρούνται ασυνήθη, έχουν επίσης περιγραφεί ανά τον κόσμο και αντιπροσωπεύουν περίπου το 4.9% των στελεχών, που απομονώνονται. Τα ποσοστά τέτοιων ασυνήθιστων στελεχών είναι πολύ πιο υψηλά στην Αφρική (27%), Ασία (14%) και Νότια Αμερική (5%) και χαμηλότερα σε Ευρώπη (1.4%) και Αυστραλία (0.1%). Ασυνήθη στελέχη, που φέρουν τους συνδυασμούς G1P[4], G2P[8], G3P[4], G4P[9], G4P[4], G9P[4], G9P[10], G12P[6] και G12P[9] αντιπροσωπεύουν ανασυνδυασμό μεταξύ ανθρώπινων γονοτύπων Ρότα ιού (Iturriza-Gomara et al., 2001). Άλλα ασυνήθη στελέχη, όπως G3P[11], G4P[1], G4P[11], G5P[6], G5P[8], G6P[6], G6P[9], G6P[14], G8P[1], G8P[2], G8P[4], G8P[6], G8P[8], G9P[11] και G9P[19] είναι πιθανό να αντιπροσωπεύουν ανασυνδυασμό μεταξύ ανθρώπινων και ζωικών στελεχών ή ακόμα και απευθείας μετάδοση ζωικού στελέχους σε άνθρωπο, όπως στην περίπτωση του G10P[11] (Dunn et al., 1993), καθώς φέρει G και P στέλεχος, που φυλογενετικά έχει ζωική προέλευση.

Η μικτή λοίμωξη από δύο στελέχη Ρότα ιών μπορεί να δημιουργήσει νέους G και P συνδυασμούς (Iturriza-Gomara et al., 2001, Gouvea and Brantly, 1995). Μικτοί γονότυποι Ρότα ιού με περισσότερους από έναν G ή/και P τύπους έχουν βρεθεί στη Νότια Αμερική, Ασία, Αφρική, Βόρεια Αμερική, Αυστραλία και Ευρώπη κατά μέσο όρο σε ποσοστά 15%, 12%, 10%, 4.8%, 2.3% και 1.8% αντίστοιχα. Αξιοσημείωτο είναι ότι στο Μπαγκλαντές μετά από πλημμύρες, παρατηρήθηκε αύξηση της συχνότητας των μικτών λοιμώξεων Ρότα ιού; από 8.1 % πριν τις πλημμύρες σε 22.7% μετά τις πλημμύρες (Ahmed et al., 1991).

3. ΟΞΕΙΑ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙΔΑ ΑΠΟ ΡΟΤΑ ΙΟ

3.1 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΒΑΡΥΤΗΤΑ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Ο Ρότα ιός είναι η κύρια αιτία σοβαρής γαστρεντερίτιδας σε βρέφη και παιδιά παγκοσμίως. Προσβάλλει συχνότερα τα αγόρια. Όλα τα παιδιά, είτε ζουν σε αναπτυσσόμενες είτε σε αναπτυγμένες χώρες νοσούν από Ρότα ιό τουλάχιστον μία φορά μέχρι την ηλικία των 2-3 ετών. Στην Εικόνα 7 φαίνεται ότι ο Ρότα ιός είναι εξίσου συχνός αιτιολογικός παράγοντας ΟΓ σε χώρες του αναπτυγμένου και του αναπτυσσόμενου κόσμου (Karikian, 1993).



Εικόνα 7. Αίτια οξείας γαστρεντερίτιδας, σε παιδιά που χρειάζονται νοσηλεία, σε αναπτυγμένες και αναπτυσσόμενες χώρες.

Η πρώτη λοίμωξη συνήθως σχετίζεται με οξεία διάρροια, που μπορεί να είναι σοβαρή και να οδηγήσει γρήγορα σε απειλητική για τη ζωή αφυδάτωση (Clark and Offit, 2004, Glass et al., 2005). Συνήθως μετά την πρώτη λοίμωξη αναπτύσσεται ομοτυπική και ετεροτυπική ανοσία και η σοβαρότητα των επόμενων επεισοδίων ελαττώνεται μετά από κάθε νέα λοίμωξη (Velazquez et al., 1996). Μερικά παιδιά ωστόσο βιώνουν πολλαπλά επεισόδια λοίμωξης από Ρότα ιό και ένας μικρός αριθμός παιδιών μπορεί να αναπτύξει συμπτωματική λοίμωξη ακόμα και δύο φορές μέσα στην ίδια εποχή (Velazquez et al., 1996).

Η εποχικότητα είναι χαρακτηριστικό της λοίμωξης από Ρότα ιό. Σε εύκρατα κλίματα η ΟΓ από Ρότα ιό είναι συχνότερη τους χειμερινούς μήνες. Στην Ευρώπη η αιχμή της νόσου παρουσιάζεται κατά τους χειμερινούς μήνες και συγκεκριμένα εμφανίζεται αρχικά στην Ισπανία το Δεκέμβρη, ακολούθως στη Γαλλία το Φεβρουάριο και καταλήγει στη βόρεια Ευρώπη το Φεβρουάριο/Μάρτιο (Εικόνα 8) (Koortmans and Brown, 1999). Στις Η.Π.Α. η λοίμωξη από Ρότα ιό εξαπλώνεται με παρόμοιο τρόπο από τα Δυτικά προς τα Ανατολικά τους χειμερινούς μήνες.



Εικόνα 8. Απεικόνιση της εξάπλωσης του Ρότα ιού στην Ευρώπη κατά την εποχή έξαρσης της ΟΓ.

Η ετήσια έξαρση της ΟΓ από Ρότα ιό συμβαίνει συνήθως την ίδια χρονική περίοδο με άλλες ιώσεις, όπως η γρίπη και ο αναπνευστικός συγκυτιακός ιός (Hjelt, 1991, Maille et al., 2000) επιβαρύνοντας το ιατρικό προσωπικό και το σύστημα υγείας. Οι νοσηλείες ασθενών με ΟΓ από Ρότα ιό κατά τη διάρκεια του χειμώνα οδηγούν σε συνωστισμό στα νοσοκομεία, αυξημένο κίνδυνο για νοσοκομειακές λοιμώξεις και λήψη έκτακτων μέτρων, όπως ακύρωση προγραμματισμένων χειρουργείων και αποστείρωση θαλάμων.

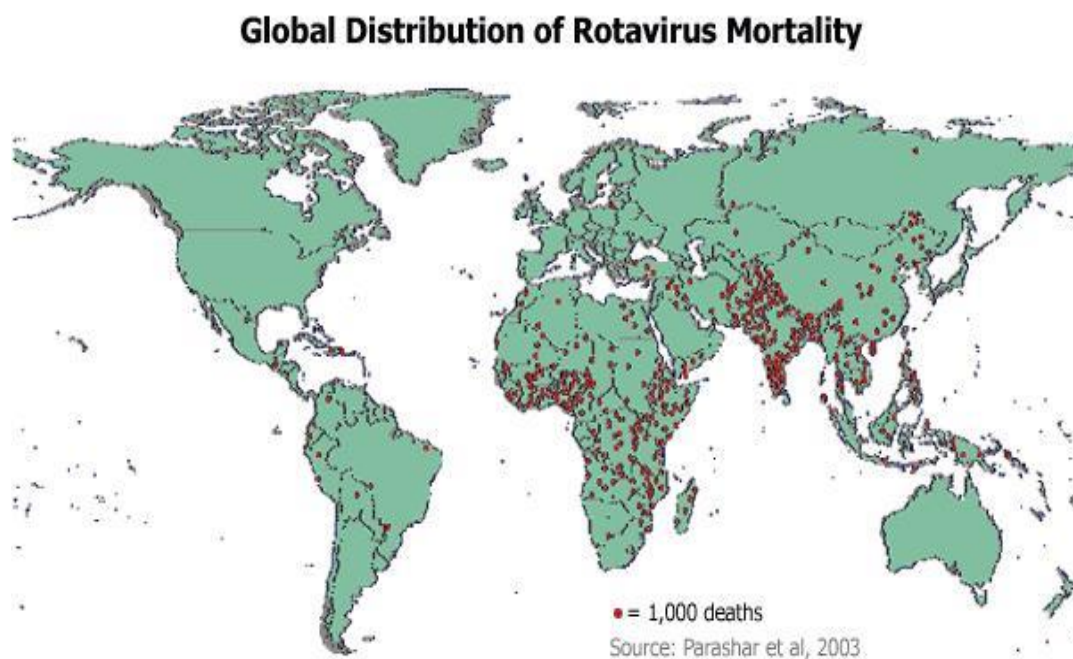
Ο Ρότα ιός είναι σημαντικός παράγοντας νοσοκομειακής λοίμωξης στα παιδιά προκαλώντας καθυστέρηση στην έκδοση εξιτηρίων ή επανεισαγωγή των ασθενών ή ακόμα και κλείσιμο κλινικών (Widdowson et al., 2002, Fruhwirth et al., 2001). Σε μεγάλη προοπτική πολυκεντρική μελέτη, που έγινε σε Αυστρία, Γερμανία και Ελβετία ο Ρότα ιός ανιχνεύθηκε σε 57%, 69% και 49% των παιδιών <5 ετών με νοσοκομειακή

ΟΓ αντίστοιχα (Fruhworth et al., 2001). Παρόμοια δεδομένα υπάρχουν από Γερμανία (Berner et al., 1999, Sermet-Gaudelus et al., 2004), Γαλλία (Sermet-Gaudelus et al., 2004) Ηνωμένο Βασίλειο (Djuretic et al., 1999), Ιρλανδία (Harrington et al., 2003) και Δανία (Hjelt, 1991). Σε μια προοπτική μελέτη στη νοτιανατολική Γαλλία, όπου μελετήθηκε η νοσοκομειακή λοίμωξη από Ρότα ιό σε 241 παιδιά <5 ετών, είχε ως αποτέλεσμα την επανεισαγωγή στο 27% των περιπτώσεων (Thuret et al., 2004). Επιδημίες λοίμωξης από Ρότα ιό είναι καταγεγραμμένες εκτός από τα παιδιατρικά νοσοκομεία (Ratner et al., 2001, Widdowson et al., 2002), στους παιδικούς σταθμούς (Dennehy, 2000) και σε οίκους ευγηρίας (Edmonson et al., 2000, Gellert et al., 1990).

Παλιότερα πίστευαν ότι η ΟΓ από Ρότα ιό δεν είναι σοβαρή ή θανατηφόρος κατάσταση και κανένας θάνατος παιδιού από Ρότα ιό δεν είχε αναφερθεί στις ΗΠΑ, έως ότου μία δημοσίευση από το αμερικάνικο CDC στα μέσα της δεκαετίας 1990 έδειξε ότι ο Ρότα ιός είχε προκαλέσει θανατηφόρες λοιμώξεις σε παιδιά στην Αμερική (Kilgore et al., 1995, Glass et al., 1996). Περισσότερες μελέτες έδειξαν ότι ο Ρότα ιός είναι αιτία θανατηφόρου νόσου ακόμα και στις αναπτυγμένες χώρες, όπου υπολογίζεται ότι ευθύνεται για 223,000 νοσηλείες κάθε χρόνο, 1.8 εκατομμύρια επισκέψεις σε εξωτερικά ιατρεία και 7.1 εκατομμύρια περιπτώσεις, που αντιμετωπίζονται στο σπίτι (Parashar et al., 2003).

Αν και τα ποσοστά θνητότητας στις ΗΠΑ είναι χαμηλά (20-60 θάνατοι ετησίως), η νόσος σχετίζεται με επακόλουθο βάρος. Υπολογίζεται ότι η ΟΓ από Ρότα ιό στις ΗΠΑ σχετίζεται με 410,000 επισκέψεις σε ιατρό, 205,000-272,000 επισκέψεις σε επείγοντα ιατρεία και 55,000-70,000 νοσηλείες κάθε χρόνο. Περίπου 1 στα 67 έως και 1 στα 85 παιδιά θα νοσηλευθούν λόγω Ρότα ιού μέχρι την ηλικία των 5 ετών. (Dennehy et al., 2006). Η βαρύτητα της νόσου στην Ευρώπη μπορεί να συγκριθεί στον ίδιο ή ακόμα και σε μεγαλύτερο βαθμό με τις ΗΠΑ, αν και λίγες μελέτες έχουν αναδείξει την πραγματική έκταση της νόσου (Glass et al., 1999). Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες στην Ευρώπη ο Ρότα ιός ευθύνεται για 231 θανάτους παιδιών ετησίως και αποτελεί την πιο συχνή αιτία νοσηλείας για σοβαρή ΟΓ στα παιδιά <5 ετών (Parashar et al., 2003, Soriano-Gabarro et al., 2006).

Σε παγκόσμιο επίπεδο, σύμφωνα με τον Π.Ο.Υ., ο Ρότα ιός εκτιμάται ότι προκαλεί 111 εκατομμύρια επεισόδια ΟΓ σε παιδιά μικρότερα των 5 ετών ετησίως. Από αυτά τα επεισόδια τα 18 εκατομμύρια θεωρούνται μέτριας βαρύτητας και τα 600,000 αφορούν σε θανάτους (474,000 έως 705,000 ετησίως). Οι θάνατοι από Ρότα ιό είναι συχνότεροι σε Ινδία (146,000), Νιγηρία (47,500), Κίνα (41,000), Πακιστάν (36,500), Κονγκό (29,000) και Αιθιοπία (29,000) (Glass, 2006). Οι περισσότεροι από αυτούς τους θανάτους συμβαίνουν στην Αφρική και την Ασία εξαιτίας κυρίως του υποσιτισμού και της έλλειψης πρόσβασης σε ιατρική φροντίδα (Εικόνα 9) (Glass, 2006). Η ΟΓ από Ρότα ιό μπορεί ωστόσο να αποβεί θανατηφόρα, ακόμα και όταν υπάρχει αναπτυγμένη ιατρική υποδομή, καθώς η αφυδάτωση μπορεί να είναι πολύ σοβαρή και να γίνει πολύ γρήγορα μη αναστρέψιμη (Coffin et al., 2006).



Εικόνα 9. Παγκόσμια κατανομή θανάτων λόγω ΟΓ από Ρότα ιό (δεδομένα Π.Ο.Υ. 2003).

3.2 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΚΑΙ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

Οι λοιμώξεις από Ρότα ιό μπορεί να εκδηλωθούν με ήπια έως μέτρια γαστρεντερίτιδα ή μπορεί να είναι και ασυμπτωματικές (Lundgren and Svensson, 2001, Greenberg and Estes, 2009, Hagbom et al., 2012). Τα κύρια συμπτώματα της ΟΓ από Ρότα ιό περιλαμβάνουν διάρροια, έμετο και πυρετό και μη ειδικά συμπτώματα όπως αδυναμία, κόπωση και αδιαθεσία (Linhares et al., 1983, Mata et al., 1983). Καθυστέρηση στην κένωση του στομάχου και αίσθημα βάρους έχει επίσης περιγραφεί (Bardhan et al., 1992). Μετά από επώαση δύο ημερών τα συμπτώματα ξεκινούν με πυρετό και εμέτους και στη συνέχεια ακολουθεί η διάρροια. Η διάρροια συνήθως διαρκεί 3-8 ημέρες και είναι αυτοπεριοριζόμενη, ενώ τα υπόλοιπα συμπτώματα διαρκούν 3 έως 4 ημέρες (Mata et al., 1983, Wyatt et al., 1979). Βέβαια η διάρροια έχει αναφερθεί ότι μπορεί να διαρκέσει έως και 22 ημέρες (Wyatt et al., 1979) και ειδικά στα νεογνά η διάρκειά της μπορεί να είναι μεγάλη (Black et al., 1982). Γενικά οι χαλαρές κενώσεις μπορεί να επιμείνουν για εβδομάδες (Bishop et al., 1973).

Η ασυμπτωματική λοίμωξη είναι συνηθισμένη στα νεογνά αλλά και σε παιδιά μεγαλύτερης ηλικίας. Υπολογίζεται ότι 1 στα 5 μολυσμένα βρέφη εμφανίζουν συμπτώματα κατά τη διάρκεια των 2 πρώτων μηνών της ζωής τους (Haffejee, 1991). Η ασυμπτωματική λοίμωξη στα νεογνά ερμηνεύεται από το γεγονός ότι το νεογνό κατά τη διάρκεια των πρώτων μηνών της ζωής του λαμβάνει αντισώματα μέσω του πλακούντα και του θηλασμού, που παρέχουν προστασία ενάντια στη λοίμωξη από Ρότα ιό (McLean and Holmes, 1980). Μελέτη μεταξύ παιδιών που παρακολουθούν παιδικό σταθμό έδειξε ότι η ασυμπτωματική λοίμωξη ήταν 3-4 φορές πιο συχνή από τη συμπτωματική (White et al., 2008). Επίσης η λοίμωξη από Ρότα ιό υπάρχει και στους ενήλικες, που συνήθως έρχονται σε επαφή ή φροντίζουν βρέφη, ωστόσο και σε αυτούς η νόσος που προκαλείται είναι ήπια ή και ασυμπτωματική.

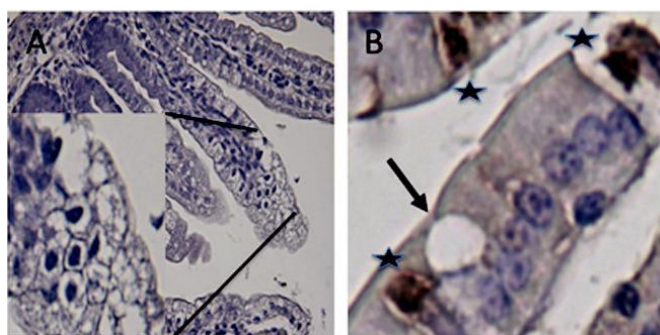
Η σοβαρότητα και ο εντοπισμός της λοίμωξης από Ρότα ιό ποικίλει ανάμεσα στα είδη ζώων αλλά η παθοφυσιολογία αφορά σχεδόν αποκλειστικά στο λεπτό έντερο. Στο λεπτό έντερο τα κύτταρα στην κορυφή των λαχνών είναι

διαφοροποιημένα με ιδιότητες τόσο πέψης, όπως η διάσπαση δισακχαριτών όσο και απορρόφησης, όπως η μεταφορά νερού και ηλεκτρολυτών μέσω μεταφορέων γλυκόζης και αμινοξέων. Τα κύτταρα των κρυπτών του εντέρου είναι αδιαφοροποίητα, που υπολείπονται σε υδρολυτικά ένζυμα και δεν απεκκρίνουν νερό και ηλεκτρολύτες. Η μόλυνση από Ρότα ιό συμβαίνει στα ώριμα μη διαχωριζόμενα εντεροκύτταρα στη μέση και στην κορυφή του επιθηλίου του λεπτού εντέρου (Lundgren and Svensson, 2001). Η προσβολή των κυττάρων των λαχνών οδηγεί σε:

1. Μειωμένη απορρόφηση άλατος και νερού και διαταραχή στην ισορροπία της απορρόφησης και έκκρισης υγρών στο έντερο
2. Εξάλειψη της δραστικότητας της δισακχαράσης και δυσαπορρόφηση των σύνθετων υδρογονανθράκων, ιδιαίτερα της λακτόζης.

Οι περισσότερες ενδείξεις υποστηρίζουν τη διαταραχή της απορρόφησης ως σημαντικότερο παράγοντα στη γέννηση της διάρροιας από Ρότα ιό.

Οι βιοψίες του λεπτού εντέρου δείχνουν σε κυτταρικό επίπεδο ότι η μόλυνση προκαλεί τη δημιουργία κενών, ατροφία και υποπλασία του επιθηλίου, μονοπύρηνη κυτταρική διήθηση, διατεταμμένο ενδοπλασματικό δίκτυο, μιτοχονδριακό οίδημα και απώλεια μικρολαχνών (Davidson and Barnes, 1979) (Εικόνα 10). Οι παθολογοανατομικές αλλοιώσεις μπορεί να μη σχετίζονται με τη βαρύτητα των κλινικών συμπτωμάτων και συνήθως λύνονται πριν την κλινική υποχώρηση της διάρροιας. Επίσης ο γαστρικός βλεννογόνος δεν προσβάλλεται παρά το συνήθη χρησιμοποιούμενο όρο γαστρεντερίτιδα.



Εικόνα 10. Ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις σε μολυσμένα από Ρότα ιό κύτταρα εντερικού επιθηλίου ποντικών.

Ο Ρότα ιός επίσης παράγει την πρωτεΐνη NSP4, που φαίνεται ότι λειτουργεί ως εντεροτοξίνη και παίζει σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία και κλινική συμπτωματολογία της νόσου (Morris et al., 1999, Ball et al., 1996, Ge et al., 2013). Συστηματική διασπορά του ιού έχει αναφερθεί αλλά είναι πολύ σπάνια και η κλινική της σημαντικότητα παραμένει αδιευκρίνιστη (Ramig, 2004). Σε μερικές περιπτώσεις το RNA του ιού έχει ανιχνευθεί στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY), πιθανώς σχετιζόμενο με μηνιγγίτιδα (Wong et al., 1984), εγκεφαλίτιδα (Salmi et al., 1978, Ushijima et al., 1986) και εγκεφαλοπάθεια (Keidan et al., 1992, Nakagomi and Nakagomi, 2005). Πολλές πρόσφατες μελέτες έχουν αναδείξει αντιγοναιμία και ιαιμία. Περιορισμένος συστηματικός πολλαπλασιασμός φαίνεται ότι συμβαίνει συχνά σε διάφορα σημεία του σώματος, αλλά υπάρχουν λίγες ενδείξεις ότι η συστηματική διασπορά και ο πολλαπλασιασμός είναι υπεύθυνα για οποιοδήποτε παθολογικό εύρημα στον ξενιστή (Nakagomi and Nakagomi, 2005, Ramani et al., 2010, Blutt et al., 2003, Fischer et al., 2005). Συμπτωματική εξωεντερική λοίμωξη είναι σπάνια σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς παρόλο που οι ανοσοκατασταλμένοι μπορεί να εμφανίσουν ηπατική και νεφρική συμμετοχή.

Σε πολύ βαριά ανοσοκατεσταλμένα βρέφη έχει αποδειχτεί ότι ο Ρότα ιός μπορεί να πολλαπλασιαστεί και να προκαλέσει βλάβες στο ήπαρ και σε άλλα όργανα (Gilger et al., 1992). Η αυξημένη ευαισθησία των βρεφών (σε σύγκριση με τα άλλα παιδιά και τους ενήλικες) στην εμφάνιση σοβαρής νοσηρότητας και θνησιμότητας από τους ιούς της γαστρεντερίτιδας μπορεί να σχετίζεται με διάφορους παράγοντες, όπως μειωμένη εφεδρική εντερική λειτουργία, έλλειψη ειδικής ανοσίας και μειωμένους μη ειδικούς μηχανισμούς άμυνας όπως το γαστρικό υγρό και η βλέννη. Τέλος η ιογενής γαστρεντερίτιδα στα βρέφη ευνοεί σε μεγάλο βαθμό τη διαπερατότητα του εντερικού αυλού από μακρομόρια και έχει ενοχοποιηθεί για αύξηση του κινδύνου τροφικών αλλεργιών.

3.3 ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΑΝΤΗΣΗ ΠΑΙΔΙΩΝ ΣΕ ΛΟΙΜΩΞΗ ΑΠΟ ΡΟΤΑ ΙΟ

Η μόλυνση από Ρότα ιό ενεργοποιεί πολλούς προστατευτικούς μηχανισμούς στον άνθρωπο-ξενιστή. Οι μηχανισμοί, που είναι υπεύθυνοι για την ανοσολογική απάντηση στη λοίμωξη από Ρότα ιό δεν είναι ακριβώς γνωστοί. Υπάρχουν μοντέλα ζώων, που είναι χρήσιμα για την ανακάλυψη του ρόλου των αντισωμάτων και της συστηματικής και τοπικής ανοσίας στη λοίμωξη από Ρότα ιό (Desselberger and Huppertz, 2011). Στους ανθρώπους φαίνεται ότι η λοίμωξη από Ρότα ιό προκαλεί χυμική ανοσολογική απάντηση η οποία αυξάνεται με κάθε νέα λοίμωξη μειώνοντας τη σοβαρότητα της διάρροιας (Velazquez et al., 1996). Φαίνεται ότι υπάρχει αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ αυξημένου τίτλου IgG και IgA αντισωμάτων και μειωμένου κινδύνου για λοίμωξη από Ρότα ιό (Desselberger and Huppertz, 2011).

Ο προστατευτικός μηχανισμός της συμπτωματικής πρώτης λοίμωξης από Ρότα ιό απέναντι σε ακόλουθες λοιμώξεις παρατηρήθηκε πρώτα από την Bishop σε τριετή μελέτη παρακολούθησης βρεφών, που είχαν λοίμωξη από Ρότα ιό σε νεογνική ηλικία (Bishop et al., 1983). Η νεογνική λοίμωξη από Ρότα ιό επίσης μελετήθηκε στην Ινδία από τους Bhan και συνεργάτες, που παρατήρησαν ότι νεογνά, που μολύνονταν από Ρότα ιό κατά τη διάρκεια νοσηλείας τους είχαν αργότερα λιγότερο σοβαρή έως και ασυμπτωματική λοίμωξη από Ρότα ιό (Bhan et al., 1993). Στο Μεξικό οι Valazquez και συνεργάτες βρήκαν ότι η πρώτη λοίμωξη από Ρότα ιό παρείχε 87% προστασία από την εμφάνιση σοβαρής διάρροιας σε επόμενες μολύνσεις και η τρίτη λοίμωξη από Ρότα ιό παρείχε 99% προστασία απέναντι στη σοβαρή διάρροια (Velazquez et al., 1996). Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι η ανοσία από Ρότα ιό δεν προστατεύει από τη επαναλοίμωξη αλλά προφυλάσσει από τη βαρύτητα της νόσου σε περίπτωση επαναλοίμωξης. Μία διετής μελέτη 200 νεογέννητων, έδειξε ότι κανένα παιδί δεν ανέπτυξε μέτρια ή σοβαρή διάρροια, αν είχαν προηγηθεί δύο προηγούμενες μολύνσεις ανεξάρτητα από το αν οι προηγούμενες μολύνσεις ήταν συμπτωματικές ή ασυμπτωματικές. (Velazquez et al., 1996).

Η ανοσολογική απάντηση σε λοίμωξη από Ρότα ιό περιλαμβάνει συστηματική απάντηση και απάντηση στους βλεννογόνους. Για να ξεκινήσει η συστηματική

απάντηση το αντιγόνο του Ρότα ιού παρουσιάζεται από αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα στα Τ βοηθητικά κύτταρα για την περαιτέρω ενεργοποίηση της Β και Τ κυτταρικής απάντησης. Τα Β κύτταρα προέρχονται από τις πλάκες Peyer και περιλαμβάνουν αντιγονο-εκκριτικά Β κύτταρα, που παράγουν στο χόριο του βλεννογόνου αντισώματα IgA (εντερικά IgA) και μνημονικά Β κύτταρα, που επιστρέφουν στις πλάκες Peyer's. Επίσης το F ιικό αντιγόνο επάγει τη δημιουργία δύο ειδών Β κυττάρων στο σπλήνα (αντιγόνο-εκκριτικά και κύτταρα μνήμης). Τα μνημονικά Β κύτταρα κυκλοφορούν στην κυκλοφορία του αίματος πριν από την επιστροφή στο σπλήνα, ενώ τα αντιγονο-εκκριτικά Β κύτταρα μεταφέρονται στο μυελό των οστών και εκκρίνουν στον ορό μονομερή IgG και IgA (Gonzalez et al., 2003).

Σύμφωνα με διάφορες μελέτες φαίνεται ότι η χυμική ανοσία, που αποκτάται από την πρωτοπαθή λοίμωξη είναι αυτή που σχετίζεται με το βαθμό προστασίας (Velazquez et al., 1996, Fischer et al., 2002, Bernstein et al., 1991). Αν και αναπτύσσονται δύο ορολογικά αντισώματα IgG και IgA μετά από λοίμωξη με Ρότα ιό μόνο τα ορολογικά IgA επίπεδα φαίνεται ότι σχετίζονται με το επίπεδο προστασίας και η IgA ορού χρησιμοποιείται ως ένδειξη προστασίας ενάντια στη σοβαρότητας της λοίμωξης από Ρότα ιό. (Offit, 2001, Hjelt et al., 1987). Παρόλο που η IgA ορού αποτελεί ένδειξη και της εντερικής IgA, η τελευταία έχει έναν ανεξάρτητο ρόλο στην κλινική προστασία μέσα από την ενδοκυτταρική εξουδετέρωση του ιού (Franco et al., 2006). Ο ρόλος της IgG στην προστασία είναι λιγότερο ξεκάθαρος. Σε μελέτη από το Μεξικό οι υψηλότεροι τίτλοι IgG έδειξαν ότι προστατεύουν τα παιδιά από τη λοίμωξη από Ρότα ιό και όχι από τη νόσο (Velazquez et al., 2000), ενώ σε μελέτη που έγινε στο Μπαγκλαντές, η IgG απάντηση βρέθηκε να σχετίζεται με προστασία από τη σοβαρή κλινική εκδήλωση της νόσου (Clemens et al., 1992).

3.4 ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Οι εργαστηριακές μέθοδοι ανίχνευσης του Ρότα ιού είναι:

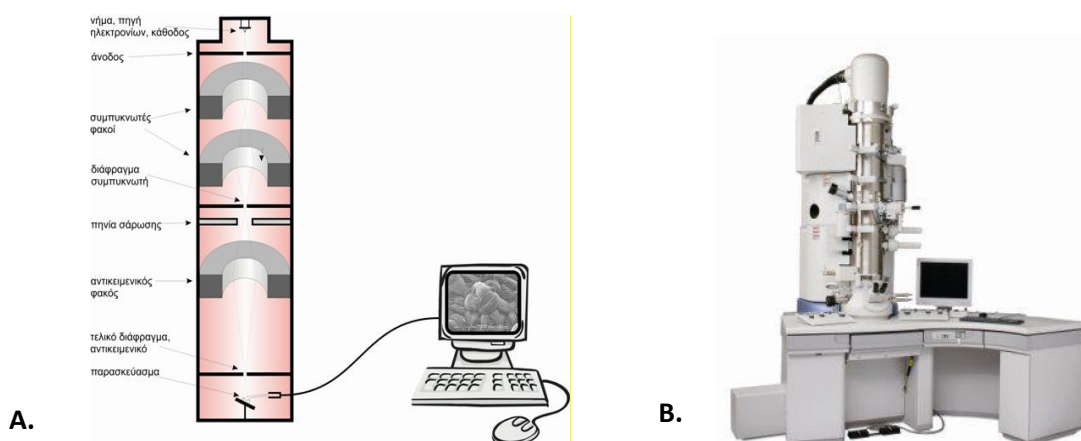
- Ηλεκτρονική μικροσκόπηση των κοπράνων με πολύ χαμηλή ευαισθησία: 10^5 έως 10^6 ιικά σωματίδια/ml.
- Μοριακές τεχνικές, που χρησιμοποιούνται κυρίως για ερευνητικούς σκοπούς, αλλά έχουν πολύ υψηλή ευαισθησία 10^1 έως 10^2 ιικά σωματίδια/ml. Τέτοιες είναι η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης με αντίστροφη μεταγραφή (RT-PCR), η real time PCR με αντίστροφη μεταγραφή (qRT-PCR), η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης με μικροσυστοιχίες (Microarrays) και η αλληλούχιση γονιδιώματος (Sequencing) για την ανίχνευση των G και P γονοτύπων.
- Γρήγορες ποιοτικές διαγνωστικές δοκιμασίες, που ανιχνεύουν το αντιγόνο VP6 του Ρότα ιού ομάδας Α. Αν και έχουν μικρή ευαισθησία (10^5 μόρια αντιγόνου ή αντισώματος/ml), διεξάγονται εύκολα και γρήγορα και χρειάζονται μικρή μόνο ποσότητα από δείγμα κοπράνων για να πραγματοποιηθούν. Βασίζονται σε τρεις ανοσολογικές τεχνικές:
 - μέθοδοι ενζυμικής ανοσοαπορρόφησης, EIA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, όπως η ELISA)
 - ανοσοχρωματογραφία, ICT (Immunochromatographic test)
 - μέθοδοι συγκόλλησης latex (PPAT)

Οι παραπάνω μέθοδοι αναλύονται παρακάτω:

3.4.1. Ηλεκτρονική μικροσκόπηση

Η χρήση του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου είναι η μόνη μέθοδος, που επιτρέπει την άμεση επισκόπηση των ιών και γι' αυτό έχει επιπλέον εφαρμογές πέραν της αμιγούς διάγνωσης. Πληροφορίες για την ταυτότητα ενός ιού παρέχονται από την εμφάνιση του νουκλεοκαψιδίου (μέγεθος, σχήμα) και από την ενδοκυτταρική θέση του πυρήνα σε σχέση με το κυτταρόπλασμα. Η προετοιμασία των δειγμάτων και η τεχνική της αρνητικής χρώσης είναι σχετικά απλές και γρήγορες διαδικασίες, ωστόσο η ηλεκτρονική μικροσκόπηση απαιτεί ακριβό εξοπλισμό και κατάλληλα καταρτισμένο

προσωπικό. Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο μπορεί να ανιχνεύσει ιούς, που είναι δύσκολο να καλλιεργηθούν και χρησιμοποιείται ευρέως κατά την διάρκεια επιδημίας αγνώστου αιτιολογίας. Ωστόσο, το όριο ευαισθησίας είναι κατά προσέγγιση 10^6 ιικά σωματίδια/ml, γεγονός που καθιστά δύσκολη την ανίχνευση μετά τις πρώτες μέρες της λοίμωξης, όταν το ιικό φορτίο μειώνεται κάτω από αυτό το όριο.



Εικόνα 11. Α. Σχηματική εικόνα ηλεκτρονικού μικροσκοπίου, Β. Πραγματική εικόνα ηλεκτρονικού μικροσκοπίου.

3.4.2. Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης με αντίστροφη μεταγραφή (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction, RT-PCR)

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης, PCR (Polymerase Chain Reaction), είναι μία μέθοδος μοριακής βιολογίας για την απομόνωση και τον πολλαπλασιασμό μίας αλληλουχίας DNA, μέσω της ενζυμικής αναπαραγωγής του DNA. Η αρχή λειτουργίας της PCR είναι ότι το DNA επωάζεται με περίσσεια ολιγονουκλεοτιδίων συγκεκριμένης αλληλουχίας, “εκκινητών” (primers), που επιτρέπει την ενισχυμένη σύνθεση της αναζητούμενης περιοχής από μία DNA πολυμεράση, που διατηρείται σταθερή στις υψηλές θερμοκρασίες. Τα βήματα, που ακολουθούνται είναι; αλληπαλλήλοι κύκλοι διαχωρισμού των διπλών κλώνων DNA σε υψηλή θερμοκρασία, υβριδισμός των εκκινητών με τις συμπληρωματικές αλληλουχίες στο μονόκλωνο πλέον γονιδίωμα, σύνθεση DNA στην μεταξύ τους περιοχή και εκ νέου διαχωρισμός των κλώνων, που παρήχθησαν. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται εκθετικός

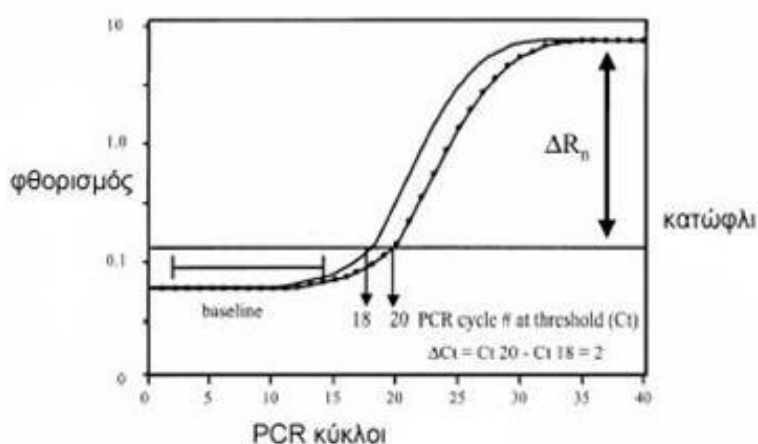
πολλαπλασιασμός της περιοχής, που μας ενδιαφέρει. Ακολουθεί ηλεκτροφόρηση σε αγαρόζη και χρώση με αιθυλοβρωμίδιο, ουσία, που παρεμβάλλεται ανάμεσα στα ζεύγη των βάσεων του δίκλωνου DNA και φθορίζει από υπεριώδη ακτινοβολία, για να διαπιστωθεί η ύπαρξη και το μέγεθος του προϊόντος της PCR. Σε περίπτωση RNA ιών, όπως ο Ρότα ιός, προηγείται στάδιο αντίστροφης μεταγραφής (RT-PCR - Reverse transcription PCR) του RNA σε DNA με τη βοήθεια του ενζύμου ανάστροφη τρανσκριπτάση, προτού γίνει η ανίχνευση του γενετικού υλικού. Η PCR συνδυάζει υψηλή ειδικότητα, ευαισθησία και ταχύτητα καθώς μπορεί να δώσει αποτέλεσμα εντός λίγων ωρών. Η ειδικότητα της διάγνωσης εξασφαλίζεται με την επιλογή εκκινητών κατάλληλης αλληλουχίας, που συνδέονται μόνο με το DNA του συγκεκριμένου είδους. Η συμβατική PCR είναι ποιοτική μέθοδος με υψηλό κόστος, που έχει κίνδυνο ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων λόγω επιμόλυνσης ή ψευδώς αρνητικών σε περίπτωση ανεπαρκούς δείγματος.

3.4.3. Real-time PCR

Η real-time PCR βασίζεται στην μεθοδολογία της ποσοτικής PCR και πρωτοεμφανίστηκε το 1993 από τον Higuchi και τους συνεργάτες του. Πρόκειται για μία ποσοτική αντίδραση PCR κατά την οποία η μεγέθυνση του DNA στόχου και η ανίχνευση του προϊόντος γίνονται ταυτόχρονα στο ίδιο σωληνάριο, διότι το προϊόν που παράγεται συνδέεται με φθορίζουσα χρωστική, που ανιχνεύεται από το οπτικό σύστημα του ειδικού κυκλοποιητή που χρησιμοποιείται. Με το όργανο αυτό καταγράφεται η κινητική της μεγέθυνσης του DNA από την ένταση του σήματος φθορισμού, που αντανακλά το ποσό του συντιθέμενου νέου DNA. Έτσι μπορεί να μετρηθεί επακριβώς το ποσό του DNA., που έχει παραχθεί

Η real-time PCR μετράει τα προϊόντα PCR καθώς συσσωρεύονται ή μετράει σε πραγματικό χρόνο το ποσό των PCR προϊόντων σε σημείο, όπου η αντίδραση βρίσκεται ακόμη στην εκθετική φάση, χρησιμοποιώντας την τεχνολογία των φθορίζουσών χρωστικών. Συγκεκριμένα κατά τη διάρκεια της αντίδρασης PCR ένα κατώφλι- σήμα φθορίζουσας χρωστικής καθορίζει σε πιο σημείο όλα τα δείγματα μπορούν να συγκριθούν. Αυτό το κατώφλι υπολογίζεται ως συνάρτηση του ποσού

του υπόβαθρου της φθορίζουσας χρωστικής και τελικά ο κλασματικός αριθμός των κύκλων PCR που απαιτούνται για να παράγουν αρκετό σήμα φθορίζουσας χρωστικής που θα φθάσει σε αυτό το κατώφλι χαρακτηρίζεται ως κατώφλι κύκλου (cycle threshold, Ct). Οι τιμές Ct εξαρτώνται απόλυτα από το αρχικό ποσό του δείγματος και είναι η βάση για τον υπολογισμό των DNA αντιγράφων ή των επιπέδων έκφρασης του mRNA (Εικόνα 12). Η ικανότητα ελέγχου της προόδου του πολλαπλασιασμού του DNA σε πραγματικό χρόνο, η οποία επιτυγχάνεται κατά τη μεθοδολογία της real-time PCR, πραγματοποιείται με τη βοήθεια ειδικών χημικών αντιδράσεων και ανιχνευτών (probes). Σε γενικές γραμμές, χρησιμοποιούνται σημασμένοι ανιχνευτές διαφόρων τύπων, όπου ο καθένας έχει μοναδικά χαρακτηριστικά, αλλά η στρατηγική είναι απλή για όλους, δηλαδή πρέπει να προκαλέσουν μια αλλαγή κατά τον πολλαπλασιασμό του DNA. Με τη real-time PCR, εκτός από την ποσοτική ανάλυση του προϊόντος της PCR, γίνεται και ποιοτική ανάλυση με βάση τη μελέτη της καμπύλης τήξης του προϊόντος (melting curve analysis).



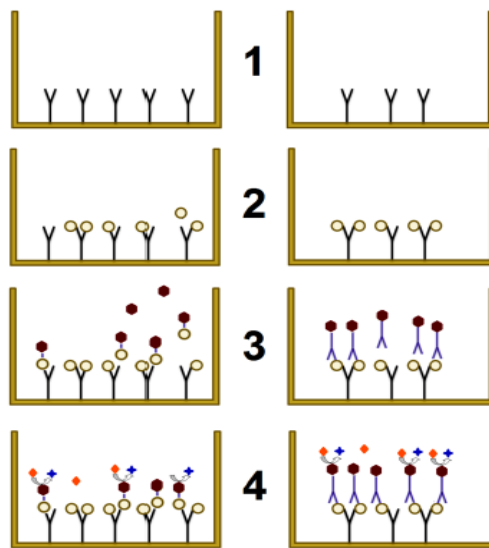
Εικόνα 12. Υποθετική γραφική παράσταση πολλαπλασιασμού σε πειράματα real-time PCR. Η γραφική παράσταση πολλαπλασιασμού είναι η συνάρτηση του φθορισμού σε σχέση με τον αριθμό των κύκλων. Ως βάση ορίζονται οι κύκλοι PCR κατά τους οποίους το σήμα συσσωρεύεται μεν αλλά είναι κάτω από τα όρια ανίχνευσης από το μηχάνημα. Αυτό το σήμα χρησιμοποιείται για τη χάραξη του κατωφλίου.

3.4.4. Μέθοδοι ενζυμικής ανοσοαπορρόφησης (ELISA)

Η ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) είναι μία διαδεδομένη βιοχημική δοκιμή, η οποία χρησιμοποιεί μέθοδο ενζυματικής ανοσοανίχνευσης (EIA) με σκοπό την ανίχνευση μίας ουσίας, συνήθως ενός αντιγόνου, σε ένα υγρό δείγμα. Η ονομασία ELISA συνοψίζει μόνο την αρχή λειτουργίας της τεχνικής. Πρακτικώς δεν αναφέρεται σε μια συγκεκριμένη τεχνική, καθώς υπάρχει μια μεγάλη ποικιλία τεχνικών που χαρακτηρίζονται με αυτό το όνομα, αλλά στην ιδέα που βασίζονται όλες αυτές οι τεχνικές. Η υλοποίηση μίας τέτοιας δοκιμής προϋποθέτει τουλάχιστον ένα αντίσωμα με εξειδίκευση σε ένα συγκεκριμένο αντιγόνο. Η διαδικασία ανίχνευσης και αξιολόγησης της παρουσίας ενός αντιγόνου στο εκάστοτε δείγμα είναι η εξής; σε πρώτο στάδιο, το δείγμα με έναν άγνωστο αριθμό αντιγόνων ακινητοποιείται πάνω σε μία στερεή βάση/πλάκα. Έπειτα προστίθεται το ειδικό αντίσωμα ανίχνευσης για το είδος των αντιγόνων του δείγματος σχηματίζοντας ένα σύμπλεγμα. Το αντίσωμα ανίχνευσης μπορεί να είναι ομοιοπολικώς συνδεδεμένο με ένα ένζυμο ή μπορεί να ανιχνευθεί με τη σειρά του από ένα δευτερεύον αντίσωμα συνδεδεμένο με ένα ένζυμο με βιο-σύζευξη. Ανάμεσα σε κάθε στάδιο, η πλάκα πλένεται με ένα ήπιο διάλυμα απορρυπαντικού, ώστε να απομακρυνθούν τυχούσες πρωτεΐνες ή αντισώματα, που δε δεσμεύτηκαν. Μετά το τελικό στάδιο πλύσης, προστίθεται στην πλάκα ένα ενζυματικό υπόστρωμα για να παράγει ένα ορατό σήμα, το οποίο υποδεικνύει την ποσότητα του αντιγόνου στο δείγμα. Το σήμα αυτό είναι συνήθως η αλλαγή χρώματος του υποστρώματος (Εικόνα 13).

3.4.5. Ανοσοχρωματογραφία

Οι ανοσοχρωματογραφικές τεχνικές προτείνονται πιο πολύ από τη συγκόλληση latex ή την ELISA, καθώς έχουν χαμηλότερο όριο ανίχνευσης του ιού και τον ανιχνεύουν ακόμα και σε μικρά ιϊκά φορτία. Η διεξαγωγή τους είναι εύκολη, χρειάζεται μικρή ποσότητα δείγματος χωρίς να είναι απαραίτητο να προηγηθεί καθίζηση του διαλύματος κοπράνων, γεγονός που τις κάνει γρήγορες. Τα αποτελέσματα από την ανοσοχρωματογραφία είναι διαθέσιμα σε λίγα λεπτά, γεγονός αξιοσημείωτο συγκριτικά με άλλες τεχνικές, που μπορεί να διαρκούν ώρες.



Εικόνα 13. Τα τυπικά στάδια μιας μεθοδολογίας ELISA. Αριστερά φαίνεται μία ανταγωνιστική μεθοδολογία, όπου τα ακινητοποιημένα αντισώματα δέχονται τα αντιγόνα του δείγματος, καθώς και τα σημασμένα αντιγόνα με κατάλληλο ένζυμο. Δεξιά φαίνεται μία μη ανταγωνιστική μεθοδολογία, όπου τα αντιγόνα του ασθενούς καλύπτουν σχεδόν εξ'ολοκλήρου τα ακινητοποιημένα αντισώματα και δέχονται πάνω τους μία δεύτερη ομάδα σημασμένων αντισωμάτων με κατάλληλο ένζυμο. Και στις δύο περιπτώσεις το ένζυμο αντιδρά με το υπόστρωμα και παράγει έγχρωμο σήμα.

Σύμφωνα με κλινικές δοκιμές έχουν μεγαλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα συγκριτικά με άλλες δοκιμασίες, όπως το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ή η μοριακή ανίχνευση του γονιδιώματος του ιού. Στην αγορά υπάρχουν πολλά τεστ, που βασίζονται στην ανοσοχρωματογραφία, μερικά από τα οποία ανιχνεύουν ταυτόχρονα την παρουσία Ρότα και Άδενο ιού στα κόπρανα. Οι τεχνικές αυτές είναι χρήσιμες, γιατί οδηγούν σε γρήγορη απομόνωση των νοσούντων και βοηθούν να αποφευχθεί η αλόγιστη χρήση αντιβιοτικών.

Μία από αυτές είναι και η ταχεία μέθοδος VIKIA® ROTA-ADENO. Πρόκειται για ταχεία εξέταση για την ποιοτική διπλή ανίχνευση του Ρότα και Άδενο ιού σε ανθρώπινα κόπρανα. Βασίζεται στην τεχνική ανοσολογικής χρωματογραφίας (ICT) με χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων ειδικών για Ρότα και Άδενο ιό αντίστοιχα. Η εξέταση αυτή χρησιμοποιεί ανοσολογικές αντιδράσεις, που εκτελούνται σε μια ταινία

εξέτασης με μετακίνηση ICT ή πλάγιας ροής. Αποτελείται από μια πλαστική συσκευή που περιέχει:

1. μια χρωματογραφική μεμβράνη, στην οποία είναι στερεωμένα στην περιοχή εξέτασης ένα μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι Ρότα ιού (περιοχή εξέτασης R) και ένα μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι Άδενο ιού (περιοχή εξέτασης A) και στην περιοχή ελέγχου ένα πολυκλωνικό αντίσωμα αντι-ποντικού IgG (περιοχή ελέγχου C).
2. μια ταινία εξέτασης εμποτισμένη με ένα σύζευγμα, που αποτελείται από ένα μίγμα μονοκλωνικού αντισώματος αντι-Ρότα ιού συζευγμένο με μικροσφαιρίδια πολυστυρενίου κυανού χρώματος και μονοκλωνικό αντίσωμα αντι-Άδενο ιού συζευγμένο με μικροσφαιρίδια πολυστυρενίου ερυθρού χρώματος. Το δείγμα προστίθεται στην κυψέλη δείγματος και μετακινείται μέσω τριχοειδούς φαινομένου κατά μήκος της μεμβράνης. Εάν το δείγμα περιέχει Ρότα ιούς σχηματίζεται ένα σύμπλεγμα αντιγόνου-αντισώματος με τα αντισώματα ειδικά προς αυτόν τον ιό, που βρίσκονται στα μικροσφαιρίδια πολυστερενίου κυανού χρώματος. Εάν το δείγμα περιέχει Αδενοϊούς σχηματίζεται ένα σύμπλεγμα αντιγόνου-αντισώματος με τα αντισώματα ειδικά προς αυτόν τον ιό, που βρίσκονται στα μικροσφαιρίδια πολυστερενίου ερυθρού χρώματος. Τα συμπλέγματα αντιγόνου-αντισώματος μετακινούνται κατά μήκος της μεμβράνης και δεσμεύονται με τα αντισώματα αντι-Ρότα ιού και/ή αντι-Άδενο ιού σχηματίζοντας συμπλέγματα, που αποκαλύπτονται από μια κυανή και/ή ερυθρή γραμμή στις περιοχές της γραμμής εξέτασης R ή A της μεμβράνης.

Ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα μπορεί να προκύψουν, εάν ο αριθμός των ιϊκών σωματιδίων είναι πολύ χαμηλός. Ψευδώς θετικά και/ή μη ερμηνεύσιμα αποτελέσματα μπορεί να παρατηρηθούν εάν η ποσότητα κοπράνων είναι πολύ μεγάλη. Ένα θετικό αποτέλεσμα δεν αποκλείει την παρουσία άλλων παθογόνων μικροοργανισμών στα κόπρανα. Τέλος τα αποτελέσματα πρέπει να ερμηνεύονται λαμβάνοντας υπόψη τα κλινικά δεδομένα.

3.5 ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Πρωταρχικός στόχος στη θεραπεία της ΟΓ από Ρότα ιό είναι η πρόληψη και αντιμετώπιση της αφυδάτωσης και δεύτερος στόχος είναι η συντήρηση της θρέψης του ασθενούς. Μελέτες δεν έχουν δείξει όφελος από τη χρήση αντιεμετικών ή αντιδιαρροικών φαρμάκων και υπάρχει σημαντικός κίνδυνος για σοβαρές παρενέργειες από τη χρήση τους. Θεραπεία με προβιοτικά, όπως οι λακτοβάκιλλοι, έχει αποδειχθεί ότι βοηθάει μόνο σε ήπιες περιπτώσεις και όχι όταν υπάρχει αφυδάτωση.

Η ενυδάτωση από του στόματος είναι εφικτή στους περισσότερους ασθενείς με ήπια προς μέτρια αφυδάτωση, ενώ η σοβαρή αφυδάτωση απαιτεί άμεση ενδοφλέβια θεραπεία. Τα νεότερα διαλύματα για ενυδάτωση από το στόμα περιέχουν κατάλληλη ποσότητα νατρίου και γλυκόζης προάγοντας την ιδανική απορρόφηση υγρών από το έντερο. Δεν υπάρχουν ενδείξεις ότι συγκεκριμένη πηγή υδατανθράκων (ρύζι) ή η προσθήκη αμινοξέων βελτιώνουν την αποτελεσματικότητα αυτών των διαλυμάτων στα παιδιά με ιογενή γαστρεντερίτιδα. Άλλα υγρά όπως η σόδα, ο φρουτοχυμός και τα ροφήματα για αθλητές είναι ακατάλληλα για ενυδάτωση μικρών παιδιών με σημαντικές απώλειες στις κενώσεις τους. Η ενυδάτωση από τη στοματική (ή τη ρινογαστρική) οδό θα πρέπει να γίνεται μέσα σε 6-8 ώρες. Η παροχή των υγρών ενυδάτωσης με αργό, σταθερό ρυθμό, τυπικά 5 ml/λεπτό, μειώνει τους εμέτους και βελτιώνει την επιτυχία θεραπείας από το στόμα. Τα διαλύματα ενυδάτωσης θα πρέπει να συνεχίζονται ως συμπλήρωμα, ώστε να αναπληρώνονται οι συνεχιζόμενες σημαντικές απώλειες με τα κόπρανα. Έναρξη υγρών ενδοφλεβίως απαιτείται για ασθενείς με ακατάσχετους εμέτους ή σε κατάσταση καταπληξίας.

Αφού επιτευχθεί ενυδάτωση, η εγκατάσταση μιας φυσιολογικής διατροφής για την ηλικία έχει αποδειχθεί ότι οδηγεί σε ταχύτερη ανάρρωση από ιογενή γαστρεντερίτιδα. Η παρατεταμένη >12 ώρες χορήγηση αποκλειστικά υγρών ή αραιωμένου τροποποιημένου γάλακτος δεν έχει κλινικό όφελος και στην ουσία παρατείνει τη διάρκεια της διάρροιας. Ο μητρικός θηλασμός θα πρέπει να

συνεχίζεται ακόμα και στη διάρκεια της ενυδάτωσης. Κάποια βρέφη μπορεί να ωφεληθούν από γεύματα χωρίς λακτόζη (όπως το γάλα σόγιας ή το γάλα αγελάδας-ελεύθερο λακτόζης) για αρκετές ημέρες, παρόλο που αυτό δεν είναι απαραίτητο για τα περισσότερα παιδιά. Οι υποθερμιδικές δίαιτες χαμηλές σε πρωτεΐνες και λίπος, όπως η BRAT (μπανάνα, ρύζι, δημητριακά, χυμός μήλου και τοστ) δεν φαίνεται να υπερέχουν έναντι της συνηθισμένης διατροφής.

3.6 ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΛΗΨΗ

Τα παιδιά στη διάρκεια των πέντε πρώτων χρόνων της ζωής τους νοσούν από Ρότα ιό με μειωμένη βαρύτητα σε κάθε νέο επεισόδιο. Μετά την αρχική φυσική λοίμωξη τα παιδιά έχουν μικρή προστασία έναντι επόμενων ασυμπτωματικών λοιμώξεων (38%) και μεγαλύτερη προστασία έναντι ήπιας (73%) και μέτριας προς σοβαρής διάρροιας (87%). Μετά τη δεύτερη φυσική λοίμωξη η προστασία αυξάνεται έναντι επόμενων ασυμπτωματικών λοιμώξεων (62%) και έναντι ήπιας διάρροιας (75%) και είναι πλήρης (100%) έναντι μέτριας προς σοβαρής διάρροιας. Μετά την τρίτη φυσική λοίμωξη, υπάρχει ακόμα μεγαλύτερη προστασία έναντι επόμενης ασυμπτωματικής λοίμωξης (74%) και σχεδόν πλήρης προστασία έναντι ακόμα και έναντι ήπιας διάρροιας (99%). Θάνατοι λόγω ΟΓ από Ρότα ιό συμβαίνουν σε βρέφη, που δεν έχουν πρόσβαση σε ιατρική φροντίδα και οφείλονται στην αφυδάτωση.

Η καλή υγιεινή μειώνει τη μετάδοση της γαστρεντερίτιδας από Ρότα ιό, αλλά ακόμα και στις κοινωνίες με πολύ υψηλές συνθήκες υγιεινής, κυριολεκτικά όλα τα παιδιά μολύνονται λόγω της υψηλής λοιμογόνου ικανότητας του Ρότα ιού. Το καλό πλύσιμο των χεριών και οι διαδικασίες απομόνωσης των νοσούντων μπορεί να βοηθήσουν στον έλεγχο των νοσοκομειακών επιδημιών. Ο ρόλος του μητρικού θηλασμού στην πρόληψη ή τη μείωση της βαρύτητας της λοίμωξης από Ρότα ιό ίσως είναι μικρός σύμφωνα με τον ποικίλο βαθμό προστασίας, που παρατηρήθηκε σε κάποιες μελέτες. Τα εμβόλια προσφέρουν τις περισσότερες ελπίδες για τον έλεγχο της βαρύτητας και του αριθμού των επαναλοιμώξεων από Ρότα ιό.

4. ΕΜΒΟΛΙΑ ΡΟΤΑ ΙΟΥ

Η ανάπτυξη ζώντος εξασθενημένου πόσιμου εμβολίου έναντι του Ρότα ιού ξεκίνησε στα μέσα της δεκαετίας του 1970, όταν ερευνητές βρήκαν ότι προηγούμενη λοίμωξη με ζωικό στέλεχος από Ρότα ιό προστάτευσε πειραματόζωα, που μολύνονταν στη συνέχεια με ανθρώπινο στέλεχος Ρότα ιού (Zissis et al., 1983).

Η διαφορά στην αποτελεσματικότητα των εμβολίων ανά τον κόσμο μπορεί να αποδοθεί σε διάφορους λόγους, όπως η διαφορά στη σύνθεση της εντερικής μικροχλωρίδας, η παρουσία συλλοιμώξεων από άλλα εντεροπαθογόνα τη στιγμή του εμβολιασμού και η διαφορετικότητα των επιτόπων των αντιγόνων της ομάδας αίματος με τους οποίους συνδέεται ο Ρότα ιός στα εντερικά κύτταρα. Οι αναφορές για αυξημένο κίνδυνο εγκολεασμού μετά την εφαρμογή των εμβολίων (1-2 επιπλέον περιστατικά ανά 100.000 εμβολιασμένα βρέφη) παρόλο που έχουν καταγραφεί δε φαίνεται να υποσκελίζουν τη συνεισφορά των εμβολίων στη μείωση της νοσηρότητας από την ΟΓ (Patel et al., 2011, Yih et al., 2014)

4.1 ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΟ ΕΜΒΟΛΙΟ ΜΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ-ΒΟΟΕΙΔΕΣ ΣΤΕΛΕΧΟΣ (HUMAN-BOVINE WC3, ROTATEQ®)

Το εμβόλιο WC3 βοοειδούς προέλευσης (G6P7[5]), που απομονώθηκε από βοοειδές και αναπτύχθηκε σε C1 κυτταρικές σειρές έδειξε χαμηλή αποτελεσματικότητα, όταν δοκιμάστηκε μόνο του και γι αυτό ακολούθησαν περαιτέρω ανασυνδυασμοί βασιζόμενοι στο WC3 στέλεχος. Οι ανασυνδυασμοί περιελάμβαναν τα αντιγόνα VP7 και VP4 ανθρώπινων και βοοειδών στελεχών και διάφοροι συνδυασμοί γονοτύπων δοκιμάστηκαν πριν από την τελική σύνθεση του πενταδύναμου εμβολίου (Clark et al., 1990, Clark et al., 1996). Μετά την επιτυχία μελετών, που χρησιμοποίησαν διδύναμα και τετραδύναμα εμβόλια, δημιουργήθηκε το πενταδύναμο RV5 εμβόλιο, που περιελάμβανε 5 ανθρώπινα-βοοειδή ανασυνδυασμένα στελέχη Ρότα ιού. Και οι 5 διαθέσιμοι συνδυασμοί (G1-G2, G1-G3 με P1A[8], G1-G4, G1-G4 με P1A[8] και P1A[8]) χρησιμοποιήθηκαν σε μία Φιλανδική μελέτη, που απέδειξε ότι όλοι είναι αποτελεσματικοί απέναντι στην ΟΓ από Ρότα ιό,

χωρίς σημαντικές διαφορές στον πυρετό, τον έμετο ή τη διάρροια, όταν χρησιμοποιούνται σε διαφορετικούς συνδυασμούς εμβολίων (Vesikari et al., 2006a). Στην τελική πενταπλή σύνθεση, τέσσερις ιοί φέρουν εξωτερικό καψίδιο VP7 από ανθρώπινα πατρικά στελέχη G1, G2, G3 και G4 (προερχόμενα από τα στελέχη WI79-9, SC2-9, WI78-8 και WI79-4 αντίστοιχα) και το VP4 αντιγόνο από το βοοειδές στέλεχος P7[5], ενώ ο πέμπτος ιός εκφράζει την VP4 πρωτεΐνη P1A[8] ανθρώπινης προέλευσης συνδυασμένη με το VP7 αντιγόνο από το στέλεχος G6 (WC3) βοοειδούς καταγωγής (Vesikari et al., 2006a). Το πενταπλό ανθρώπινο-βοοειδές ανασυνδυασμένο εμβόλιο έλαβε άδεια στις ΗΠΑ και την Ευρώπη το 2006 και κυκλοφόρησε με την ονομασία RotaTeq® (Sanofi Pasteur-MSD).

Το 2001-2005 διεξήχθη μεγάλη πολυεθνική μελέτη αποτελεσματικότητας και ασφάλειας του πενταδύναμου εμβολίου σε 11 χώρες και σχεδόν 70,000 βρέφη (23,500 από Φιλανδία) πήραν μέρος (Vesikari et al., 2006b). Τα αποτελέσματα της μελέτης Rotavirus Efficacy and Safety Trial (REST) έδειξαν ότι το εμβόλιο προστάτευσε 100% έναντι της σοβαρής ΟΓ από Ρότα ιό και 73% έναντι της ΟΓ από Ρότα ιό οποιασδήποτε βαρύτητας ακόμα από την πρώτη κιόλας δόση και μείωσε κατά 86% τις επισκέψεις σε ιατρείο λόγω ΟΓ από Ρότα ιό (αφορά στην ΟΓ από τους γονότυπους G1-G4). Ο εμβολιασμός διεξήχθη σε τριπλό δοσολογικό σχήμα, ξεκινώντας από βρέφη 6-12 μηνών και κανένας αυξημένος κίνδυνος εγκολεασμού δε σχετίστηκε με το εμβόλιο. Μετά τη μελέτη REST ακολούθησε η Φιλανδική μελέτη επέκτασης Finnish Extension Study (FES), στην οποία 89% των παιδιών (21,000 βρέφη), που πήραν μέρος στη μελέτη REST συνέχισαν να παρακολουθούνται για περίπου 3.1 χρόνια μετά την πρώτη δόση εμβολίου. Τα αποτελέσματα από την FES επιβεβαίωσαν τη μείωση των επισκέψεων σε ιατρείο εξαιτίας της ΟΓ από Ρότα ιό ή από οποιοδήποτε άλλο παθογόνο, που προκαλεί ΟΓ. Η μελέτη FES επιβεβαίωσε τη σημαντική προστασία έναντι της σοβαρής ΟΓ από Ρότα ιό, που σχετίζεται με τους γονότυπους G1, G2, G3, G4 αλλά και έναντι του G9, αν και δεν περιλαμβάνεται στη σύνθεση του εμβολίου (Vesikari et al., 2010).

Το εμβόλιο RotaTeq® χορηγείται από του στόματος σε τρεις δόσεις ξεκινώντας από την ηλικία 6-15 εβδομάδων ζωής. Οι επόμενες δόσεις χορηγούνται με

μεσοδιαστήματα 4-10 εβδομάδων. Η Τρίτη δόση πρέπει να χορηγείται πριν τις 32 εβδομάδες ζωής.

4.2 ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΕΞΑΣΘΕΝΗΜΕΝΟ ΕΜΒΟΛΙΟ (HUMAN ROTAVIRUS VACCINE RIX4414, ROTARIX™)

Το ζων εξασθενημένο εμβόλιο Ρότα ιού RIX4414 δημιουργήθηκε από το ανθρώπινο πατρικό στέλεχος 89-12 (G1P[8]) σε κυτταροκαλλιέργειες. Το πατρικό στέλεχος απομονώθηκε από ένα παιδί με ΟΓ από Ρότα ιό, που πήρε μέρος στην εμβολιαστική μελέτη WC3 και έλαβε εικονικό φάρμακο. Το στέλεχος ανακαλλιεργήθηκε 33 φορές σε νεφρικά κύτταρα πιθήκου, ακολούθησε καθαρισμός και περαιτέρω 12 ανακαλλιέργειες στην GlaxoSmithKline (Bernstein et al., 1998). Η ανοσογονικότητα του εμβολίου εκτιμήθηκε στη Φιλανδική μελέτη βρεφών μετρώντας ειδικά IgA αντισώματα στον ορό μετά από δύο δόσεις, που χορηγήθηκαν στους 2 και 4 μήνες και το εμβόλιο βρέθηκε να είναι κατά 96% ανοσογονικό. Επίσης βρέθηκε να είναι καλώς ανεκτό χωρίς καθόλου αντιδράσεις πυρετού (Vesikari et al., 2004a).

Η πρώτη μελέτη αποτελεσματικότητας του εμβολίου RIX4414 διεξήχθη στη Φιλανδία σε 405 βρέφη ηλικίας 2-4 μηνών, που έλαβαν δύο δόσεις εμβολίου με μεσοδιάστημα δύο μηνών. Το εμβόλιο έδειξε 72% αποτελεσματικότητα για την πρόληψη επεισοδίων ΟΓ από Ρότα ιό και 100% αποτελεσματικότητα για τη σοβαρή ΟΓ από Ρότα ιό (Vesikari et al., 2004b). Σε μελέτη, που διεξήχθη στη Λατινική Αμερική, η προστασία που παρείχε το εμβόλιο έναντι στην ΟΓ, που προκλήθηκε από μη G1 στελέχη ήταν 77%, και για G1 στελέχη ήταν 88% (Salinas et al., 2005). Η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα του Rotarix εμβολίου εκτιμήθηκε σε μεγάλη, πολυεθνική μελέτη ασθενών-μαρτύρων, στην οποία συμμετείχαν (Gentsch et al., 2009) βρέφη από τη Φιλανδία και από 11 χώρες της Λατινικής Αμερικής (Ruiz-Palacios et al., 2006). Το εμβόλιο βρέθηκε να είναι αποτελεσματικό 84.7 - 100% για την πρόληψη σοβαρής ΟΓ από Ρότα ιό και δε βρέθηκε αυξημένος κίνδυνος εγκολεασμού. Στην πραγματικότητα η επίπτωση του εγκολεασμού ήταν υψηλότερη στην ομάδα των μαρτύρων (Ruiz-Palacios et al., 2006). Στην ίδια μελέτη η προστασία έναντι στην ΟΓ

βρέθηκε να είναι καλύτερη για το G1 στέλεχος ή στελέχη με P[8] γονότυπο, ενώ για διαφορετικούς γονότυπους, όπως ο G2P[4] το επίπεδο προστασίας ήταν μόλις 41%. Σε ακόλουθη μελέτη, που διεξήχθη κατά τη διάρκεια διετίας σε έξι χώρες της Ευρώπης τα επίπεδα προστασίας παρέμεναν υψηλά με 90% προστασία (96% στον πρώτο χρόνο και 86% κατά τη διάρκεια του δεύτερου χρόνου) στην πρόληψη σοβαρής ΟΓ από Ρότα ιό. Η ολική προστασία έναντι στην ΟΓ οποιασδήποτε σοβαρότητας σχετίστηκε με διαφορετικούς γονότυπους G1-G4 και G9 κυμάνθηκε από 58% έως 90% με το G2 να έχει τη χαμηλότερη προστασία. Το εμβόλιο επίσης έδειξε μείωση των εισαγωγών στα νοσοκομεία λόγω ΟΓ οποιασδήποτε αιτίας έως και 72% (Vesikari et al., 2007).

Τον Ιούλιο 2004 το εμβόλιο RIX4414 κυκλοφόρησε στο Μεξικό από την GlaxoSmithKline με την εμπορική ονομασία Rotarix™. Το εμβόλιο Rotarix πήρε άδεια κυκλοφορίας σε περισσότερες από 100 χώρες και στην Ευρώπη και είναι διαθέσιμο από το 2006. Το εμβόλιο χορηγείται από το στόμα σε δύο δόσεις. Το σχήμα δύο δόσεων πρέπει να έχει ολοκληρωθεί μέχρι την ηλικία των 24 εβδομάδων. Η πρώτη δόση μπορεί να δοθεί από την ηλικία των 6 εβδομάδων με ελάχιστη διαφορά ανάμεσα στις δύο δόσεις τις 4 εβδομάδες.

Πίνακας 8. Σύγκριση των εμβολίου Ρότα ιού RotaTeq® και Rotarix™

	RotaTeq®	Rotarix™
Σύσταση	Ανασυνδυασμός πέντε ανθρώπινων με βοοειδή στελέχη Ρότα ιού, που περιέχουν τους γονότυπους G1, G2, G3, G4 και P1A[8]	Ανθρώπινο εξασθενημένο στέλεχος G1P[8] Ρότα ιού
Χορήγηση	Από του στόματος 3 δόσεις ξεκινώντας από την ηλικία 6-15 εβδομάδων ζωής. Οι επόμενες δόσεις χορηγούνται με μεσοδιαστήματα 4-10 εβδομάδων. Η Τρίτη δόση πρέπει να χορηγείται πριν τις 32 εβδομάδες ζωής.	Από του στόματος 2 δόσεις ξεκινώντας από την ηλικία 6 εβδομάδων ζωής. Η δεύτερη δόση χορηγείται μετά από διάστημα τουλάχιστον 4 εβδομάδων και πριν από την ηλικία των 24 εβδομάδων ζωής.
Ανεπιθύμητες ενέργειες	Διάρροια, έμετος, ανησυχία	Ανησυχία και έμετος
Αποτελεσματικότητα	Έναντι σε σοβαρή ΟΓ από Ρότα ιό 100%. Έναντι σε οποιαδήποτε ΟΓ από Ρότα ιό 73%. Ειδικότερα έναντι σε G1, G2, G3 και G4.	Έναντι σε σοβαρή ΟΓ από Ρότα ιό 84.7-100%. Ενάντια σε οποιαδήποτε ΟΓ από Ρότα ιό 58-90%. Ειδικότερα Έναντι σε G1, G3, G4 και G9.
Κίνδυνος για εγκολεασμό	Κανένας αυξημένος κίνδυνος δεν παρατηρήθηκε πριν από την κυκλοφορία	Κανένας αυξημένος κίνδυνος δεν παρατηρήθηκε πριν από την κυκλοφορία
Αποβολή του ιού του εμβολίου με τα κόπρανα	Μετά από 1η δόση: 0-13% των εμβολιασμένων βρεφών	21-61% σε διάστημα 7 ημερών μετά τον εμβολιασμό
Μετάδοση των ιών του εμβολίου (vaccine derived strain ή vdG1P[8])	Σχηματισμός του vdG1P[8] παρατηρήθηκε με τη σύνθεση του τετραδύναμου εμβολίου	Μετάδοση του ιού του εμβολίου παρατηρήθηκε στα αδέρφια ανεμβολίαστων αδελφών σε μελέτες πριν την κυκλοφορία του εμβολίου



ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ο Ρότα ιός είναι το συχνότερο αίτιο ΟΓ στα βρέφη και τα παιδιά προσχολικής ηλικίας σε όλο τον κόσμο. Από την ανακάλυψή του το 1973 και μετά, πολλές μελέτες έχουν περιγράψει τη μορφολογία του, την παθογένειά του και τη βαρύτητα της νόσου που προκαλεί, ενώ τα τελευταία χρόνια με την εφαρμογή των μοριακών διαγνωστικών μεθόδων οι μελέτες έχουν επικεντρωθεί στην περιγραφή της μοριακής επιδημιολογίας του ιού. Το 2006 μετά την κυκλοφορία των δύο εμβολίων έναντι του Ρότα ιού έχει παρατηρηθεί μείωση της νοσηρότητας και της ανάγκης για νοσηλεία λόγω ΟΓ από Ρότα ιό. Επίσης έχει σημειωθεί μεταβολή στην επιδημιολογία των γονοτύπων του ιού ανά τον κόσμο.

Η παρούσα μελέτη έχει στόχο την περιγραφή της επιδημιολογίας του Ρότα ιού στην Ελλάδα σε παιδιά έως και 5 ετών, που παρουσιάζουν συμπτώματα ΟΓ. Συγκεκριμένα:

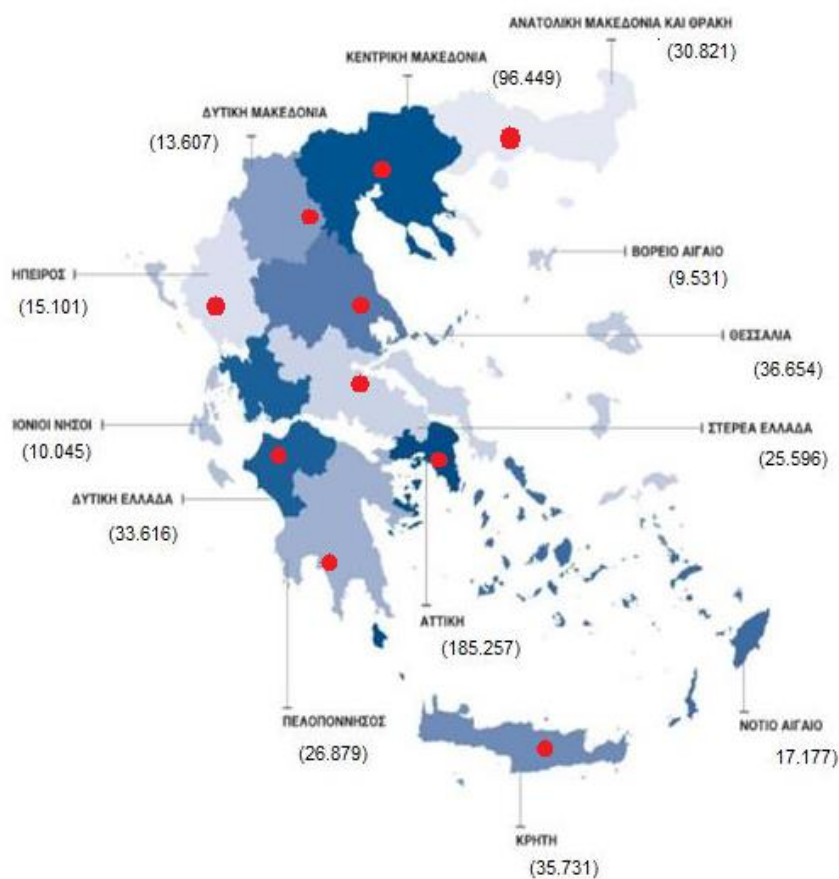
1. τη συγκέντρωση δεδομένων σχετικά με την εποχικότητα της ΟΓ από Ρότα ιό, την ηλικιακή κατανομή των παιδιών που νοσούν, τα κλινικά χαρακτηριστικά που παρουσιάζουν κατά τη διάρκεια της νόσου και τη βαρύτητα της ΟΓ.
2. τη μοριακή τυποποίηση των γονοτύπων του Ρότα ιού σε δείγματα κοπράνων, που συλλέγονται από παιδιά με ΟΓ από Ρότα ιό και την περιγραφή της κατανομής των γονοτύπων τόσο σε αστικές όσο και σε αγροτικές περιοχές της χώρας και κατά τη διάρκεια όλου του έτους.
3. τη σύγκριση των παραπάνω επιδημιολογικών δεδομένων ανάμεσα στην περίοδο πριν και μετά τη συστηματική εφαρμογή εμβολιασμού στη χώρα μας.
4. την παρακολούθηση της ανάδυσης και της διάδοσης νέων στελεχών Ρότα ιού, που δεν περιλαμβάνονται στα εμβόλια.
5. τη συσχέτιση των γονοτύπων του Ρότα ιού με επιδημιολογικά χαρακτηριστικά όπως η εποχή, ηλικία, το φύλο, ο τόπος διαμονής, ο εμβολιασμός, η βαρύτητα της ΟΓ, η νοσοκομειακή ή μη προέλευση της λοίμωξης.

2. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

2.1 ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Το δείγμα της μελέτης αποτέλεσαν παιδιά ηλικίας έως και 5 ετών, που διέμεναν τόσο σε αστικές όσο και σε αγροτικές περιοχές της Ελλάδας και προσκομίστηκαν με συμπτώματα ΟΓ στα εξωτερικά ιατρεία ή/και νοσηλεύθηκαν στην Ά Παιδιατρική Κλινική του Πανεπιστημίου Αθηνών του Νοσοκομείου παιδών «Η Αγία Σοφία» καθώς και σε 19 ακόμα Παιδιατρικές Κλινικές της χώρας (εικόνα) στο χρονικό διάστημα 1^η Ιανουαρίου 2008 έως και 31 Αυγούστου 2014. Οι 20 Παιδιατρικές Κλινικές, που συμμετείχαν στη μελέτη, προέρχονταν από νοσοκομεία διαφόρων μεγάλων αλλά και μικρών αστικών κέντρων όλης της χώρας, που ανήκουν σε 10 από τις 13 περιφέρειες της Ελλάδας, εξασφαλίζοντας τη γεωγραφική αντιπροσωπευτικότητα του δείγματος. Η συλλογή δείγματος πραγματοποιήθηκε καθ' όλη τη διάρκεια κάθε έτους, μολονότι η γαστρεντερίτιδα από Ρότα ιό έχει εποχικότητα το χειμώνα εξασφαλίζοντας την εποχική αντιπροσωπευτικότητα του δείγματος. Μία ενδεχόμενη αύξηση της συχνότητας λοιμώξεων από Ρότα ιό εκτός της χειμερινής περιόδου, θα μπορούσε να υποδηλώνει επιδημία ή/και ανάδυση νέου στελέχους, για το οποίο δεν υπάρχει ανοσία στον πληθυσμό.

Στην Εικόνα 14 απεικονίζονται οι 13 γεωγραφικές περιφέρειες της Ελλάδας και σε παρένθεση αναγράφεται ο πληθυσμός των παιδιών 0-5 ετών, που κατοικούν στην αντίστοιχη περιφέρεια. Αναλυτικά οι περιφέρειες και ο πληθυσμός των παιδιών 0-5 ετών, που κατοικούν στην Ελλάδα σύμφωνα με τα δημογραφικά δεδομένα του 2011 φαίνονται στον Πίνακα ΣΤ (Παράρτημα). Οι 20 Παιδιατρικές Κλινικές, που συμμετείχαν στη μελέτη ανήκουν στις 10 από τις 13 περιφέρειες, που φαίνονται στον παρακάτω χάρτη. Σε αυτές τις 10 περιφέρειες κατοικούν 499.711 από το σύνολο των 536.468 παιδιών ηλικίας 0-5 ετών, δηλαδή το 93,1% των παιδιών της χώρας, που ανήκει στην ηλικία αυτή. Στη μεγαλύτερη περιφέρεια της χώρας, δηλαδή την περιφέρεια Αττικής, κατοικούν 185.257 παιδιά ηλικίας 0-5 ετών, δηλαδή το 34,5% των παιδιών της χώρας αυτής της ηλικίας.



Εικόνα 14. Γεωγραφικές περιφέρειες της Ελλάδας και πληθυσμός των παιδιών 0-5 ετών, που κατοικούν σε κάθε περιφέρεια (στοιχεία απογραφής πληθυσμού Ελλάδας, 2011). Η κάθε περιφέρεια απεικονίζεται με διαφορετική απόχρωση του μπλε και με κόκκινο απεικονίζονται οι περιφέρειες στις οποίες βρίσκονται οι Παιδιατρικές κλινικές που συμμετείχαν στη μελέτη.

2.2 ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Πρόκειται για προοπτική μελέτη. Το χρονικό διάστημα συλλογής των δειγμάτων χωρίστηκε σε 7 περιόδους. Η κάθε περίοδος ξεκινούσε το Σεπτέμβριο και είχε διάρκεια μέχρι και τον Αύγουστο του επόμενου έτους, έτσι ώστε κάθε περίοδος να περιλαμβάνει και τις 4 εποχές (Φθινόπωρο, Χειμώνας, Άνοιξη, Καλοκαίρι). Εξαίρεση αποτέλεσε η πρώτη περίοδος, που ξεκίνησε τον Ιανουάριο 2008 και τελείωσε τον Αύγουστο 2008.

Κατά τη διάρκεια της μελέτης όλα τα παιδιά κατά την είσοδό τους στο νοσοκομείο ή/και κατά τη διάρκεια νοσηλείας τους ελέγχονταν καθημερινά για συμπτώματα ΟΓ, δηλαδή αν εμφάνιζαν ένα από τα παρακάτω συμπτώματα:

- υδαρείς κενώσεις με ή χωρίς πρόσμιξη αίματος ή βλέννης
- αυξημένο αριθμό κενώσεων (περισσότερες από 3 κενώσεις/24ωρο ή διπλασιασμός του φυσιολογικού αριθμού κενώσεων/24ωρο)
- συνοδά συμπτώματα όπως έμετο ή/και πυρετό

Η κλινική βαρύτητα της γαστρεντερίτιδας εκτιμήθηκε με την 20βαθμη κλίμακα Vesikari (Πίνακας 5) και τα περιστατικά ταξινομήθηκαν ανάλογα με τη βαθμολογία, που συγκέντρωσαν σε παιδιά με σοβαρή και μη σοβαρή οξεία γαστρεντερίτιδα (ΟΓ). Επίσης για κάθε περιστατικό, που συμπεριελήφθη στη μελέτη καταγράφηκαν επιδημιολογικά δεδομένα σε προτυποποιημένο ερωτηματολόγιο (Πίνακας Ε, ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ).

Συλλογή δείγματος κοπράνων γινόταν από κάθε παιδί, που εμφάνιζε ένα από τα παραπάνω συμπτώματα. Η συλλογή του δείγματος γινόταν άμεσα με την έναρξη των συμπτωμάτων ή σε διάστημα μικρότερο από 7 ημέρες καθώς η μέγιστη απέκκριση του Ρότα ιού στα κόπρανα συμβαίνει 3-5 ημέρες μετά την εμφάνιση των συμπτωμάτων. Τα δείγματα κοπράνων συλλέγονταν σε ειδικό αποστειρωμένο και αδιάβροχο δοχείο χωρητικότητας 60ml κατασκευασμένο από διαφανή μη τοξική πολυστερίνη, χωρίς να περιέχει απορρυπαντικά, συντηρητικά ή υλικά μεταφοράς. Το δοχείο έφερε βιδωτό πλαστικό καπάκι με ενσωματωμένο οβάλ «φτυαράκι» για την

εύκολη δειγματοληψία των κοπράνων. Η ποσότητα κοπράνων, που συλλεγόταν, έπρεπε να είναι αντιπροσωπευτική του δείγματος (1-2 ml ή 1-2 gr). Το δείγμα κοπράνων φυλασσόταν στους 2-8°C και ακολουθούσε εντός 72 ωρών η δοκιμασία ανίχνευσης του αντιγόνου Ρότα ιού ομάδας Α, που γινόταν με ταχεία ανοσοχρωματογραφική μέθοδο (VIKIA® test, BioMérieux). Τα δείγματα, εάν δεν εξετάζονταν μέσα σε 72 ώρες, θα έπρεπε να καταψυχθούν στους -25±6 °C.

Τα θετικά για Ρότα ιό δείγματα τυποποιήθηκαν περαιτέρω με πολλαπλή nested RT-PCR χρησιμοποιώντας εκκινητές για τα γονίδια VP7 και VP4 προκειμένου να βρεθεί η συχνότητα των G και P γονοτύπων αντίστοιχα. Η τυποποίηση των γονοτύπων Ρότα ιού έγινε σύμφωνα με το πρωτόκολλο του European Rotavirus Network (www.eurorotanut.com).

2.3 ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ ΡΟΤΑ ΙΟΥ

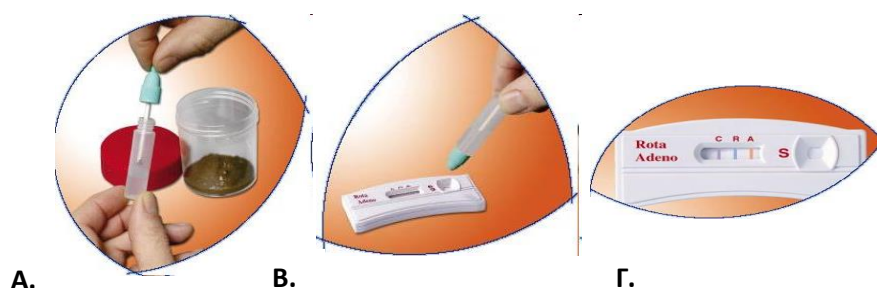
Η εργαστηριακή διάγνωση της ΟΓ από Ρότα ιό έγινε με ταχεία ανοσοχρωματογραφική μέθοδο (VIKIA® τεστ, BioMérieux), που έχει υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα (de Rougemont et al., 2009) για την ανίχνευση του αντιγόνου του ιού στα κόπρανα. Η δοκιμασία έγινε σε δείγμα κοπράνων του πληθυσμού της μελέτης σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Στη συσκευασία του τεστ περιλαμβάνονται φάκελοι με συσκευές εξέτασης και φιαλίδια με ρυθμιστικό διάλυμα (Εικόνα 15). Τα βήματα εκτέλεσης της δοκιμασίας περιγράφονται παρακάτω.



Εικόνα 15. Συσκευασία ταχείας ανοσοχρωματογραφικής μεθόδου ανίχνευσης αντιγόνου Ρότα ιού σε κόπρανα VIKIA® τεστ, BioMérieux.

Προετοιμασία δείγματος: Το δείγμα κοπράνων, πριν την εξέταση πρέπει να έλθει σε θερμοκρασία δωματίου 15-30°C. Ακολούθως παίρνουμε το φιαλίδιο, που περιέχει ρυθμιστικό διάλυμα, ξεβιδώνουμε το καπάκι, που φέρει ενσωματωμένο πλαστικό στείλειό και μεταφέρουμε περίπου 50mg κοπράνων (ισοδύναμο με ¼ μπιζελιού) μέσα στο ρυθμιστικό διάλυμα για να γίνει αραίωση του δείγματος. Βιδώνουμε ξανά το καπάκι του φιαλιδίου και ανακινούμε δυνατά για να ομογενοποιηθεί το διάλυμα.

Εκτέλεση δοκιμασίας: Αφαιρούμε τη συσκευή εξέτασης από το σφραγισμένο φάκελο, την τοποθετούμε σε καθαρή κι επίπεδη επιφάνεια και τη χρησιμοποιούμε όσο το δυνατόν πιο γρήγορα. Σπάμε το άκρο του φιαλιδίου με το υπό εξέταση αραιωμένο δείγμα, το γυρνάμε ανάποδα και το κρατάμε κατακόρυφα. Μεταφέρουμε 2 σταγόνες αραιωμένου δείγματος (περίπου 80μl) στην κυψέλη της συσκευής εξέτασης με την ένδειξη «S» και ξεκινάμε το χρονόμετρο για 10 λεπτά. Αποφεύγουμε να παγιδεύσουμε φυσαλίδες αέρα στην κυψέλη «S», που τυχόν περιέχονται στο υπό εξέταση αραιωμένο δείγμα. Περιμένουμε να εμφανιστεί η γραμμή ελέγχου «C», που αντιστοιχεί στο θετικό μάρτυρα και πιθανώς η γραμμή «R» χρώματος μπλε, αν το δείγμα είναι θετικό για Ρότα ή/και η γραμμή «A» χρώματος κόκκινου, αν είναι θετικό για Άδενο ιό. Τα αποτελέσματα τα διαβάζουμε μόλις ολοκληρωθούν τα 10 λεπτά για να είναι αξιόπιστα και όχι μετά από την έλευση 15 λεπτών (Εικόνα 16).



Εικόνα 16. Δοκιμασία ταχείας ανοσοχρωματογραφικής μεθόδου ανίχνευσης αντιγόνου Ρότα ιού σε κόπρανα (VIKIA® τεστ, BioMérieux). **A.** Προετοιμασία δείγματος, **B.** Εκτέλεση δοκιμασίας, **Γ.** Ανάγνωση αποτελεσμάτων C:Θετικός μάρτυρας, R (μπλε γραμμή): Θετικό δείγμα για αντιγόνο Ρότα ιού, A (κόκκινη γραμμή): Θετικό δείγμα για αντιγόνο Άδενο ιού

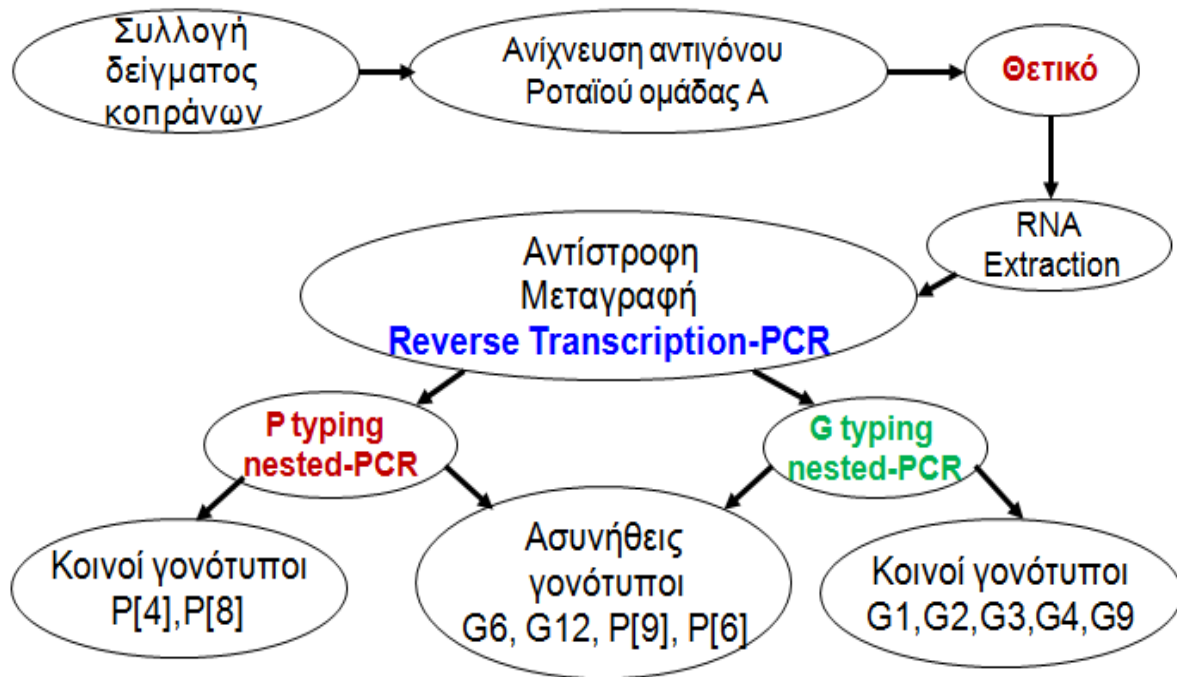
Φύλαξη των δειγμάτων: Τα δείγματα θετικά για Ρότα ιό φυλάσσονταν στους 2-8°C, έως ότου γίνει η μεταφορά τους στο εργαστήριο του τμήματος «Λοιμώξεων και Χημειοθεραπείας» για περαιτέρω επεξεργασία. Σε περίπτωση, που το θετικό δείγμα κοπράνων για Ρότα ιό, δεν επρόκειτο να επεξεργαστεί περαιτέρω με μοριακές τεχνικές (εκχύλιση RNA, PCR κλπ) μέσα σε μία εβδομάδα, γινόταν επικάλυψη με στρώση γλυκερόλης και φύλαξή του στους 2-8°C με αποφυγή επαναλαμβανόμενης ψύξης και απόψυξης των δειγμάτων.

2.4 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΡΟΤΑ ΙΟΥ

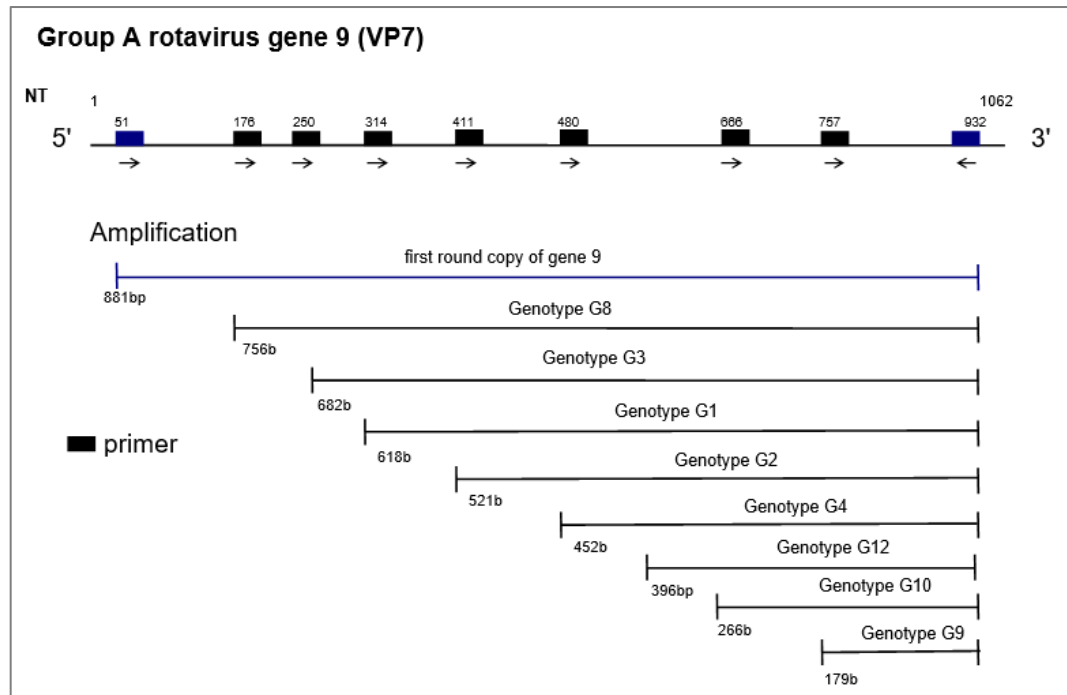
Οι γονότυποι Ρότα ιού προσδιορίστηκαν με μοριακές τεχνικές, όπως περιγράφονται από το European Rotavirus Network σύμφωνα με το πρωτόκολλο «Rotavirus Detection and Typing: Nucleic acid extraction and reverse transcription, Virus Detection by PCR, version 4.0, 01/10/20019» (Εικόνα 17). Σύμφωνα με αυτό γίνεται εκχύλιση RNA και αντίστροφη μεταγραφή του σε cDNA. Στη συνέχεια το cDNA χρησιμοποιείται στη multiplex semi-nested PCR για ανίχνευση των γονιδίων VP7 και VP4 του ιού και ηλεκτροφόρηση των τελικών προϊόντων της PCR σε γέλη αгарόζης 2%. Η τυποποίησή των ιών σε G και P τύπους εξαρτάται από το μέγεθος του τελικού προϊόντος της PCR (μονάδα μέτρησης: ζεύγη βάσεων ή bp), που συγκρίνεται με το μέγεθος DNA γνωστών G και P γονοτύπων Ρότα ιού (Εικόνα 18 και Εικόνα 19).

Οι συνθήκες της PCR, η αναλυτική περιγραφή των μεθόδων και η αλληλουχία των εκκινητών, που χρησιμοποιήθηκαν περιγράφονται στην ιστοσελίδα του European Rotavirus Network <http://www.eurorotnet.com> και αναγράφονται αναλυτικά παρακάτω. Τα προϊόντα της PCR για τα γονίδια VP7 και VP4, που δεν ήταν δυνατόν να τυποποιηθούν συγκρινόμενα με τους γνωστούς και διαθέσιμους G και P τύπους Ρότα ιού αναλύθηκαν περαιτέρω με αλληλούχιση (*Sequencing*) και προσδιορισμό αλληλουχιών με το ABI PRISM 3500 Genetic Analyzer. Η ανάγνωση των αλληλουχιών έγινε χρησιμοποιώντας το λογισμικό v7.2.5 BioEdit και η τυποποίηση με εισαγωγή των αλληλουχιών στο NCBI BLAST (National Center for Biotechnology Information, www.ncbi.nlm.nih.gov), όπου συγκρίθηκαν με όλες τις διαθέσιμες

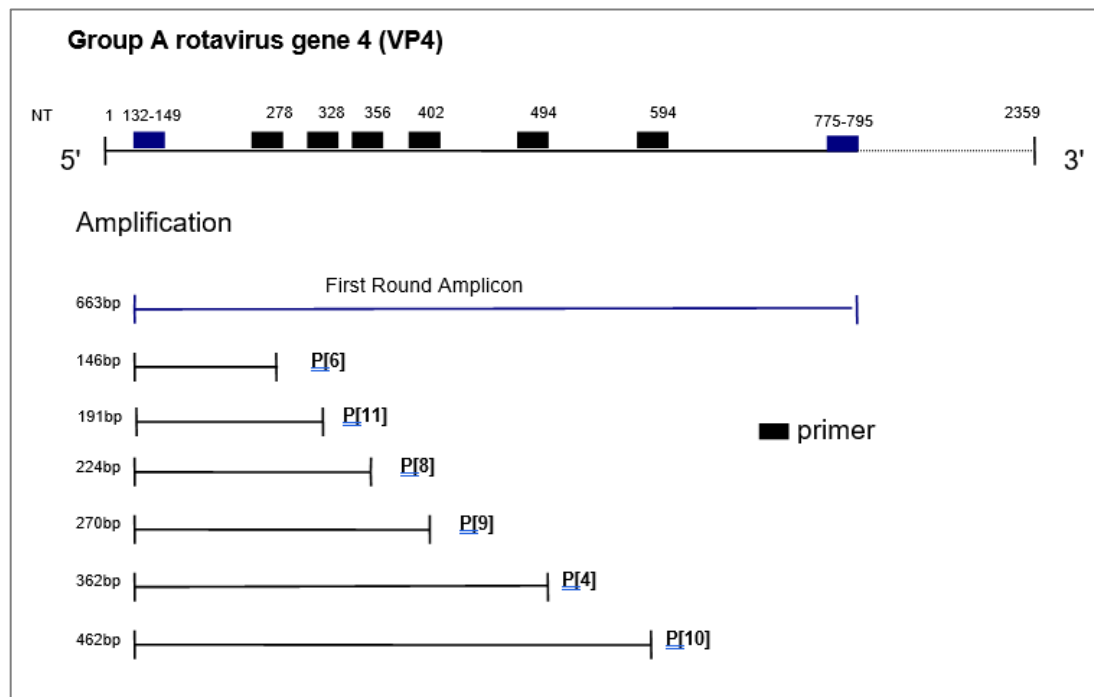
αλληλουχίες αναφοράς και καθορίστηκαν οι *G* και *P* τύποι, με κριτήριο το ποσοστό ομοιότητας >95%.



Εικόνα 17. Αλγόριθμος προσδιορισμού γονοτύπων σύμφωνα με το πρωτόκολλο «Rotavirus Detection and Typing Nucleic acid extraction and reverse transcription, Virus Detection by PCR, version 4.0, 01/10/20019», που προτείνεται από το European Rotavirus Network.



Εικόνα 18. Απεικόνιση του μεγέθους του γονιδίου 9 του Ρότα ιού, που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη VP7 και G τυποποίηση με βάση το μέγεθος του τελικού προϊόντος της PCR του αντίστοιχου γονιδίου (2^{ος} γύρος semi-nested multiplex PCR.)



Εικόνα 19. Απεικόνιση του μεγέθους του γονιδίου 4 του Ρότα ιού, που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη VP4 και P τυποποίηση με βάση το μέγεθος του τελικού προϊόντος της PCR του αντίστοιχου γονιδίου (2^{ος} γύρος semi-nested multiplex PCR.)

2.4.1. Πρωτόκολλο εκχύλισης ιϊκού RNA (RNA extraction)

Η εκχύλιση RNA του Ρότα ιού έγινε σύμφωνα με το πρωτόκολλο MagNA Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit I, ROCHE:

1. Σε σωληνάρια τύπου erppendorf των 2 ml, τοποθετείται 1.4ml διαλύματος S.T.A.R. (Stool Transport and Recovery Buffer). Το διάλυμα αυτό έχει τρεις σημαντικές ιδιότητες: να απενεργοποιεί τους παθογόνους οργανισμούς, να μειώνει την αποδόμηση των νουκλεϊκών οξέων και να ενισχύει την δέσμευσή τους από τα μαγνητικά σφαιρίδια, που χρησιμοποιούνται στη διαδικασία της απομόνωσης νουκλεϊκών οξέων με το αυτόματο μηχάνημα MagNA Pure Compact (Espy et al., 2006).
2. Στο διάλυμα S.T.A.R. buffer διαλύεται ποσότητα κοπράνων σε αναλογία 10% (προσθήκη 200 μl δείγματος σε περίπτωση υγρής μορφής κοπράνων ή δείγμα μεγέθους θηλιάς κρικοφόρου στυλεού σε περίπτωση ημιστέρεας μορφής κοπράνων).
3. Γίνεται καλή ανάμειξη (vortex) για 15-20 δευτερόλεπτα και στο διάλυμα προσθέτονται 100μl Χλωροφορμίου. Ακολουθεί δεύτερη ανάμειξη (vortex) για 5 δευτερόλεπτα.
4. Τα δείγματα φυγοκεντρούνται στις 10,000 rpm για 5 λεπτά.
5. Ακολουθεί μεταφορά 400 μl του υπερκείμενου διαλύματος σε νέα καθαρά σωληνάρια τύπου erppendorf των 2ml και το υπόλοιπο διάλυμα 10% που περίσσεψε αποθηκεύεται στους -70°C.
6. Τα σωληνάρια με τα 400 μl υπερκείμενου διαλύματος τοποθετούνται στο ειδικό μηχάνημα εκχύλισης νουκλεϊκού οξέος MagNA Pure Compact (ROCHE).
7. Στο ίδιο μηχάνημα τοποθετούνται οι προκατασκευασμένες κασετίνες, που περιέχουν διάλυμα με μικροσκοπικά γυάλινα μαγνητικά σφαιρίδια.
8. Η διαδικασία της απομόνωσης του RNA του Ρότα ιού γίνεται αυτοματοποιημένα βάσει του πρωτοκόλλου του κατασκευαστή MagNA Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit I για RNA και διαρκεί 40 λεπτά.

9. Η έκπλυση (elution) του καθαρού RNA από τα σφαιρίδια γίνεται σε 50 µl elution buffer σε καθαρά σωληνάρια των 500µl. Αυτή η ποσότητα φυλάσσεται στους -80° C μέχρι το επόμενο στάδιο επεξεργασίας.

2.4.2. Πρωτόκολλο αντίστροφης μεταγραφής (RT PCR)

Η αντίστροφη μεταγραφή του RNA έγινε με το πρωτόκολλο Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit (ROCHE), ως εξής:

1. Τα αντιδραστήρια, τα οποία διατηρούνται σε κατάψυξη (-20°C), αποψύχονται και τοποθετούνται σε δοχείο με πάγο κατά τη διάρκεια της αντίδρασης. Πριν από τη χρήση τους αναμειγνύουμε καλά (Vortex) το χλωριούχο μαγνήσιο (MgCl₂), ενώ το ρυθμιστικό διάλυμα (buffer), τα dNTPs και τα random hexamers τα ανακατεύουμε με ελαφρές κινήσεις ή με πιπέτα. Δεν ανακατεύουμε την πολυμεράση και τον αναστολέα, μπορεί να κάνουμε σύντομη περιστροφική κίνηση (spin), σε μικροφυγόκεντρο για ομοιογένεια.
2. Προετοιμασία RT-PCR μίγματος για N+2 δείγματα (όπου N ο αριθμός δειγμάτων που επεξεργάζονται) με τα παρακάτω αντιδραστήρια:

Συστατικό	Ποσότητα (για μίγμα 1X)	Τελική συγκέντρωση
Random Hexamers 600pmol/µl	2 µl	60µM
DNase/RNase free water	3 µl	
Τελικός όγκος	5 µl	

2. Προσθήκη 5 µl από το RT-PCR μίγμα σε κάθε ένα από τα N σωληνάρια τύπου erppendorf των 500 µl και 8 µl καθαρού RNA Ρότα ιού (περίπου 1µg) σε κάθε σωληνάριο έτσι ώστε ο τελικός όγκος του μίγματος να είναι 13µl.

4. Επώαση του μίγματος στους 65° C για 10 λεπτά (heat block), προκειμένου να γίνει αποδιάταξη του δίκλωνου RNA.

5. Μετά την πάροδο 10 λεπτών τα σωληνάρια τοποθετούνται απευθείας σε πάγο.

6. Προετοιμασία νέου μίγματος για N+2 δείγματα με τα παρακάτω αντιδραστήρια:

Συστατικό	Ποσότητα (για μίγμα 1X)	Τελική συγκέντρωση
Reverse Transcriptase Reaction Buffer 5X	4 μ l	1X (8mM $MgCl_2$)
Protector RNase Inhibitor 40U/ μ l	0.5 μ l	20 U
Deoxyribonucleotide Mix, 10mM each	2 μ l	1mM each
Transcriptor Reverse Transcriptase, 20U/ μ l	0.5 μ l	10 U
Τελικός όγκος	7 μ l	

7. Προσθήκη 7 μ l από το νέο μίγμα σε κάθε ένα από τα N σωληνάρια, που βρίσκονται στον πάγο, έτσι ώστε ο τελικός όγκος, που προκύπτει σε κάθε σωληνάριο, να είναι 20 μ l.

8. Ακολουθεί σύντομη περιστροφική κίνηση (spin) για 5 δευτερόλεπτα κάθε σωληναρίου σε μικροφυγόκεντρο για ομοιογένεια.

9. Τα σωληνάρια μεταφέρονται σε θερμοκυκλοποιητή με το παρακάτω πρόγραμμα:

Θερμοκρασία	Διάρκεια	Κύκλοι
25°C	10 λεπτά	X1
55°C	30 λεπτά	X1
85°C	5 λεπτά	X1

10. Αμέσως μετά την αντίδραση, τα σωληνάρια τοποθετούνται στον πάγο για 5 λεπτά και έπειτα, το cDNA είτε φυλάσσεται στους 4 ° C για να χρησιμοποιηθεί άμεσα σε PCR, είτε φυλάσσεται στους -20° C για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

2.4.3. Τυποποίηση G του γονιδίου VP7 του Ρότα ιού (1^{ος} γύρος semi-nested multiplex PCR)

Τα αντιδραστήρια, τα οποία διατηρούνται σε κατάψυξη (-20°C), αποψύχονται και τοποθετούνται σε δοχείο με πάγο κατά τη διάρκεια της αντίδρασης. Πριν από τη χρήση τους αναμειγνύουμε καλά (Vortex) το χλωριούχο μαγνήσιο (MgCl₂), ενώ το 5X ρυθμιστικό διάλυμα, τα dNTPs και τους εκκινητές τα ανακατεύουμε με ελαφρές κινήσεις ή με πιπέττα. Δεν ανακατεύουμε την πολυμεράση, μπορεί να κάνουμε σύντομη περιστροφική κίνηση (spin), σε μικροφυγόκεντρο για ομοιογένεια.

Χρησιμοποιούμε τους ακόλουθους εκκινητές: (turrisa Gómara et al, 2001, J Clin Microbiol)

Αλληλουχία εκκινητών 1^{ου} γύρου G τυποποίησης Ρότα ιού

VP7-F 5' ATG TAT GGT ATT GAA TAT ACC AC 3' (nt 51-71)

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

Μέγεθος προϊόντος: 881bp

1. Προετοιμάζουμε τον 1^ο γύρο (1st round) PCR μίγμα (1 x mix) για N + 2 (όπου N ο αριθμός των δειγμάτων που επεξεργάζονται)

Συστατικό	Ποσότητα ανά δείγμα
5x buffer (PROMEGA)	9 µl
MgCl ₂ 25mM (PROMEGA)	4 µl
dNTPs 10mM το καθένα (INVITROGEN)	1 µl
Εκκινητής Forward VP7-F (20pmol/µl) (ROCHE)	1 µl
Εκκινητής Reverse VP7-R (20pmol/µl) (ROCHE)	1 µl
Taq Polymerase 5U/µl (PROMEGA)	0.2 µl
DNase/RNase free water	28.8 µl
Τελικός όγκος	45 µl

2. Προσθέτουμε 45μl από το PCR μίγμα του 1^{ου} γύρου (first round PCR mix) και 5μl cDNA (από την RT αντίδραση) σε κάθε PCR tube (των 200μl).
3. Φυγοκεντρούμε σύντομα στη μικροφυγόκεντρο (spin) για 5 δευτερόλεπτα.
4. Μεταφέρουμε τα σωληνάρια (PCR tubes) στο θερμοκυκλοποιητή και ρυθμίζουμε τις θερμοκρασίες του κάθε κύκλου επαναλαμβάνοντας τον κάθε κύκλο για τις εξής φορές:

Στάδια	Θερμοκρασία	Διάρκεια	Κύκλοι
Αρχική αποδιάταξη (Initial Denaturation)	94°C	2 λεπτά	X1
Αποδιάταξη (Denaturation)	94°C	1 λεπτό	X35
Πρόσδεση εκκινητών (Annealing)	52°C	1 λεπτό	
Επέκταση (Extension)	72 °C	1 λεπτό	
Τελική επέκταση (Final extension)	72 °C	7 λεπτά	X1
Διακοπή (Pause)	15 °C	Διατήρηση (Hold)	

5. Μετά το τέλος της αντίδρασης διατηρούμε τα προϊόντα PCR του 1^{ου} γύρου (VP7 1st round product) στους 4°C μέχρι να τα χρησιμοποιήσουμε στο 2^ο γύρο.

2.4.4. Τυποποίηση G του γονιδίου VP7 του Ρότα ιού (2^{ος} γύρος semi-nested multiplex PCR)

Χρησιμοποιούμε τους ακόλουθους εκκινητές: (Gouvea *et al.*, 1990, J Clin Microbiol; Iturriza Gómara *et al.*, 2004, J Clin Microbiol; Aladin *et al.*, unpublished)

Αλληλουχία εκκινητών 2^{ου} γύρου G τυποποίησης Ρότα ιού

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

G1 5' CAA GTA CTC AAA TCA ATG ATG G 3' (nt 314-335) Μέγεθος προϊόντος: 618bp

G2 5' CAA TGA TAT TAA CAC ATT TTC TGT G 3' (nt 411-435) Μέγεθος προϊόντος: 521bp

G3 5' ACG AAC TCA ACA CGA GAG G 3' (nt 250-269) Μέγεθος προϊόντος: 682bp

G4 5' CGT TTC TGG TGA GGA GTT G 3' (nt 480-499) Μέγεθος προϊόντος: 452bp

G8 5' TTR TCG CAC CAT TTG TGA AAT 3' (nt 176-198) Μέγεθος προϊόντος: 756bp

G9 5' CTT GAT GTG ACT AYA AAT AC 3' (nt 757-776) Μέγεθος προϊόντος: 179bp

G10 5' ATG TCA GAC TAC ARA TAC TGG 3' (nt 666-687) Μέγεθος προϊόντος: 266bp

G12 5' GGT TAT GTA ATC CGA TGG ACG 3' (nt 548 -567) Μέγεθος προϊόντος: 396bp

Όπου Y= C or T, W= A or T και R= A or G

1. Προετοιμάζουμε τον 2^ο γύρο (2nd round) PCR μίγμα (1 x mix) για N + 2 (όπου N ο αριθμός των δειγμάτων που επεξεργάζονται)

Συστατικό	Ποσότητα ανά δείγμα
5x buffer (PROMEGA)	9.6 μl
MgCl ₂ 25mM (PROMEGA)	5 μl
dNTPs 10mM το καθένα (INVITROGEN)	1 μl
Εκκινητής ReverseVP7-R (20pmol/μl) (ROCHE)	1 μl
Εκκινητής G1 (20pmol/μl) (ROCHE)	1 μl
Εκκινητής G2 (20pmol/μl) (ROCHE)	1 μl
Εκκινητής G3 (20pmol/μl) (ROCHE)	1 μl
Εκκινητής G4 (20pmol/μl) (ROCHE)	1 μl
Εκκινητής G8 (20pmol/μl) (ROCHE)	1 μl
Εκκινητής G9 (20pmol/μl) (ROCHE)	1 μl

Εκκινητής G10 (20pmol/μl) (ROCHE)	1 μl
Εκκινητής G12 (20pmol/μl) (ROCHE)	1 μl
Taq Polymerase 5U/μl (PROMEGA)	0.2 μl
DNase/RNase free water	23.2 μl
Τελικός όγκος	48 μl

2. Προσθέτουμε 48ul από το PCR μίγμα του 2^{ου} γύρου (VP7 2nd round PCR mix) σε κάθε PCR tube και 2 μl από το προϊόν PCR του πρώτου γύρου (VP7 1st round product).

3. Φυγοκεντρούμε σύντομα στη μικροφυγόκεντρο (spin) για 5 δευτερόλεπτα.

4. Μεταφέρουμε τα σωληνάκια (PCR tubes) στο θερμοκυκλοποιητή και ρυθμίζουμε τις θερμοκρασίες του κάθε κύκλου επαναλαμβάνοντας τον κάθε κύκλο για τις εξής φορές:

Στάδια	Θερμοκρασία	Διάρκεια	Κύκλοι
Αρχική αποδιάταξη (Initial Denaturation)	94°C	4λεπτά	X1
Αποδιάταξη (Denaturation)	94° C	1 λεπτό	X30
Πρόσδεση εκκινητών (Annealing)	42°C	2 λεπτά	
Επέκταση (Extension)	72 °C	1 λεπτό	
Τελική επέκταση (Final extension)	72 °C	7 λεπτά	X1
Διακοπή (Pause)	15 °C	Διατήρηση (Hold)	

5. Μετά το τέλος της αντίδρασης διατηρούμε τα προϊόντα PCR του 2^{ου} γύρου (VP7 2nd round product) στους 4°C.

2.4.5. Τυποποίηση P του γονιδίου VP4 του Ρότα ιού (1^{ος} γύρος semi-nested multiplex PCR)

Χρησιμοποιούμε τους ακόλουθους εκκινητές: (Kühne Simmonds M, et al 2008. *N J Clin Virol.* 42(4):368-73).

Αλληλουχία εκκινητών 1^{ου} γύρου P τυποποίησης Ρότα ιού

VP4-F TAT GCT CCA GTN AAT TGG 3' (nt 132-149)

VP4-R ATT GCA TTT CTT TCC ATA ATG 3' (nt 775-795)

Μέγεθος προϊόντος: 663bp

Τα αντιδραστήρια, τα οποία διατηρούνται σε κατάψυξη (-20°C), αποψύχονται και τοποθετούνται σε δοχείο με πάγο κατά τη διάρκεια της αντίδρασης. Πριν από τη χρήση τους αναμειγνύουμε καλά (Vortex) το χλωριούχο μαγνήσιο (MgCl₂), ενώ το 5X ρυθμιστικό διάλυμα, τα dNTPs και τους εκκινητές τα ανακατεύουμε με ελαφρές κινήσεις ή με πιπέττα. Δεν ανακατεύουμε την πολυμεράση, μπορεί να κάνουμε σύντομη περιστροφική κίνηση (spin), σε μικροφυγόκεντρο για ομοιογένεια.

1. Προετοιμάζουμε τον 1^ο γύρο (1st round) PCR μίγμα (1 x mix) για N + 2 (όπου N ο αριθμός των δειγμάτων που επεξεργάζονται)

Συστατικό	Ποσότητα ανά δείγμα
5x buffer (PROMEGA)	9 μl
MgCl ₂ 25mM (PROMEGA)	5 μl
dNTPs 10mM το καθένα (INVITROGEN)	1 μl
Εκκινητής Forward VP4-F (20pmol/μl) (ROCHE)	1 μl
Εκκινητής Reverse VP4-R (20pmol/μl) (ROCHE)	1 μl
Taq Polymerase 5U/μl (PROMEGA)	0.2 μl
DNase/RNase free water	27.8 μl
Τελικός όγκος	45 μl

2. Προσθέτουμε 45μl από το PCR μίγμα του 1^{ου} γύρου (VP4 first round PCR mix) και 5μl cDNA (από την RT αντίδραση) σε κάθε PCR tube(των 200μl).
3. Φυγοκεντρούμε σύντομα στη μικροφυγόκεντρο (spin) για 5 δευτερόλεπτα.
4. Μεταφέρουμε τα σωληνάρια (PCR tubes) στο θερμοκυκλοποιητή και ρυθμίζουμε τις θερμοκρασίες του κάθε κύκλου επαναλαμβάνοντας τον κάθε κύκλο για τις εξής φορές:

Στάδια	Θερμοκρασία	Διάρκεια	Κύκλοι
Αρχική αποδιάταξη (Initial Denaturation)	94°C	2 λεπτά	X1
Αποδιάταξη (Denaturation)	94°C	1 λεπτό	X35
Πρόσδεση εκκινητών (Annealing)	50°C	1 λεπτό	
Επέκταση (Extension)	72 °C	1 λεπτό	
Τελική επέκταση (Final extension)	72 °C	7 λεπτά	X1
Διακοπή (Pause)	15 °C	Διατήρηση (Hold)	

5. Μετά το τέλος της αντίδρασης διατηρούμε τα προϊόντα PCR του 1^{ου} γύρου (VP4 1st round product) στους 4°C μέχρι να τα χρησιμοποιήσουμε στο 2^ο γύρο.

2.4.6. Τυποποίηση P του γονιδίου VP4 του Ρότα ιού (2^{ος} γύρος semi-nested multiplex PCR)

Χρησιμοποιούμε τους ακόλουθους εκκινητές: (*Gentsch et al., 1992, J Clin Microbiol*; *Iturriza-Gómara et al., 2000, J Virol*; 2004, *J Clin Microbiol*)

Αλληλουχία εκκινητών 2^{ου} γύρου P τυποποίησης Ρότα ιού

VP4-F 5' TAT GCT CCA GTN AAT TGG 3' (nt 132-149)

P[4] 5' CTA TTG TTA GAG GTT AGA GTC 3' (nt 474-494) Μέγεθος προϊόντος: 483bp

P[6] 5' TGT TGA TTA GTT GGA TTC AA 3' (nt 259-278) Μέγεθος προϊόντος: 267bp

P[8] 5' TCT ACT GGR TTR ACN TGC 3' (nt 339-356) Μέγεθος προϊόντος: 345bp

P[9] 5' TGA GAC ATG CAA TTG GAC 3' (nt 385-402) Μέγεθος προϊόντος: 391bp

P[10] 5' ATC ATA GTT AGT AGT CGG 3' (nt 575-594) Μέγεθος προϊόντος: 583bp

P[11] 5' GTA AAC ATC CAG AAT GTG 3' (nt 305-323) Μέγεθος προϊόντος: 312bp

Όπου N=A or T or G or C και R= A or G 131

1. Προετοιμάζουμε το 2^ο γύρο (2nd round) PCR μίγμα (1 x mix) για N + 2 (όπου N ο αριθμός των δειγμάτων που επεξεργάζονται)

Συστατικό	Ποσότητα ανά δείγμα
5x buffer (PROMEGA)	9.6 μl
MgCl ₂ 25mM (PROMEGA)	5 μl
dNTPs 10mM το καθένα (INVITROGEN)	1 μl
Εκκινητής Forward VP4-F (20pmol/μl) (ROCHE)	1 μl
Εκκινητής P[4] (20pmol/μl) (ROCHE)	1 μl
Εκκινητής P[6] (20pmol/μl) (ROCHE)	1 μl
Εκκινητής P[8] (20pmol/μl) (ROCHE)	1 μl
Εκκινητής P[9] (20pmol/μl) (ROCHE)	1 μl
Εκκινητής P[10] (20pmol/μl) (ROCHE)	1 μl
Εκκινητής P[11] (20pmol/μl) (ROCHE)	1 μl
Taq Polymerase 5U/μl (PROMEGA)	0.2 μl
DNase/RNase free water	25.2 μl
Τελικός όγκος	48 μl

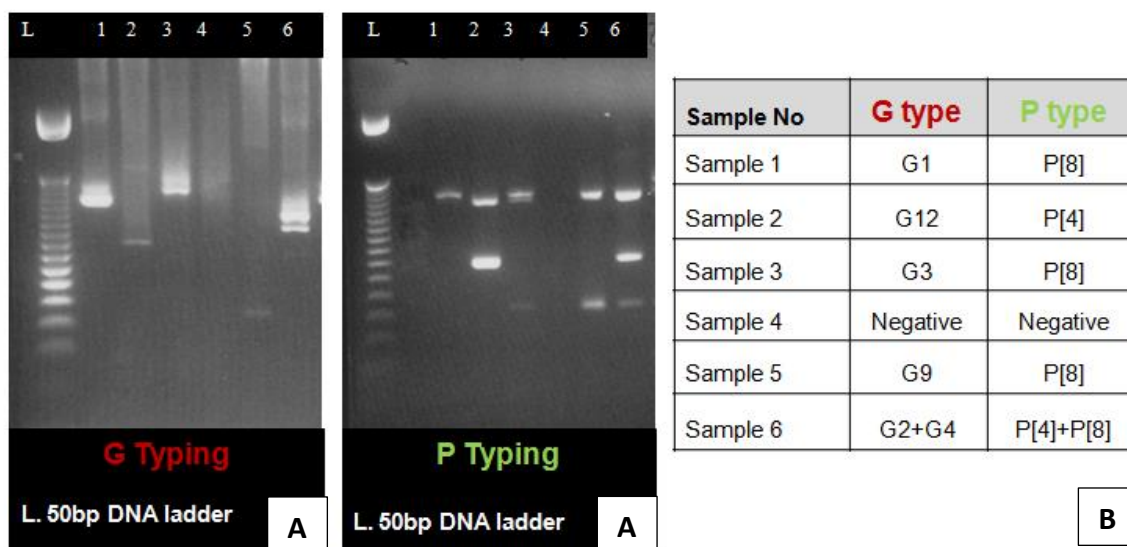
2. Προσθέτουμε 48ul από το PCR μίγμα του 2^{ου} γύρου (VP4 2nd round PCR mix) σε κάθε PCR tube και 2 μl από το προϊόν PCR του πρώτου γύρου (VP4 1st round product).
3. Φυγοκεντρούμε σύντομα στη μικροφυγόκεντρο (spin) για 5 δευτερόλεπτα.
4. Μεταφέρουμε τα σωληνάρια (PCR tubes) στο θερμοκυκλοποιητή και ρυθμίζουμε τις θερμοκρασίες του κάθε κύκλου επαναλαμβάνοντας τον κάθε κύκλο για τις εξής φορές:

Στάδια	Θερμοκρασία	Διάρκεια	Κύκλοι
Αρχική αποδιάταξη (Initial Denaturation)	94°C	4λεπτά	X1
Αποδιάταξη (Denaturation)	94°C	1 λεπτό	X30
Πρόσδεση εκκινητών (Annealing)	45°C	2 λεπτά	
Επέκταση (Extension)	72 °C	1 λεπτό	
Τελική επέκταση (Final extension)	72 °C	7 λεπτά	X1
Διακοπή (Pause)	15 °C	Διατήρηση (Hold)	

5. Μετά το τέλος της αντίδρασης διατηρούμε τα προϊόντα PCR του 2^{ου} γύρου (VP4 2nd round product) στους 4°C.

2.4.7. Ηλεκτροφόρηση σε γέλη αгарόζης

Τα προϊόντα DNA του 2^{ου} γύρου της semi-nested multiplex PCR για τα γονίδια VP7 και VP4 τοποθετούνται σε πήκτωμα αгарόζης 2% (2gr αгарόζης σε 100 mL TBE) μαζί με βρωμιούχο αιθίδιο (10 mg/mL) σε αναλογία 6 μ L ανά 100 mL πηκτώματος αгарόζης. Από κάθε δείγμα χρησιμοποιούνται 5 μ L DNA για το κάθε γονίδιο ξεχωριστά (VP7 και VP4). Επίσης σε κάθε ηλεκτροφόρηση χρησιμοποιούμε κλίμακα διαβάθμισης του μεγέθους του DNA 1 Kb Plus DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific, Ref. 10787018). Στη συνέχεια πραγματοποιείται η ηλεκτροφόρηση στα 100V για περίπου 1,5 ώρα. Ακολουθεί η οπτικοποίηση και η φωτογράφιση των αποτελεσμάτων υπό UV φωτισμό (Εικόνα 20). Ο προσδιορισμός του μεγέθους των προϊόντων DNA (αριθμός ζευγών βάσεων, bp) γίνεται με την κλίμακα διαβάθμισης. Το μέγεθος DNA κάθε δείγματος συγκρίνεται με το γνωστό μέγεθος των γονοτύπων για τα αντίστοιχα γονίδια VP7 και VP4 (Εικόνα 18 και Εικόνα 19). Ολοκληρώνεται η διαδικασία της τυποποίησης με την καταγραφή των αποτελεσμάτων (Εικόνα 19)



Εικόνα 20. Α. Φωτογραφία υπό UV φωτισμό πειράματος ηλεκτροφόρησης γενετικού υλικού (G και P τυποποίηση) 5 δειγμάτων Ρότα ιού της μελέτης και ενός αρνητικού μάρτυρα σε γέλη αгарόζης 2%.

Β. Τυποποίηση των δειγμάτων σε G και P γονότυπο με βάση το μέγεθος DNA που απομονώθηκε από το κάθε δείγμα για τα VP7 και VP4 γονίδια αντίστοιχα.

2.5 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων έγινε με το στατιστικό πακέτο SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) version 25.0 (SPSS Institute, Inc, Chicago, IL). Χρησιμοποιήθηκαν οι δοκιμασίες Fisher-exact test (χ^2) για την ύπαρξη σχέσης μεταξύ κατηγορικών μεταβλητών και Student t-test για τον έλεγχο ποσοτικών μεταβλητών, που ακολουθούν κανονική κατανομή. Έγινε έλεγχος κανονικής κατανομής των ποσοτικών μεταβλητών με το στατιστικό κριτήριο One-Sample Kolmogorov-Smirnov test. Για τον έλεγχο ύπαρξης σχέσης ανάμεσα σε μία ποσοτική, που ακολουθεί κανονική κατανομή και μία κατηγορική μεταβλητή με περισσότερες από δύο κατηγορίες έγινε ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα (One Way ANOVA). Σε περίπτωση μη κανονικής κατανομής της ποσοτικής μεταβλητών εφαρμόστηκαν τα μη παραμετρικά test Mann-Whitney και Kruskal Wallis. Τα αποτελέσματα two-tailed p value <0,05 θεωρήθηκαν στατιστικώς σημαντικά.

2.6 ΔΕΟΝΤΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ

Σε κάθε επιστημονική μελέτη για να αποτραπεί κάθε πιθανότητα εμφάνισης χειρισμών, που θα μπορούσαν να βλάψουν τα υποκείμενα που λαμβάνουν μέρος σε αυτήν, θα πρέπει να εφαρμόζονται και να τηρούνται αυστηρά οι αρχές δεοντολογίας, οι οποίες διασφαλίζουν και καθορίζουν τους ηθικούς άξονες μέσα στους οποίους αναπτύσσεται και ολοκληρώνεται μια μελέτη. Στη παρούσα μελέτη τηρήθηκαν όλες οι παραπάνω δεοντολογικές αρχές.

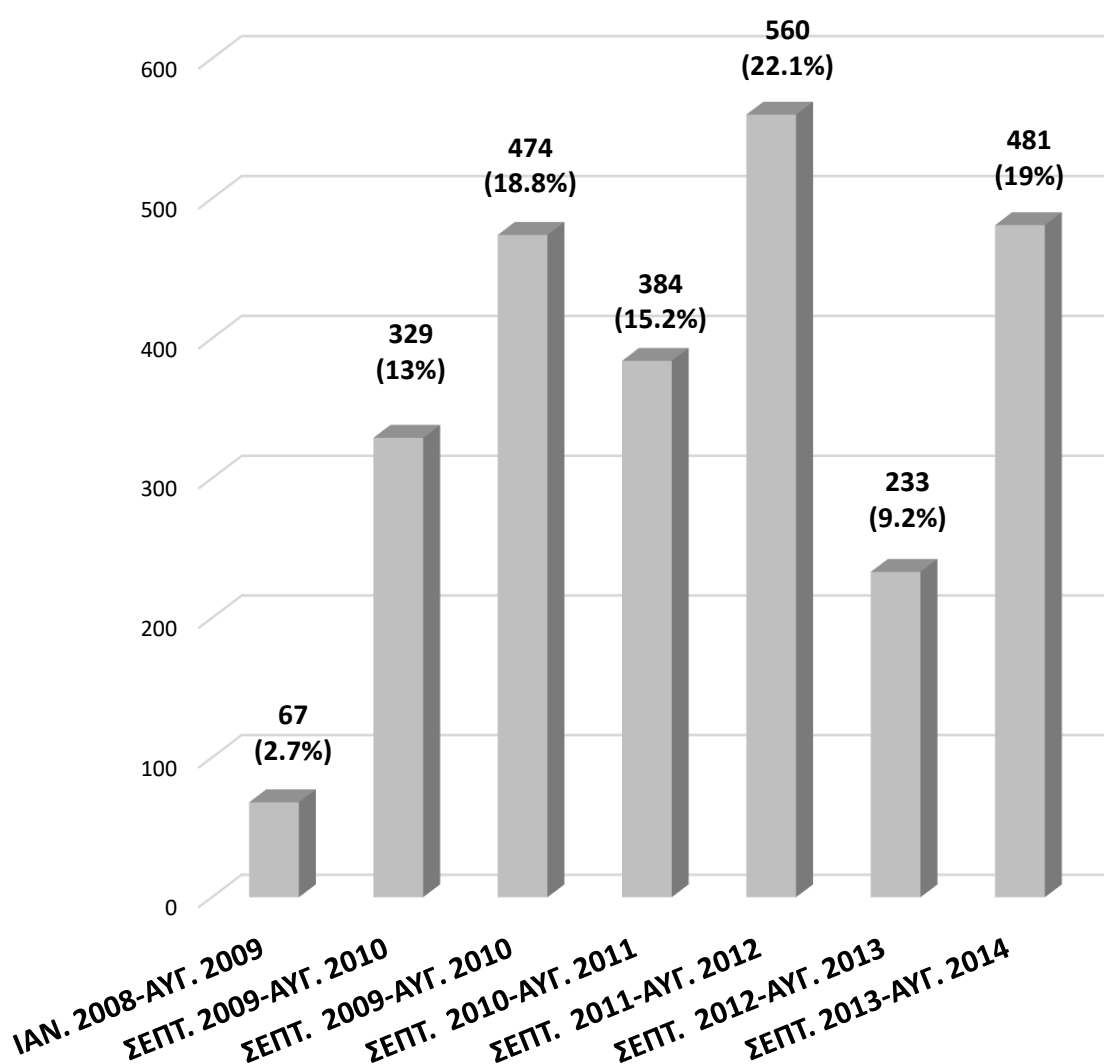
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Κατά τη διάρκεια της μελέτης συγκεντρώθηκαν 2528 παιδιά με συμπτώματα ΟΓ, τα οποία εξετάστηκαν στο τμήμα επειγόντων περιστατικών ή/και νοσηλεύθηκαν σε Παιδιατρικές Κλινικές. Από αυτά ελήφθη δείγμα κοπράνων, το οποίο εξετάστηκε με τη μέθοδο ταχείας ανοσοχρωματογραφίας και βρέθηκε θετικό αντιγόνο Ρότα ιού.

Από το σύνολο των παιδιών αυτών βρέθηκε ότι:

- Τα αγόρια ήταν 1378/2528 (54.5%) και τα κορίτσια 1150/2528 (45.5%)
- Η καταγωγή των παιδιών ήταν: ελληνική 56.9%, ρομά 7.7% και αλλοδαπή 35.4%.
- Η μέση ηλικία των παιδιών την ημέρα της συλλογής του δείγματος ήταν 20 μήνες (mean±SD 20.2 ± 18 μήνες), η διάμεση τιμή 14.5 μήνες, IQR 25.1 μήνες, εύρος 2 μέρες με 5.9 έτη.
- Αστική περιοχή ήταν η κατοικία του 80.7% των παιδιών και αγροτική περιοχή ήταν η κατοικία του 19.3% των παιδιών.
- Νοσηλευόμενα λόγω ΟΓ από Ρότα ιό ήταν το 95.4% των παιδιών.
- Νοσοκομειακή λοίμωξη από Ρότα ιό σημειώθηκε στο 19.2% των παιδιών.
- Εμβόλιο για Ρότα ιό (έστω και μία δόση) είχε γίνει σε 43 παιδιά (1.7%).
- Πενταδύναμο εμβόλιο είχαν κάνει 17 παιδιά.
 - 3 δόσεις είχαν κάνει 9 παιδιά
 - 2 δόσεις είχαν κάνει 3 παιδιά
 - 1 δόση είχαν κάνει 5 παιδιά
- Μονοδύναμο εμβόλιο είχαν κάνει 22 παιδιά.
 - 2 δόσεις είχαν κάνει 15 παιδιά
 - 1 δόση είχαν κάνει 7 παιδιά
- Άγνωστο εμβόλιο για Ρότα ιό είχαν κάνει 4 παιδιά.
 - 1 δόση είχε κάνει το ένα παιδί
 - άγνωστο πόσες δόσεις είχαν κάνει σημειώθηκε σε 3 παιδιά

Στο Σχήμα 1 απεικονίζεται ο αριθμός των παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό, που μελετήθηκε σε κάθε περίοδο της μελέτης. Παρατηρείται εναλλαγή του αριθμού των παιδιών, που συγκεντρώθηκαν από έτος σε έτος. Τα μονά έτη της μελέτης ο αριθμός παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό ήταν υψηλότερος συγκριτικά με τα ζυγά έτη της μελέτης, με εξαίρεση την πρώτη περίοδο (Ιανουάριος 2008 - Αύγουστος 2008), που ήταν μικρή και συγκεντρώθηκαν τα λιγότερα παιδιά (67 παιδιά, 2.7% του συνόλου).



Σχήμα 1. Αριθμός παιδιών και αντίστοιχο ποσοστό παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό που συμμετείχε στη μελέτη ανά έτος. (N=2528).

Στον Πίνακα 9 αναγράφονται αναλυτικά οι 20 Παιδιατρικές Κλινικές, κατανεμημένες ανά περιφέρεια και για κάθε Παιδιατρική Κλινική φαίνεται ο αριθμός των παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό, που συγκεντρώθηκε συνολικά.

- Ο μεγαλύτερος αριθμός παιδιών (1434 παιδιά, 56.7% του συνόλου) συγκεντρώθηκε στο Νοσοκομείο Παίδων «Η Αγία Σοφία», που είναι το μεγαλύτερο τριτοβάθμιο παιδιατρικό νοσοκομείο της χώρας, καθώς νοσηλεύονται σε αυτό περίπου 75,000 παιδιά/έτος.
- Στην περιφέρεια Αττικής, όπου βρίσκονται οι 6 από τις 20 Παιδιατρικές κλινικές, που συμμετείχαν στη μελέτη, συγκεντρώθηκε το 76.6% των παιδιών.
- Στις υπόλοιπες 9 περιφέρειες της χώρας συγκεντρώθηκε το 23.4% των παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό.

Στον Πίνακα 10 απεικονίζεται αναλυτικά ο ετήσιος αριθμός των παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό, που συγκεντρώθηκε σε κάθε Παιδιατρική Κλινική της μελέτης.

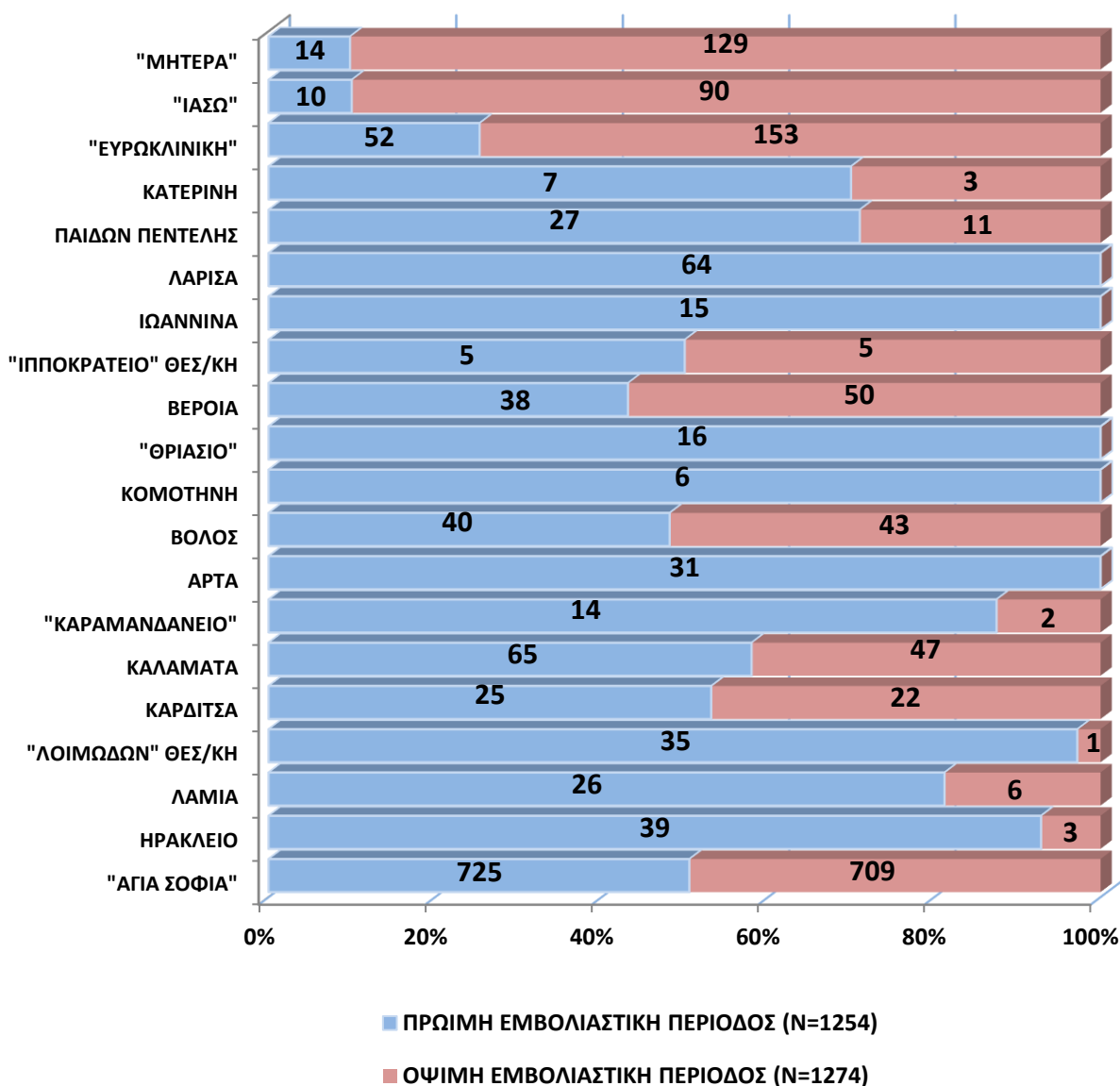
Πίνακας 9. Αριθμός παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό, που συγκεντρώθηκε ανά Παιδιατρική Κλινική.

	ΑΡΙΘΜΟΣ ΠΑΙΔΙΩΝ ΜΕ ΡΟΤΑ ΙΟ (N)	(%)
1. ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΑΤΤΙΚΗΣ	1936	76,6
Νοσοκομείο Παιδων «Η Αγία Σοφία», Αθήνα	1434	56.7
«ΕΥΡΩΚΛΙΝΙΚΗ» Παιδων, Αθήνα	205	8.1
Νοσοκομείο Παιδων «ΜΗΤΕΡΑ», Αθήνα	143	5.7
«ΙΑΣΩ» Παιδων, Αθήνα	100	4.0
Νοσοκομείο Παιδων Πεντέλης, Αθήνα	38	1.5
«Θριάσιο» Νοσοκομείο Αττικής	16	0.6
ΛΟΙΠΕΣ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΕΣ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ	592	23.4
2. ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΣ		
Νοσοκομείο Καλαμάτας	112	4.4
3. ΔΥΤΙΚΗ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑ		
Νοσοκομείο Βέροιας	88	3.5
Νοσοκομείο Κατερίνης	10	0.4
4. ΘΕΣΣΑΛΙΑ		
Νοσοκομείο Βόλου	83	3.3
Νοσοκομείο Λάρισας	64	2.5
Νοσοκομείο Καρδίτσας	47	1.9
5. ΚΡΗΤΗ		
Νοσοκομείο Ηρακλείου	42	1.7
6. ΚΕΝΤΡΙΚΗ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑ		
Νοσοκομείο «Λοιμωδών» Θεσσαλονίκης	36	1.4
«Ιπποκράτειο» Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης	10	0.4
7. ΗΠΕΙΡΟΣ		
Νοσοκομείο Άρτας	31	1.2
Νοσοκομείο Ιωαννίνων	15	0.6
8. ΣΤΕΡΕΑ ΕΛΛΑΔΑ		
Νοσοκομείο Λαμίας	32	1.3
9. ΔΥΤΙΚΗ ΕΛΛΑΔΑ		
«Καραμανδάνειο» Νοσοκομείο Πάτρας	16	0.6
10. ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑ&ΘΡΑΚΗ		
Νοσοκομείο Κομοτηνής	6	0.2
ΣΥΝΟΛΟ	2528	100.0

Πίνακας 10. Ετήσια κατανομή παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό ανά Παιδιατρική Κλινική.

ΑΡΙΘΜΟΣ ΠΑΙΔΙΩΝ ΜΕ ΟΓ ΑΠΟ ΡΟΤΑ ΙΟ								
ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ	Ιαν.08-Αύγ.08	Σεπ.08-Αύγ.09	Σεπ.09-Αύγ.10	Σεπ.10-Αύγ.11	Σεπ.11-Αύγ.12	Σεπ.12-Αύγ.13	Σεπ.13-Αύγ.14	ΣΥΝΟΛΟ (%)
«Η Αγία Σοφία», Αθήνα	44	189	315	177	232	143	334	1434 (56,,)
Ηρακλείου	0	1	18	20	3	0	0	42 (1.7)
Λαμίας	0	10	7	9	6	0	0	32 (1.3)
«Λοιμωδών» Θεσσαλονίκης	0	28	0	7	0	1	0	36 (1.4)
Καρδίτσας	0	7	10	8	13	0	9	47 (1.9)
Καλαμάτας	0	19	22	24	26	9	12	112 (4.4)
«Καραμανδάνειο», Πάτρα	0	0	3	11	2	0	0	16 (0.6)
Άρτας	0	13	12	6	0	0	0	31 (1.2)
Βόλου	0	23	8	9	39	4	0	83 (3.3)
Κομοτηνής	0	4	2	0	0	0	0	6 (0.2)
«Θριάσιο», Αττική	0	3	3	10	0	0	0	16 (0.6)
Βέροιας	0	6	23	9	22	5	23	88 (3.5)
«Ιπποκράτειο», Θεσσαλονίκη	0	3	1	1	0	0	5	10 (0.4)
Ιωαννίνων	0	2	10	3	0	0	0	15 (0.6)
Λάρισας	23	16	0	25	0	0	0	64 (2.5)
Παίδων Πεντέλης, Αθήνα	0	2	16	9	0	11	0	38 (1.5)
Κατερίνης	0	2	0	5	3	0	0	10 (0.4)
«ΕΥΡΩΚΛΙΝΙΚΗ», Αθήνα	0	0	24	28	95	29	29	205 (8,1)
«ΙΑΣΩ», Αθήνα	0	1	0	9	39	22	29	100 (4,0)
«ΜΗΤΕΡΑ», Αθήνα	0	0	0	14	80	9	40	143 (5.7)
ΣΥΝΟΛΟ ΠΑΙΔΙΩΝ ΑΝΑ ΕΤΟΣ (%)	67 (2.7)	329 (13)	474 (18.8)	384 (15.2)	560 (22.1)	233 (9.2)	481 (19)	2528 (100)

Στο σχήμα 2 απεικονίζεται ο αριθμός παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό, που συγκεντρώθηκε ανά Παιδιατρική Κλινική, κατά την περίοδο πρώιμης και όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης. Συνολικά συγκεντρώθηκαν 1254 παιδιά την περίοδο πρώιμης εμβολιαστικής κάλυψης και 1274 παιδιά την περίοδο όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης. Σε όλα τα κέντρα υπήρχαν παιδιά με ΟΓ από Ρότα ιό και κατά τις δύο περιόδους της μελέτης, με εξαίρεση πέντε Παιδιατρικών Κλινικών (Θριάσιο, Ιωάννινα, Άρτα, Κομοτηνή, Λάρισα), όπου συγκεντρώθηκαν παιδιά μόνο στην περίοδο πρώιμης εμβολιαστικής κάλυψης,



Σχήμα 2. Αριθμός παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό που συγκεντρώθηκε ανά Παιδιατρική Κλινική κατά την περίοδο πρώιμης και όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης.

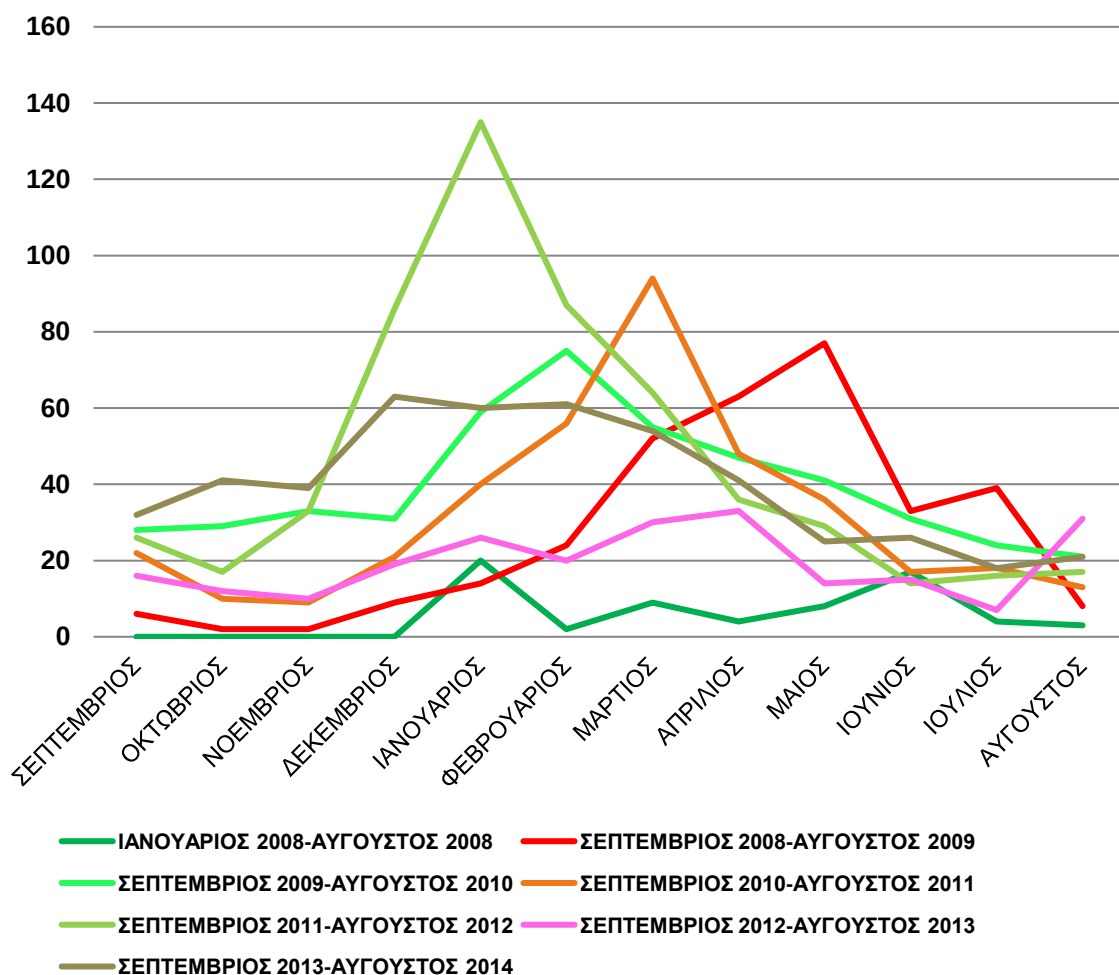
3.1 ΕΠΟΧΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΡΟΤΑ ΙΟΥ

Τα περισσότερα παιδιά με ΟΓ από Ρότα ιό νόσησαν τους μήνες Μάρτιο (14.2%) και τον Ιανουάριο (14%). Η περίοδος αυξημένης συχνότητας της ΟΓ από Ρότα ιό, η περίοδος δηλαδή που η συγκέντρωση παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό ήταν μεγαλύτερη από 10% ήταν από τον Ιανουάριο έως και τον Απρίλιο, όπου συγκεντρώθηκαν περισσότερα από τα μισά παιδιά με ΟΓ από Ρότα ιό (51.8% των παιδιών), όπως φαίνεται και στον Πίνακα 11.

Πίνακας 11. Συχνότητα και αθροιστική συχνότητα παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό ανά μήνα.

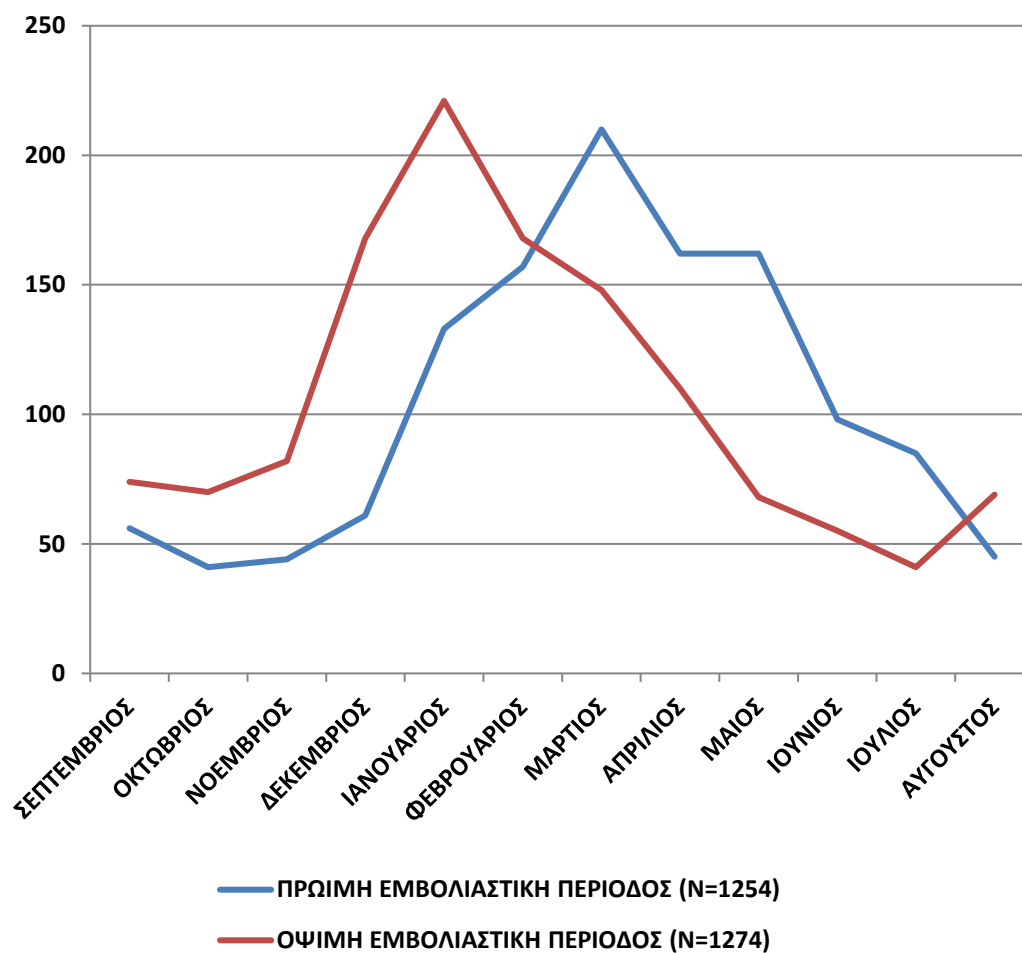
ΜΗΝΑΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΠΑΙΔΙΩΝ ΜΕ ΟΓ ΑΠΟ ΡΟΤΑ ΙΟ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ %	ΑΘΡΟΙΣΤΙΚΗ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ %
Ιανουάριος	354	14.0	14.0
Φεβρουάριος	325	12.9	26.9
Μάρτιος	358	14.2	41.0
Απρίλιος	272	10.8	51.8
Μάιος	230	9.1	60.9
Ιούνιος	153	6.0	66.9
Ιούλιος	126	5.0	71.9
Αύγουστος	114	4.5	76.4
Σεπτέμβριος	130	5.1	81.6
Οκτώβριος	111	4.4	86.0
Νοέμβριος	126	5.0	90.9
Δεκέμβριος	229	9.1	100.0
ΣΥΝΟΛΟ	2528	100.0	

Γραφική αναπαράσταση της μηνιαίας κατανομής των παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό ανά περίοδο της μελέτης φαίνεται στο Σχήμα 3. Κάθε χρώμα αντιπροσωπεύει διαφορετική χρονική περίοδο. Από τη γραφική παράσταση είναι εμφανής η περιοδικότητα της μηνιαίας κατανομής των παιδιών ανά διετία, δηλαδή στα μονά έτη της μελέτης (αποχρώσεις του πράσινου στη γραφική παράσταση) τα περισσότερα παιδιά με ΟΓ από Ρότα ιό συγκεντρώθηκαν τους χειμερινούς μήνες και συγκεκριμένα τους μήνες Ιανουάριο 2008, Φεβρουάριο 2010, Ιανουάριο 2012 και Δεκέμβριο 2014, ενώ στα ζυγά έτη της μελέτης (αποχρώσεις του κόκκινου στη γραφική παράσταση) τα περισσότερα παιδιά με ΟΓ από Ρότα ιό συγκεντρώθηκαν τους μήνες της Άνοιξης, δηλαδή τους μήνες Μάιο 2009, Μάρτιο 2011 και Απρίλιο 2013 αντίστοιχα ($p < 0.001$).



Σχήμα 3. Μηνιαία κατανομή παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό ανά περίοδο της μελέτης. (N=2528).

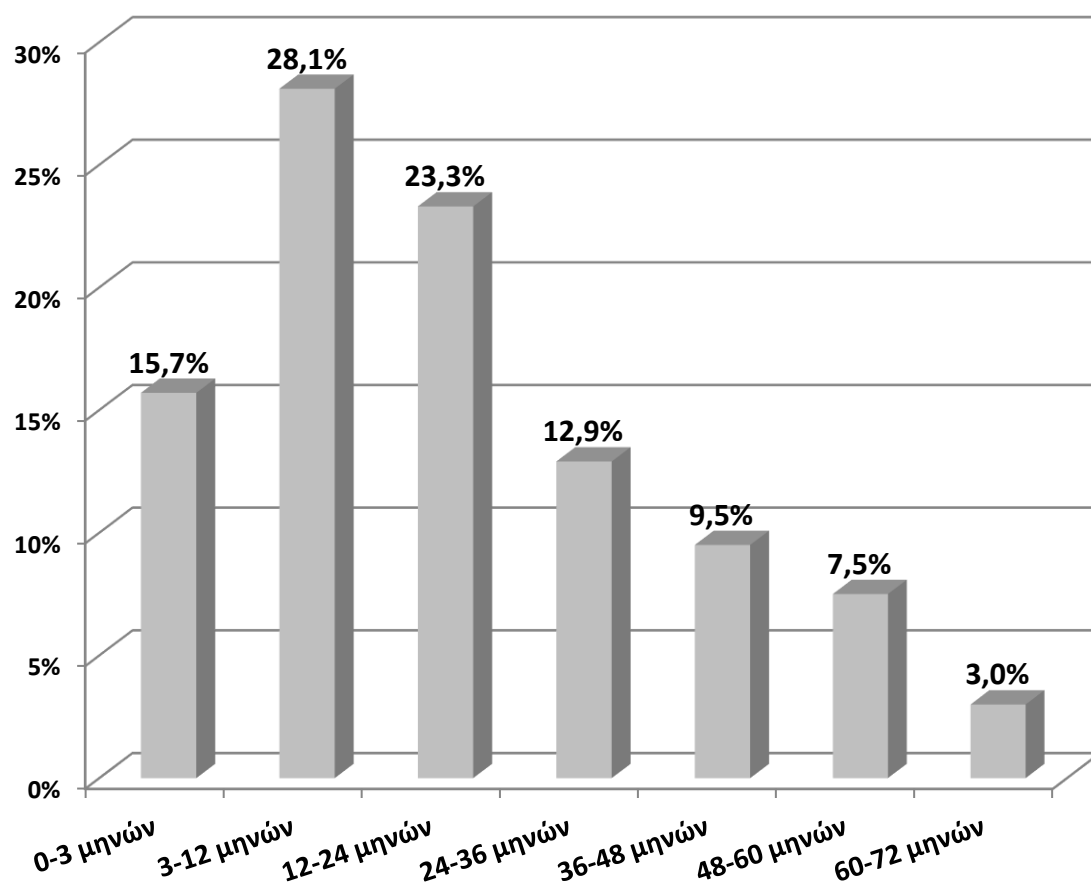
Συγκρίνοντας την περίοδο πρώιμης εμβολιαστικής κάλυψης με την περίοδο όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης βρέθηκε ότι η χρονική διάρκεια αιχμής και ο μήνας που κορυφώνεται η συγκέντρωση παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό είναι διαφορετικές ($p < 0,001$). Συγκεκριμένα κατά την πρώτη περίοδο (πρώιμη εμβολιαστική κάλυψη) η αιχμή του Ρότα ιού διαρκεί από τον Ιανουάριο έως και το Μάιο και κορυφώνεται το μήνα Μάρτιο. Αντίθετα τη δεύτερη περίοδο (όψιμη εμβολιαστική κάλυψη) η αιχμή του Ρότα ιού κορυφώνεται τον Ιανουάριο και η διάρκεια της περιόδου αιχμής διαρκεί λιγότερο και συγκεκριμένα από το Δεκέμβριο έως και το Μάρτιο. Οι δύο καμπύλες δηλαδή είναι μετατοπισμένες κατά 2 μήνες (Σχήμα 4).



Σχήμα 4. Μηνιαία κατανομή παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό κατά την περίοδο πρώιμης και όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης.

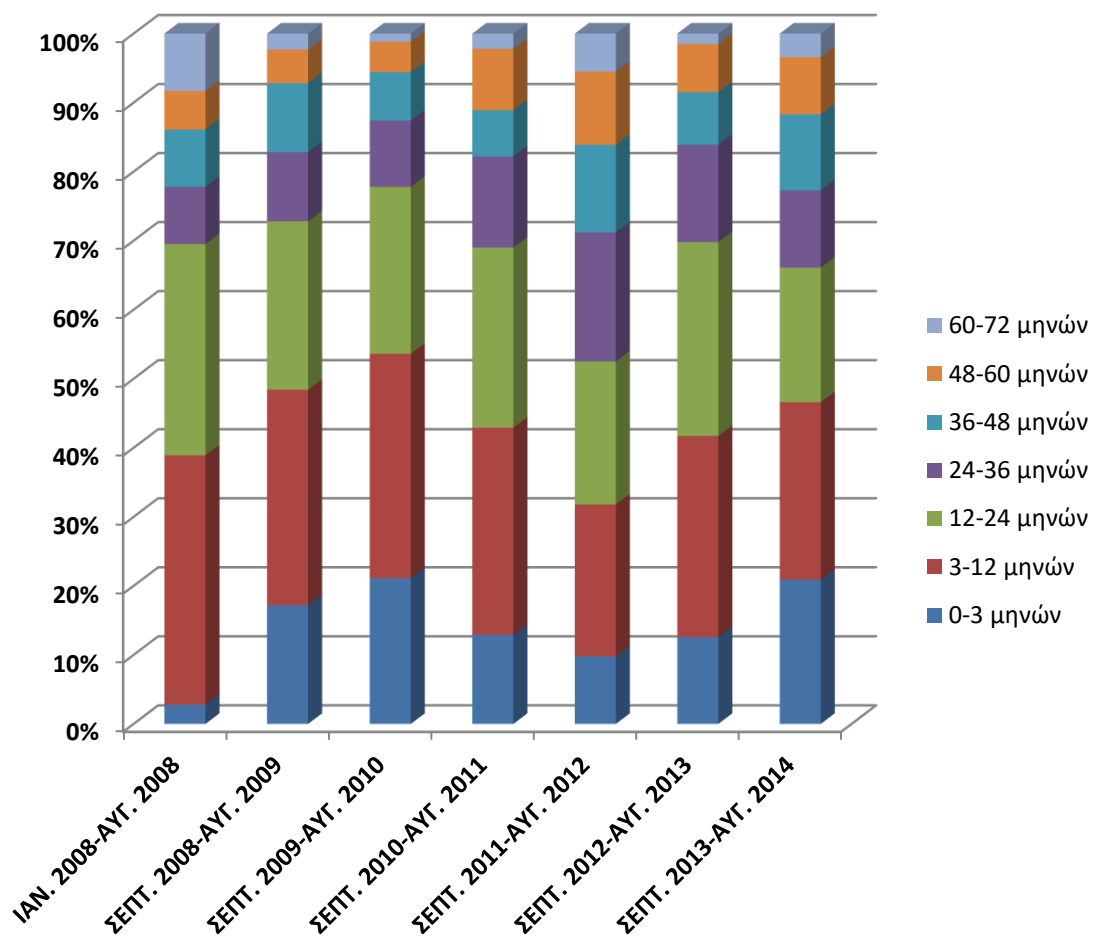
3.2 ΗΛΙΚΙΑΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΡΟΤΑ ΙΟΥ

Η ηλικιακή κατανομή των παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό απεικονίζεται στο σχήμα 5. Τα περισσότερα παιδιά με ΟΓ από Ρότα ιό είχαν ηλικία 3-12 μηνών (28.1%). Μικρότερα του ενός έτους ήταν σχεδόν τα μισά παιδιά της μελέτης (43.8% των παιδιών), ενώ περισσότερα από τα μισά παιδιά (80% των παιδιών) είχαν ηλικία έως και 3 ετών.



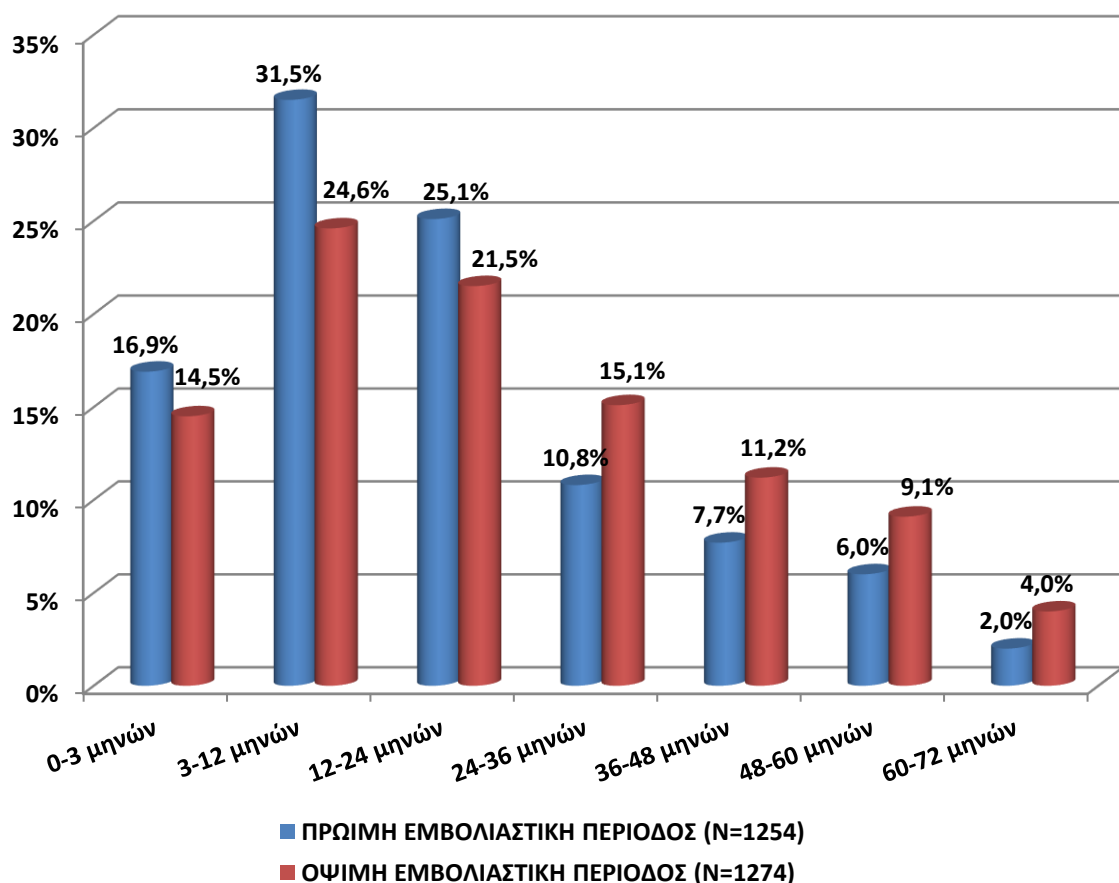
Σχήμα 5. Ηλικιακή κατανομή παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό. (N=2528).

Στο σχήμα 6 απεικονίζεται η κατανομή των ηλικιακών ομάδων των παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό σε κάθε περίοδο της μελέτης, όπου φαίνεται ότι οι ηλικιακές ομάδες 3-12 μηνών και 12-24 μηνών είναι αυτές, που επικρατούν σε όλη τη διάρκεια της μελέτης. Οι ηλικιακές ομάδες 24 μηνών έως 60 μηνών αυξάνονται προοδευτικά κυρίως μετά το Σεπτέμβριο του 2011, ενώ οι πολύ μικρές ηλικίες (<3 μηνών) και οι πολύ μεγάλες (60-72 μηνών) παρουσιάζουν διακυμάνσεις από περίοδο σε περίοδο ($p<0.001$).



Σχήμα 6. Κατανομή ηλικιακών ομάδων παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό ανά περίοδο της μελέτης. (N=2528).

Στο σχήμα 7 συγκρίνοντας την κάθε ηλικιακή ομάδα των παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό κατά την περίοδο πρώιμης και όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης παρατηρούμε ότι τα παιδιά ηλικίας κάτω των 2 ετών υπερτερούν στην περίοδο πρώιμης εμβολιαστικής κάλυψης συγκριτικά με τα παιδιά της ίδιας ηλικίας, που συγκεντρώθηκαν στην περίοδο όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης. Αντίθετα τα παιδιά ηλικίας άνω των 2 ετών υπερτερούν στην περίοδο όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης συγκρινόμενα με τα παιδιά αντίστοιχης ηλικίας στην περίοδο πρώιμης εμβολιαστικής κάλυψης ($p < 0,001$). Επίσης συγκρίνοντας τη μέση ηλικία των παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό την περίοδο πρώιμης εμβολιαστικής κάλυψης ($\text{mean} \pm \text{SD}$ 17.9 μήνες $\pm$ 16.6) και την ηλικία των παιδιών την περίοδο όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης ($\text{mean} \pm \text{SD}$ 22.6 μήνες $\pm$ 19) παρατηρούμε αύξηση της μέσης ηλικίας των παιδιών, που νοσούν από Ρότα ιό μετά την εφαρμογή των εμβολίων.

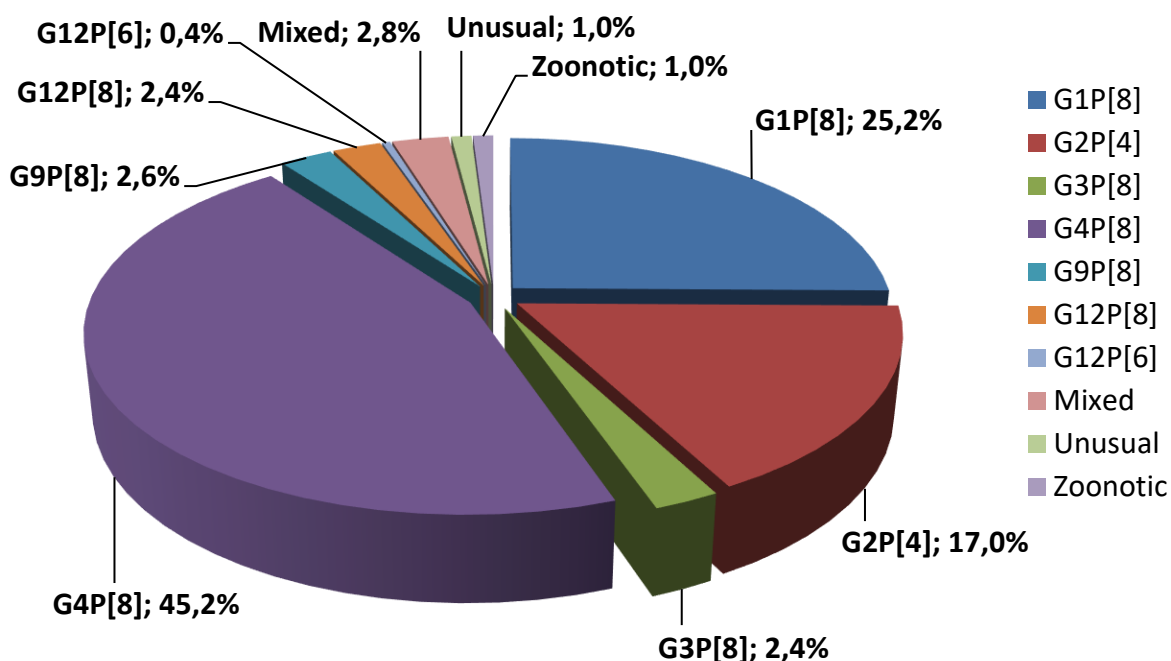


Σχήμα 7. Κατανομή ηλικιακών ομάδων παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό την περίοδο πρώιμης εμβολιαστικής κάλυψης και όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης.

3.3 ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΡΟΤΑ ΙΟΥ

Κατά τη διάρκεια της μελέτης απομονώθηκαν 2100 γονότυποι Ρότα ιού από 2528 δείγματα κοπράνων από παιδιά με ΟΓ από Ρότα ιό. Η τυποποίηση γονοτύπων του Ρότα ιού πραγματοποιήθηκε σε 2100/2528 δείγματα κοπράνων, δηλαδή στο 83.1% των δειγμάτων. Οι γονότυποι Ρότα ιού, που απομονώθηκαν σε ποσοστό $\geq 1\%$ ήταν οι εξής:

- G4P[8] (45.2%)
- G1P[8] (25.2%)
- G2P[4] (17%)
- G9P[8] (2.6%)
- G3P[8] (2.4%)
- G12P[8] (2.4%)
- μικτοί γονότυποι-“mixed” (2.8%)
- γονότυποι πιθανής ζωικής προέλευσης-“zoonotic” (1.4%)
- ασυνήθης συνδυασμός γονοτύπων-“unusual” (1%)



Σχήμα 8. Κατανομή γονοτύπων Ρότα ιού σε παιδιά με ΟΓ από Ρότα ιό κατά τη διάρκεια επταετούς μελέτης (2008-2014).

Οι συνήθεις γονότυποι, δηλαδή οι 5 συχνότεροι γονότυποι, που απαντώνται ανά τον κόσμο ήταν οι G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] και G9P[8] και συγκεντρώθηκαν σε ποσοστό 92.4%. Ο G4P[8] ήταν ο συχνότερος και εντοπίστηκε στο 45.2% των δειγμάτων, ο G1P[8] ήταν ο δεύτερος συχνότερος και απομονώθηκε από το 25.2% των δειγμάτων και ακολούθησε τρίτος σε συχνότητα ο G2P[4] με 17%. Οι G9P[8] και G3P[8] συγκεντρώθηκαν σε μικρότερα ποσοστά 2.6% και 2.4% αντίστοιχα. Στα ίδια ποσοστά περίπου απομονώθηκε ένα νέο αναδυόμενο στέλεχος, το G12, που βρέθηκε σε συνδυασμό κυρίως με τον P[8] αλλά και με τον P[6] και συγκεντρώθηκε με ποσοστά 2.4% και 0.4% αντίστοιχα.

Οι ασυνήθεις γονότυποι ήταν αυτοί που προέκυψαν από μη συνηθισμένο συνδυασμό των 5 προηγούμενων γονοτύπων (G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] και G9P[8]) και αποτέλεσαν το 1% των δειγμάτων. Συνολικά απομονώθηκαν 4 ασυνήθεις συνδυασμοί: G1P[4], G2P[8], G4P[4], G9P[4].

Μικτοί γονότυποι ήταν αυτοί που είχαν παραπάνω από έναν G ή/και P τύπο και απομονώθηκαν σε ποσοστό 2.8%. Οι γονότυποι πιθανής ζωικής προέλευσης είχαν έναν G ή/και P τύπο, που απαντάται συχνότερα σε ζώα παρά στον άνθρωπο και βρέθηκαν σε ποσοστό 1.4%. Τέτοιοι γονότυποι ήταν οι: G6, G8, G10, G12, P[6], P[9], P[10], P[14], οι οποίοι ανιχνεύθηκαν σε συνδυασμό με κάποιον από τους συνηθισμένους γονότυπους ή και σε συνδυασμό μεταξύ τους.

Στον Πίνακα 12 φαίνονται αναλυτικά οι γονότυποι, που συλλέχτηκαν σε κάθε περίοδο της μελέτης, ταξινομημένοι στις κατηγορίες, που περιγράφηκαν παραπάνω (συνήθεις, ασυνήθεις συνδυασμοί και πιθανής ζωικής προέλευσης) και η συχνότητα εμφάνισής τους. Οι μικτοί γονότυποι, που συλλέχτηκαν σε κάθε περίοδο της μελέτης, φαίνονται αναλυτικότερα στον Πίνακα 13.

Πίνακας 12. Ταξινόμηση και κατανομή γονοτύπων Ρότα ιού ανά περίοδο συλλογής των δειγμάτων (N=2100).

ΓΟΝΟΤΥΠΟΙ	Ιαν.08- Αύγ.08	Σεπ.08- Αύγ.09	Σεπ.09- Αύγ.10	Σεπ.10- Αύγ.11	Σεπ.11- Αύγ.12	Σεπ.12- Αύγ.13	Σεπ.13- Αύγ.14	ΣΥΝΟΛΟ
ΣΥΝΗΘΕΙΣ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΙ								
G1P[8]	33	22	68	238	47	90	31	529
G2P[4]	13	15	26	28	143	59	71	355
G3P[8]	0	3	4	11	26	2	3	49
G4P[8]	2	178	184	16	255	54	263	952
G9P[8]	7	4	3	1	16	6	16	53
ΑΣΥΝΗΘΕΙΣ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΟΙ								
G1P[4]	0	0	0	3	2	1	1	7
G2P[8]	0	1	2	0	0	0	6	9
G4P[4]	0	0	0	0	0	0	3	3
G9P[4]	0	0	0	0	0	0	2	2
ΓΟΝΟΤΥΠΟΙ ΠΙΘΑΝΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ								
G1P[9]	0	0	0	0	0	0	1	1
G2P[6]	0	0	0	0	0	0	2	2
G3P[9]	0	0	3	0	1	0	0	4
G4P[10]	0	0	0	0	0	0	1	1
G4P[14]	0	0	2	0	0	0	0	2
G4P[6]	0	0	0	0	0	0	2	2
G6P[14]	0	0	2	0	1	0	0	3
G6P[9]	0	0	0	0	2	0	0	2
G8P[14]	1	0	0	0	1	0	0	2
G8P[8]	0	0	0	1	0	0	0	1
G9P[9]	0	0	0	0	2	0	0	2
G10P[8]	0	0	0	0	0	0	1	1
G12P[4]	0	0	0	0	1	0	0	1
G12P[6]	0	0	0	7	0	0	0	7
G12P[8]	0	0	26	10	3	9	2	50
G12P[9]	0	0	0	1	0	0	0	1
ΣΥΝΟΛΟ	56	223	320	316	500	221	405	2041

Πίνακας 13. Ταξινόμηση και κατανομή μικτών γονοτύπων Ρότα ιού ανά περίοδο συλλογής των δειγμάτων (N=2100).

ΓΟΝΟΤΥΠΟΙ	Ιαν.08- Αύγ.08	Σεπ.08- Αύγ.09	Σεπ.09- Αύγ.10	Σεπ.10- Αύγ.11	Σεπ.11- Αύγ.12	Σεπ.12- Αύγ.13	Σεπ.13- Αύγ.14	ΣΥΝΟΛΟ
ΜΙΚΤΟΙ ΓΟΝΟΤΥΠΟΙ ΜΕ G1								
G1+G12P[8]	0	0	0	2	1	0	0	3
G1+G2P[4]	0	0	0	1	0	0	0	1
G1+G4P[8]	0	0	0	0	1	0	2	3
G1+ G9P[8]	1	0	0	1	0	0	0	2
G1P[8]+P[4]	0	0	2	0	2	6	4	14
ΜΙΚΤΟΙ ΓΟΝΟΤΥΠΟΙ ΜΕ G2								
G2+G4P[4]	0	0	0	0	0	0	3	3
G2+G4P[8]	0	0	0	0	0	0	1	1
G2+G4P[8]+P[4]	0	0	0	0	0	0	2	2
G2P[8]+P[4]	0	0	0	0	1	0	2	3
ΜΙΚΤΟΙ ΓΟΝΟΤΥΠΟΙ ΜΕ G3								
G3P[8]+P[4]	0	0	0	0	1	0	0	1
ΜΙΚΤΟΙ ΓΟΝΟΤΥΠΟΙ ΜΕ G4								
G4+G12P[8]	0	0	0	0	1	0	0	1
G4+G1P[8]	0	2	0	0	0	0	1	3
G4+G1P[8]+P[6]	0	0	1	0	0	0	0	1
G4+G9P[8]	0	0	0	1	0	0	2	3
G4P[8]+P[4]	0	2	2	0	2	2	7	15
G4P[8]+P[9]	0	1	0	0	0	0	1	2
ΜΙΚΤΟΙ ΓΟΝΟΤΥΠΟΙ ΜΕ G9								
G9P[8]+P[6]	0	0	0	0	0	0	1	1
ΣΥΝΟΛΟ	1	5	5	5	9	8	26	59

3.4 ΕΤΗΣΙΑ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΡΟΤΑ ΙΟΥ

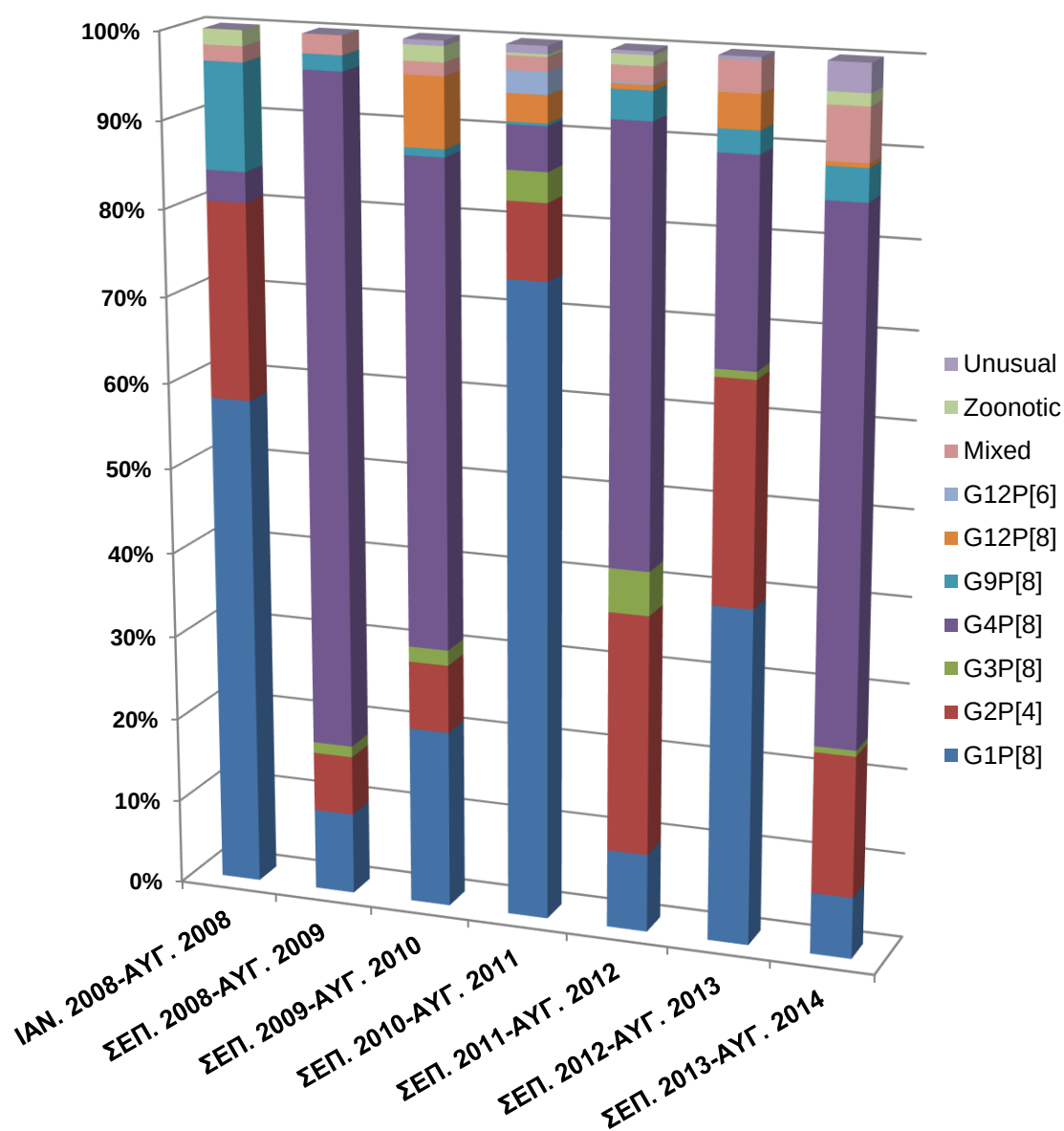
Η κατανομή γονοτύπων Ρότα ιού, διέφερε από χρονιά σε χρονιά ($p < 0.001$) και φαίνεται αναλυτικά στον Πίνακα 14 και γραφικά στο Σχήμα 9. Δύο ήταν οι γονότυποι, που επικράτησαν σε όλη τη μελέτη, οι G1P[8] με συχνότητα 39.3-74.2% και ο G4P[8] με συχνότητα 50.1-78.1%.

- Την πρώτη χρονιά της μελέτης (Ιανουάριος - Αύγουστος 2008) επικράτησε ο G1P[8] (57.8%) και ακολούθησαν ο G2P[4] (22.8%) και ο G9P[8] (12.3%). Σε πολύ μικρό ποσοστό 3.5% ανιχνεύθηκε ο G4P[8].
- Τη δεύτερη χρονιά (Αύγουστος 2008-Σεπτέμβριος 2009) επικράτησε ο G4P[8] σε πολύ υψηλό ποσοστό (78.1%), ενώ έκανε την εμφάνισή του ο G3P[8] (1.3%), που δεν ανιχνεύθηκε την προηγούμενη χρονιά.
- Την τρίτη περίοδο (2009-2010) ο G4P[8] παρέμεινε πρώτος σε συχνότητα (56.5%), ο G1P[8] άρχισε να αυξάνεται πάλι (20.9%), οι G2P[4] και G9P[8] ανιχνεύθηκαν σε μικρά ποσοστά (8% και 0.9% αντίστοιχα) και εμφανίστηκε για πρώτη φορά ο G12P[8] (8%).
- Την τέταρτη περίοδο (2010-2011) ο G1P[8] σημείωσε πάλι το μεγαλύτερο ποσοστό 74.1% σε σχέση με τους υπόλοιπους γονότυπους. Ο G4P[8] εμφανίστηκε σε πολύ μικρό ποσοστό (5%) και το αναδυόμενο στέλεχος G12 συνέχισε να κυκλοφορεί είτε ως G12P[8] (3.1%) είτε ως G12P[6] (2.5%).
- Την Πέμπτη περίοδο (2011-2012) ο G4P[8] ήταν ο συχνότερος γονότυπος (50.1%), ο G2P[4] αυξήθηκε σημαντικά (28.1%) σε σχέση με τις προηγούμενες χρονιές, ο G1P[8] ανιχνεύθηκε σε πολύ μικρό ποσοστό (9.2%), ο G3P[8] αυξήθηκε (5.1%) σημαντικά και ο G12 ανιχνεύθηκε ελάχιστα.
- Την έκτη περίοδο (2012-2013) ο G1P[8] ήταν ο πρώτος σε συχνότητα αλλά όχι σε τόσο μεγάλο ποσοστό όσο σε άλλες χρονιές (39.3%) και ακολούθησαν οι G2P[4] και G4P[8] με παρόμοια ποσοστά (25.8% και 23.6% αντίστοιχα). Ο G12P[8] εμφανίστηκε ξανά με αξιοσημείωτη συχνότητα 3.9%.
- Τέλος την έβδομη χρονιά (2013-2014) ο G4P[8] ήταν ο συχνότερος γονότυπος (60.8%), δεύτερος σε συχνότητα ήταν ο G2P[4], ακολούθησε ο G1P[8] (7.2%) και σε αρκετά αυξημένο ποσοστό ανιχνεύθηκαν μικτοί γονότυποι (6%).

Αξιοσημείωτο είναι ότι την τελευταία χρονιά συγκεντρώθηκαν οι 26/59 μικτοί γονότυποι της μελέτης, δηλαδή σχεδόν οι μισοί (44%).

Πίνακας 14. Ετήσια κατανομή γονοτύπων Ρότα ιού (N=2100) κατά τη διάρκεια επταετούς μελέτης (2008-2014).

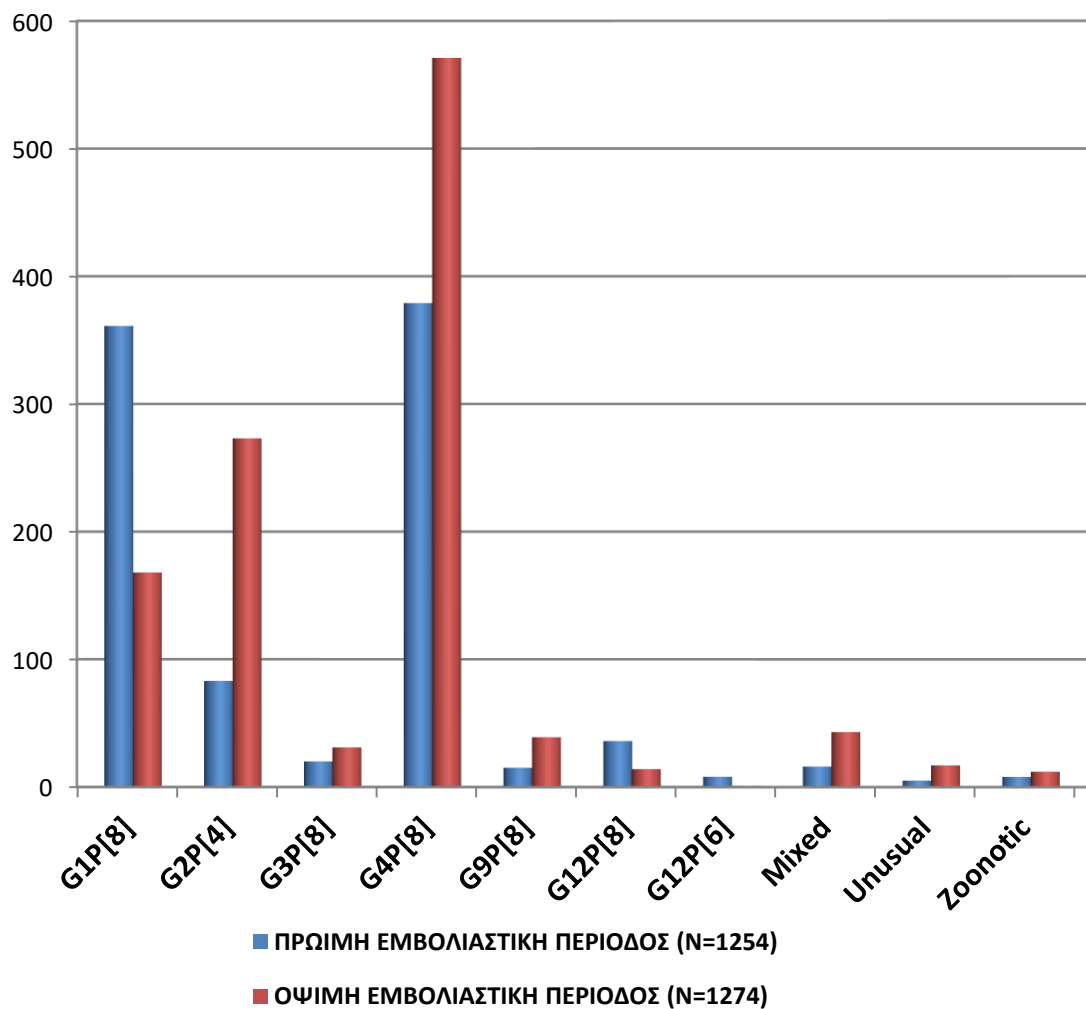
ΑΡΙΘΜΟΣ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΑΝΑ ΠΕΡΙΟΔΟ ΣΥΛΛΟΓΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ (%)											
ΠΕΡΙΟΔΟΣ ΣΥΛΛΟΓΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΡΟΤΑ ΙΟΥ	G1P[8]	G2P[4]	G3P[8]	G4P[8]	G9P[8]	G12P[8]	G12P[6]	Mixed	Zoonotic	Unusual	ΣΥΝΟΛΟ
ΙΑΝ.2008- ΑΥΓ.2008	33 (57.8%)	13 (22.8%)	0 (0%)	2 (3.5%)	7 (12.3%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (1.8%)	1 (1.8%)	0 (0%)	57 (12.7%)
ΣΕΠ.2008- ΑΥΓ.2009	22 (9.6%)	16 (7%)	3 (1.3%)	178 (78.1%)	4 (1.8%)	0 (0%)	0 (0%)	5 (2.2%)	0 (0%)	0 (0%)	228 (10.9%)
ΣΕΠ.2009- ΑΥΓ.2010	68 (20.9%)	26 (8%)	6 (1.8%)	183 (56.5%)	3 (0.9%)	26 (8%)	0 (0%)	5 (1.5%)	6 (1.8%)	2 (0.6%)	325 (15.5%)
ΣΕΠ.2010- ΑΥΓ.2011	238 (74.2%)	28 (8.7%)	11 (3.4%)	16 (5%)	1 (0.3%)	10 (3.1%)	8 (2.5%)	5 (1.6%)	1 (0.3%)	3 (0.9%)	321 (15.3%)
ΣΕΠ.2011- ΑΥΓ.2012	47 (9.2%)	143 (28.1%)	26 (5.1%)	255 (50.1%)	17 (3.3%)	3 (0.6%)	1 (0.2%)	9 (1.8%)	6 (1.2%)	2 (0.4%)	509 (24.2%)
ΣΕΠ.2012- ΑΥΓ.2013	90 (39.3%)	59 (25.8%)	2 (0.9%)	54 (23.6%)	6 (2.6%)	9 (3.9%)	0 (0%)	8 (3.5%)	0 (0%)	1 (0.4%)	229 (10.9%)
ΣΕΠ.2013- ΑΥΓ.2014	31 (7.2%)	71 (16.5%)	3 (0.7%)	262 (60.8%)	16 (3.7%)	2 (0.5%)	0 (0%)	26 (6%)	6 (1.4%)	14 (3.2%)	431 (20.5%)
ΣΥΝΟΛΟ	529 (25.2%)	356 (17%)	51 (2.4%)	950 (45.2%)	54 (2.6%)	50 (2.4%)	9 (0.4%)	59 (2.8%)	20 (1%)	22 (1%)	2100 (100%)



Σχήμα 9. Ετήσια κατανομή γονοτύπων Ρότα ιού σε παιδιά με ΟΓ από Ρότα ιό κατά τη διάρκεια επταετούς μελέτης (2008-2014).

Συγκρίνοντας τη συχνότητα των γονοτύπων κατά την περίοδο της πρώιμης και όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης διαπιστώθηκε με στατιστικά σημαντική συσχέτιση ($P<0,001$) ότι:

- Οι G1P[8], G12P[8] και G12P[6] γονότυποι ήταν συχνότεροι στην περίοδο πρώιμης εμβολιαστικής κάλυψης.
- Οι G2P[4], G3P[8], G4P[8] και G9P[8] γονότυποι ήταν συχνότεροι στην περίοδο όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης.
- Οι μικτοί γονότυποι, οι ασυνήθεις συνδυασμοί και οι γονότυποι πιθανής ζωικής προέλευσης ήταν συχνότεροι στην περίοδο όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης.

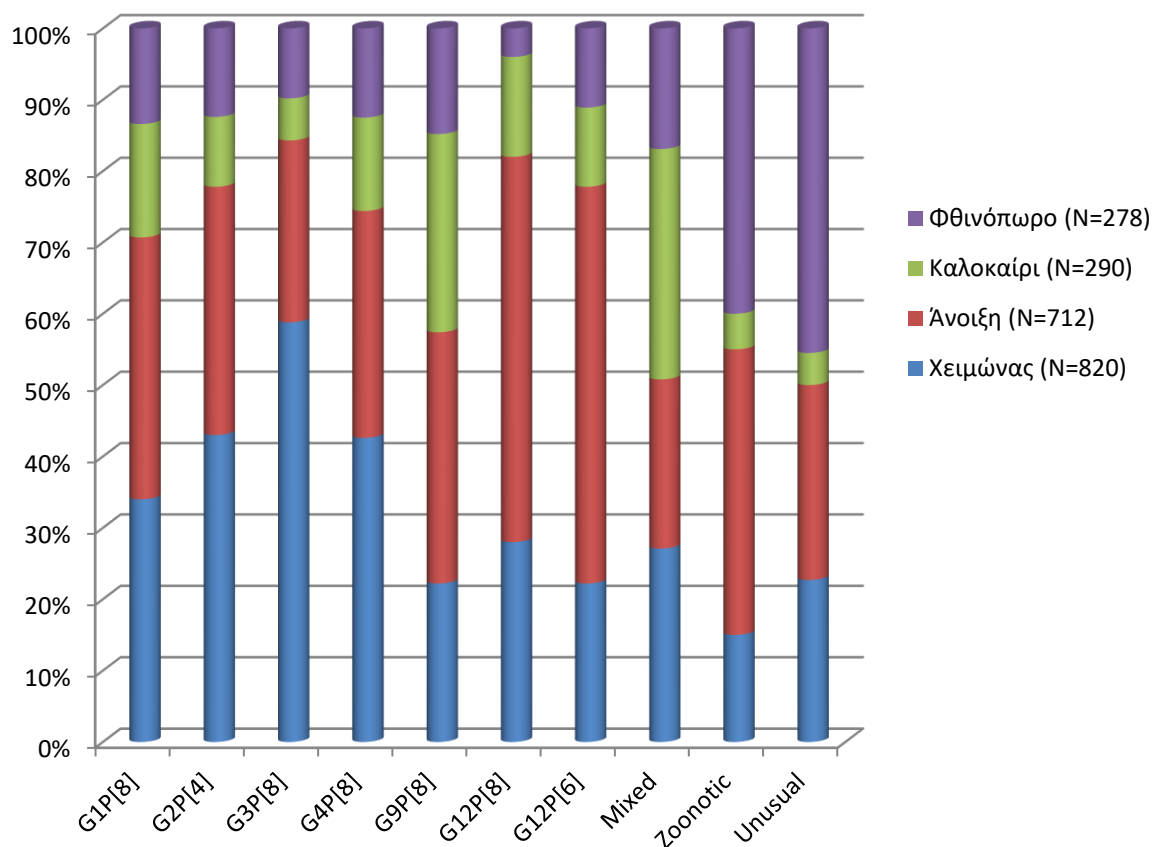


Σχήμα 10. Σύγκριση κατανομής γονοτύπων Ρότα ιού σε παιδιά με ΟΓ από Ρότα ιό κατά την περίοδο πρώιμης εμβολιαστικής κάλυψης και την περίοδο όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης.

3.5 ΕΠΟΧΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΡΟΤΑ ΙΟΥ

Η στατιστική ανάλυση της εποχής με την κατανομή γονοτύπων έδειξε σημαντική συσχέτιση ($p < 0.001$), όπως φαίνεται και στο Σχήμα 11.

- Οι G2P[4], G3P[8] και G4P[8] γονότυποι ήταν συχνότεροι κατά τη διάρκεια του Χειμώνα.
- Οι G1P[8], G9P[8], G12P[8] και G12P[6] γονότυποι ήταν συχνότεροι την Άνοιξη.
- Οι μικτοί γονότυποι ήταν συχνότεροι το Καλοκαίρι.
- Οι γονότυποι πιθανής ζωικής προέλευσης και οι ασυνήθεις ήταν συχνότεροι το Φθινόπωρο.



Σχήμα 11. Εποχική κατανομή γονοτύπων Ρότα ιού σε παιδιά με ΟΓ από Ρότα ιό κατά τη διάρκεια επταετούς μελέτης (2008-2014).

Η επιμέρους στατιστική ανάλυση της μηνιαίας κατανομής γονοτύπων φαίνεται στον Πίνακα 15. Η περίοδος αυξημένης συχνότητας του Ρότα ιού στη χώρα μας, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, διαρκεί από τον Ιανουάριο έως και τον Απρίλιο και στον Πίνακα 15 απεικονίζεται με ροζ χρώμα, ενώ η υπόλοιπη περίοδος με πράσινο χρώμα. Επίσης στον Πίνακα 15 έχει σημειωθεί με διαφορετικό χρώμα η μέγιστη συχνότητα, που εμφάνισε ο κάθε γονότυπος κατά τη διάρκεια του έτους. Με κόκκινο χρώμα φαίνεται η μέγιστη συχνότητα ενός γονότυπου, εφόσον σημειώθηκε κατά τη διάρκεια Ιανουάριος-Απρίλιος και με πράσινο χρώμα φαίνεται η μέγιστη συχνότητα ενός γονότυπου, εφόσον ανιχνεύθηκε εκτός της αναφερόμενης περιόδου.

- Τα περισσότερα δείγματα G1P[8] συγκεντρώθηκαν το μήνα Μάρτιο (17.4%), δηλαδή εντός της εποχής αιχμής του Ρότα ιού.
- Οι περισσότεροι γονότυποι G2P[4] και G4P[8] ανιχνεύτηκαν επίσης εντός της εποχής του Ρότα ιού και συγκεκριμένα τον Ιανουάριο με ποσοστά 21.3% και 17.4% αντίστοιχα.
- Ο G12P[8] έκανε την εμφάνισή του τον Απρίλιο (20%), ενώ ο G12P[6] το Μάρτιο (33.3%).
- Οι υπόλοιποι γονότυποι ανιχνεύθηκαν με μεγαλύτερη συχνότητα εκτός της εποχής αιχμής του Ρότα ιού και συγκεκριμένα ο G3P[8] ήταν συχνότερος το Δεκέμβριο (29.4%), ο G9P[8] τον Ιούνιο (24.1%) και οι ασυνήθεις γονότυποι είχαν μεγαλύτερη συχνότητα τον Οκτώβριο και το Δεκέμβριο (22.7%).
- Τέλος οι μικτοί γονότυποι ήταν εξίσου συχνοί το Μάρτιο, τον Ιούλιο και το Δεκέμβριο (11.9%) και οι γονότυποι πιθανής ζωικής προέλευσης συγκεντρώθηκαν εξίσου συχνά τον Απρίλιο και το Νοέμβριο (25%), δηλαδή τόσο εντός της περιόδου αιχμής όσο και εκτός.

Πίνακας 15. Μηνιαία κατανομή γονοτύπων Ρότα ιού κατά τη διάρκεια επταετούς μελέτης (2008-2014).

ΜΗΝΑΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΑΝΑ ΜΗΝΑ ΣΥΛΛΟΓΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ (%)										ΣΥΝΟΛΟ
	G1P[8]	G2P[4]	G3P[8]	G4P[8]	G9P[8]	G12P[8]	G12P[6]	Mixed	Zoonotic	Unusual	
ΙΑΝΟΥΑΡΙΟΣ	64 (12.1%)	76 (21.3%)	5 (9.8%)	165 (17.4%)	6 (11.1%)	3 (6%)	0 (0%)	4 (6.8%)	0 (0%)	0 (0%)	323 (15.4%)
ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ	80 (15.1%)	39 (11%)	10 (19.6%)	142 (14.9%)	3 (5.6%)	7 (14%)	2 (22.2%)	5 (8.5%)	1 (5%)	0 (0%)	289 (13.8%)
ΜΑΡΤΙΟΣ	92 (17.4%)	69 (19.4%)	8 (15.7%)	120 (12.6%)	8 (14.8%)	9 (18%)	3 (33.3%)	7 (11.9%)	3 (15%)	4 (18.2%)	323 (15.4%)
ΑΠΡΙΛΙΟΣ	58 (11%)	40 (11.2%)	3 (5.9%)	96 (10.1%)	3 (0.1%)	10 (20%)	2 (22.2%)	4 (6.8%)	5 (25%)	2 (9.1%)	223 (10.6%)
ΜΑΙΟΣ	44 (8.3%)	15 (4.2%)	2 (3.9%)	86 (9.1%)	8 (14.8%)	8 (16%)	0 (0%)	3 (5.1%)	0 (1.2%)	0 (0%)	166 (7.9%)
ΙΟΥΝΙΟΣ	36 (6.8%)	9 (2.5%)	0 (0%)	47 (4.9%)	13 (24.1%)	1 (2%)	0 (0%)	5 (8.5%)	0 (0%)	0 (0%)	111 (5.3%)
ΙΟΥΛΙΟΣ	22 (4.2%)	14 (3.9%)	2 (3.9%)	37 (3.9%)	1 (1.9%)	5 (10%)	0 (0%)	7 (6%)	0 (1.4%)	0 (0%)	88 (4.2%)
ΑΥΓΟΥΣΤΟΣ	26 (4.9%)	12 (3.4%)	1 (2%)	40 (4.2%)	1 (1.9%)	1 (2%)	1 (11.1%)	7 (11.9%)	1 (5%)	1 (4.5%)	91 (4.3%)
ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ	35 (6.6%)	14 (3.9%)	1 (2%)	25 (2.6%)	4 (7.4%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (5%)	3 (13.6%)	83 (4.0%)
ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ	20 (3.8%)	14 (3.9%)	3 (5.9%)	35 (3.7%)	2 (3.7%)	1 (2%)	0 (0%)	6 (10.2%)	2 (10%)	5 (22.7%)	88 (4.2%)
ΝΟΕΜΒΡΙΟΣ	16 (3%)	16 (4.5%)	1 (2%)	59 (6.2%)	2 (3.7%)	1 (2%)	1 (11%)	4 (6.8%)	5 (25%)	2 (9.1%)	107 (5.1%)
ΔΕΚΕΜΒΡΙΟΣ	36 (6.8%)	38 (10.7%)	15 (29.4%)	98 (10.3%)	3 (5.6%)	4 (8%)	0 (0%)	7 (11.9%)	2 (10%)	5 (22.7%)	208 (9.9%)
ΣΥΝΟΛΟ	529 (25.2%)	356 (17%)	51 (2.4%)	950 (45.2%)	54 (2.6%)	50 (2.4%)	9 (0.4%)	59 (2.8%)	20 (1%)	22 (1%)	2100 (100%)

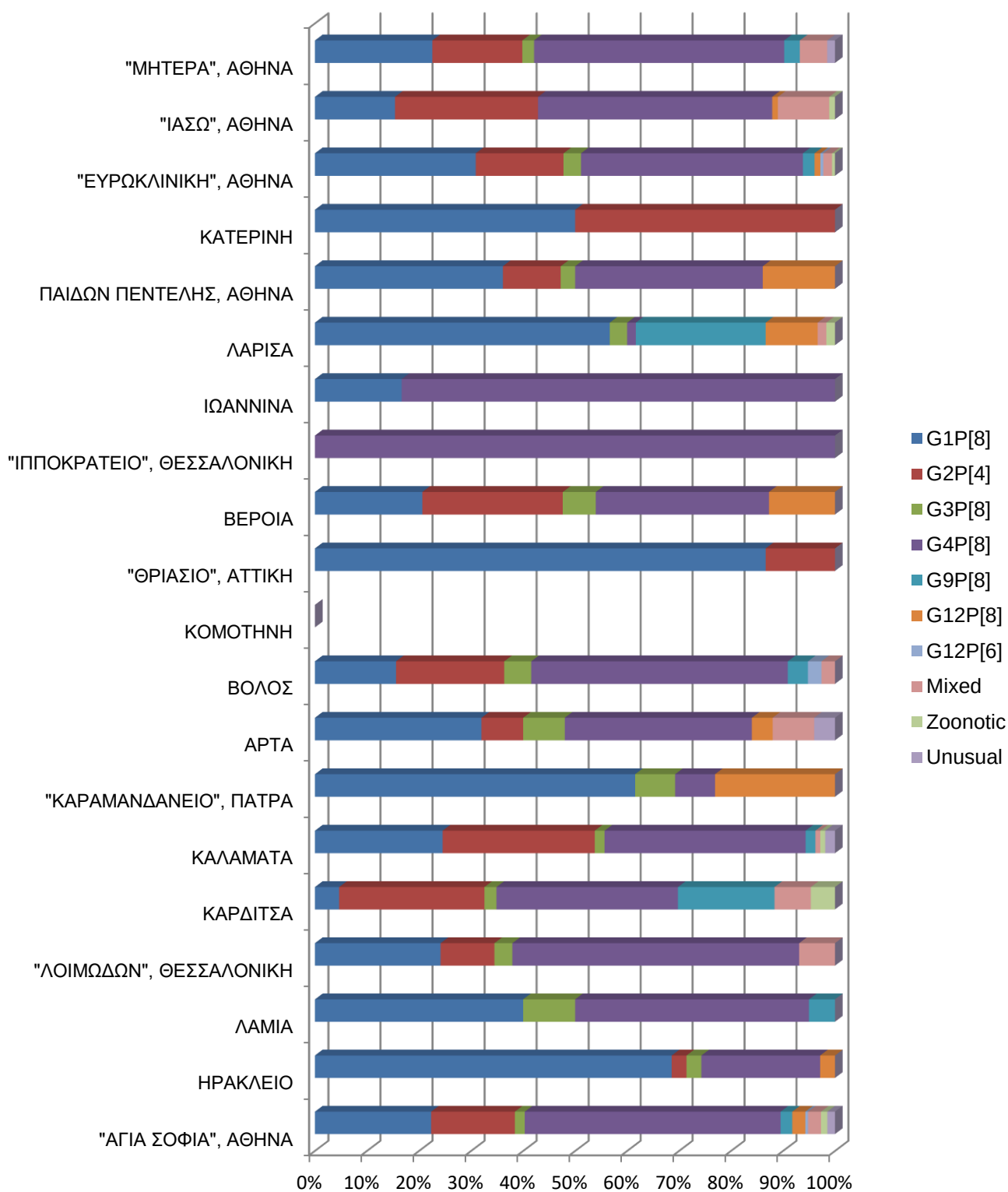
ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΡΟΤΑ ΙΟΥ ΑΝΑ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ

Η στατιστική ανάλυση της κατανομής γονοτύπων ανάλογα με το κέντρο συλλογής των δειγμάτων έδειξε μεγάλη ετερογένεια από περιοχή σε περιοχή, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 12, ($p < 0.001$).

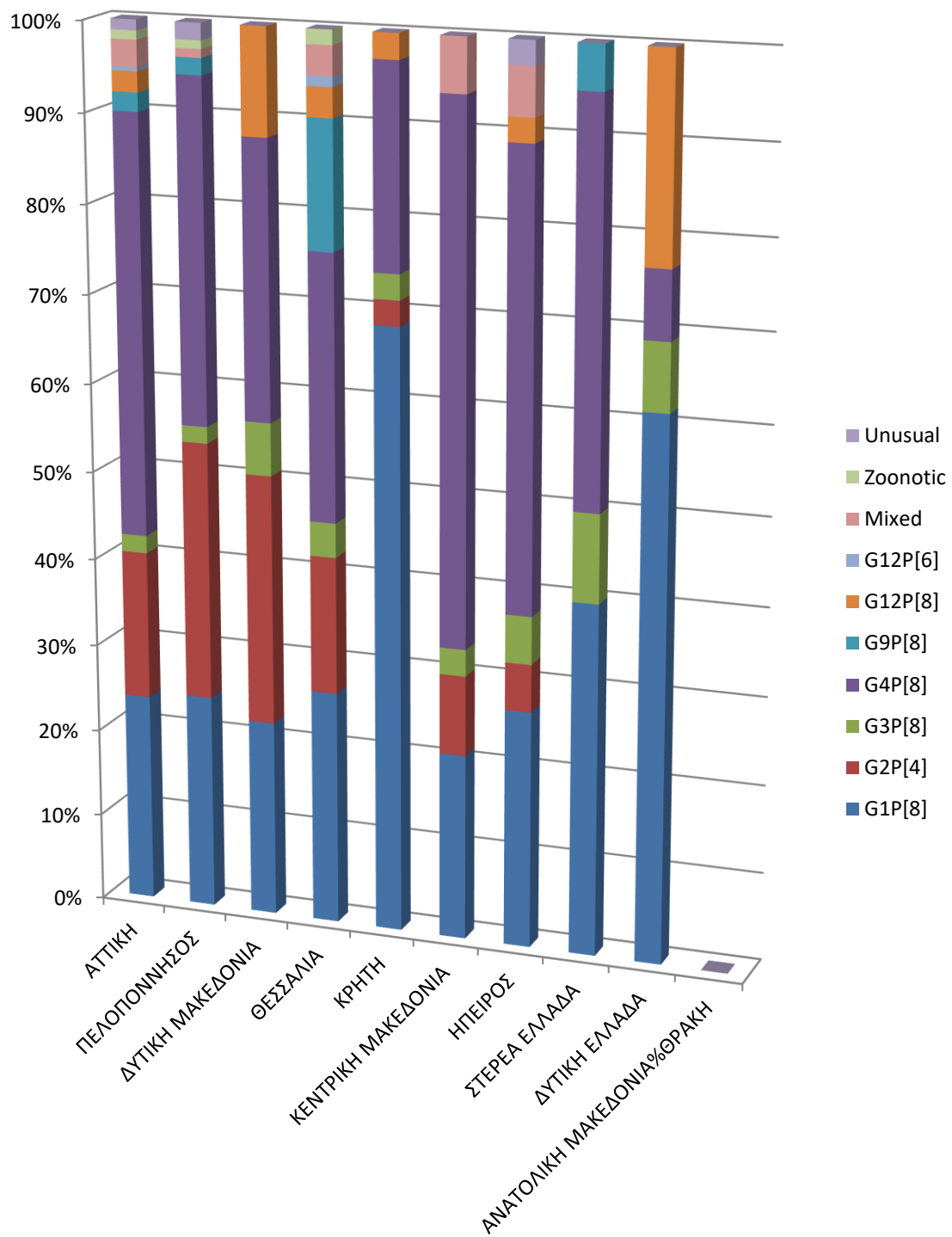
- Ο G4P[8] γονότυπος ήταν ο συχνότερος γονότυπος στα παιδιατρικά νοσοκομεία της Αττικής («Αγία Σοφία», Παίδων Πεντέλης, «Ευρωκλινική», «Μητέρα», «Ιασώ») με εξαίρεση το «Θριάσιο», όπου συχνότερος γονότυπος ήταν ο G1P[8].
- Ο G1P[8] ήταν επίσης συχνότερος στην Πάτρα, τη Λάρισα, το Ηράκλειο και την Κατερίνη.
- Στις υπόλοιπες περιοχές, δηλαδή στη Θεσσαλονίκη, Λαμία, Καρδίτσα, Καλαμάτα, Βόλος, Ιωάννινα, Άρτα και Βέροια επικράτησε ο G4P[8].
- Τα δείγματα της Κομοτηνής δεν τυποποιήθηκαν καθώς δεν εστάλησαν στο εργαστήριο αναφοράς.

Στο σχήμα 13 φαίνεται η κατανομή γονοτύπων ανάλογα με τη γεωγραφική περιφέρεια της Ελλάδας.

- Στην Αττική, τη Στερεά Ελλάδα, την Πελοπόννησο, τη Θεσσαλία, τη Δυτική και Κεντρική Μακεδονία ο συχνότερος γονότυπος ήταν ο G4P[8].
- Στην Κρήτη και τη Δυτική Ελλάδα ο G1P[8] ήταν ο συχνότερος γονότυπος.
- Ο G2P[4] ανιχνεύθηκε σε όλες τις περιοχές με εξαίρεση τη Στερεά και τη Δυτική Ελλάδα. Ιδιαίτερα συχνός βρέθηκε στην Πελοπόννησο και τη Δυτική Μακεδονία.
- Ο G3P[8] ανιχνεύθηκε σε όλες τις περιοχές και ιδιαίτερα αυξημένος ήταν στη Στερεά και τη Δυτική Ελλάδα.
- Ο G9P[8] ανιχνεύθηκε μόνο στην Αττική και τη Θεσσαλία.
- Ο G12P[8] ανιχνεύθηκε κυρίως στην Αττική, τη Δυτική Μακεδονία, Ήπειρο, Δυτική Ελλάδα και Θεσσαλία.



Σχήμα 12. Κατανομή γονοτύπων Ρότα ιού ανά κέντρο συλλογής δειγμάτων κατά τη διάρκεια επταετούς μελέτης (2008-2014).



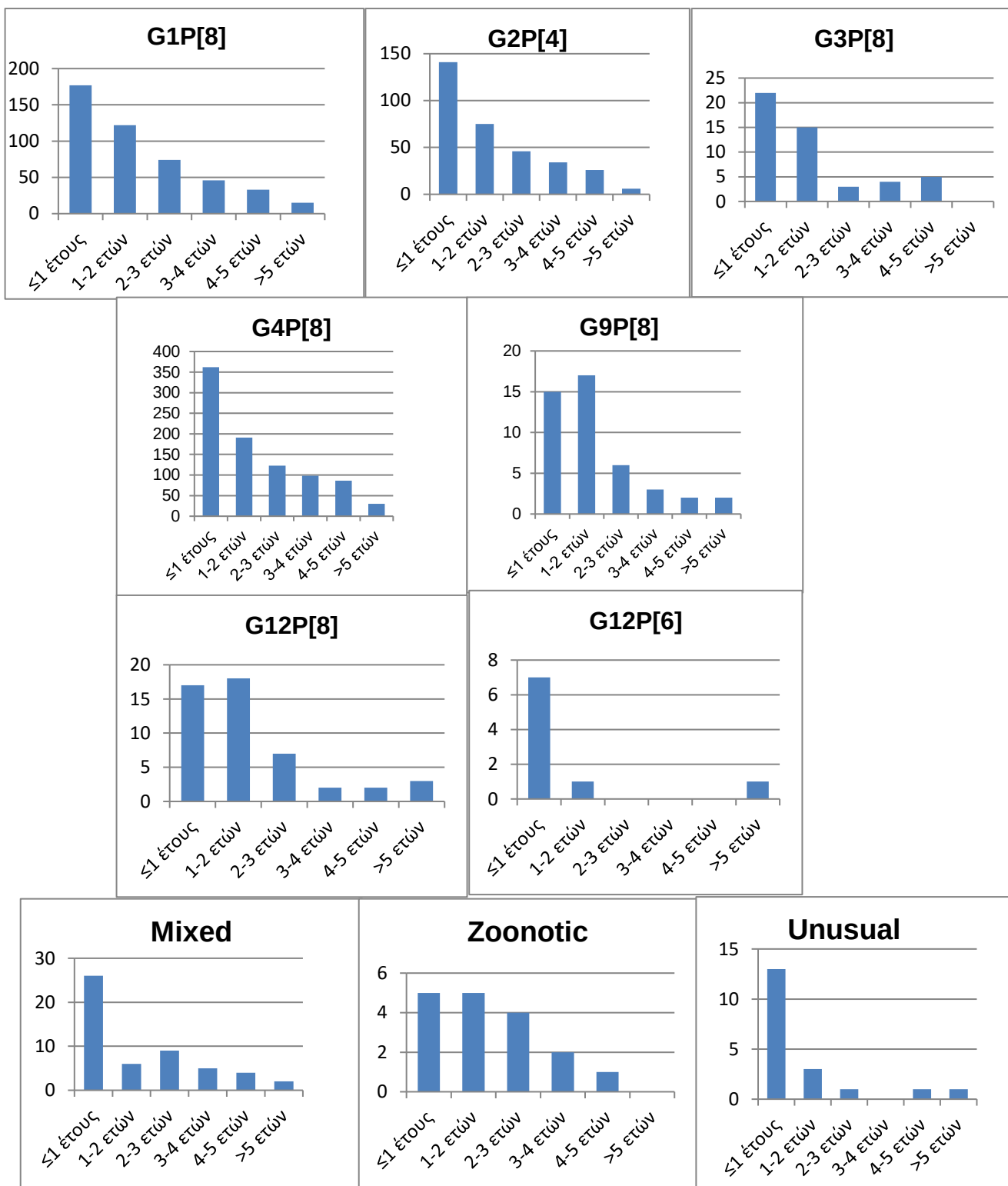
Σχήμα 13. Κατανομή γονοτύπων Ρότα ιού ανά γεωγραφική περιφέρεια της Ελλάδας.

ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΡΟΤΑ ΙΟΥ ΑΝΑ ΗΛΙΚΙΑ

Η στατιστική ανάλυση της ηλικίας των παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό σε σχέση με τους γονότυπους (Πίνακας 16) έδειξε ότι ο μέσος όρος ηλικίας παιδιών με γονότυπο G1P[8], G2P[4], G4P[8], G9P[8], G12P[8] και πιθανής ζωικής προέλευσης ήταν μεγαλύτερος συγκριτικά με το μέσο όρο ηλικίας παιδιών με γονότυπο G3P[8], G12P[6] και μικτό ή μη συνήθη συνδυασμό γονοτύπων (p value <0.05). Συγκεκριμένα τα παιδιά με το μεγαλύτερο μέσο όρο ηλικίας έφεραν στέλεχος πιθανής ζωικής προέλευσης. Αναλύοντας την ηλικιακή κατανομή ανά γονότυπο (Σχήμα 14) φαίνεται ότι η ηλικιακή κατανομή είναι σχεδόν ίδια για όλους τους γονότυπους, δηλαδή τα παιδιά <1 έτους κατέχουν το μεγαλύτερο ποσοστό. Εξαιρέση αποτελούν οι G9P[8] και G12P[8] που ανιχνεύονται συχνότερα στα παιδιά 1-2 ετών.

Πίνακας 16. Ηλικιακή κατανομή παιδιών με Ρότα ιό ανά γονότυπο.

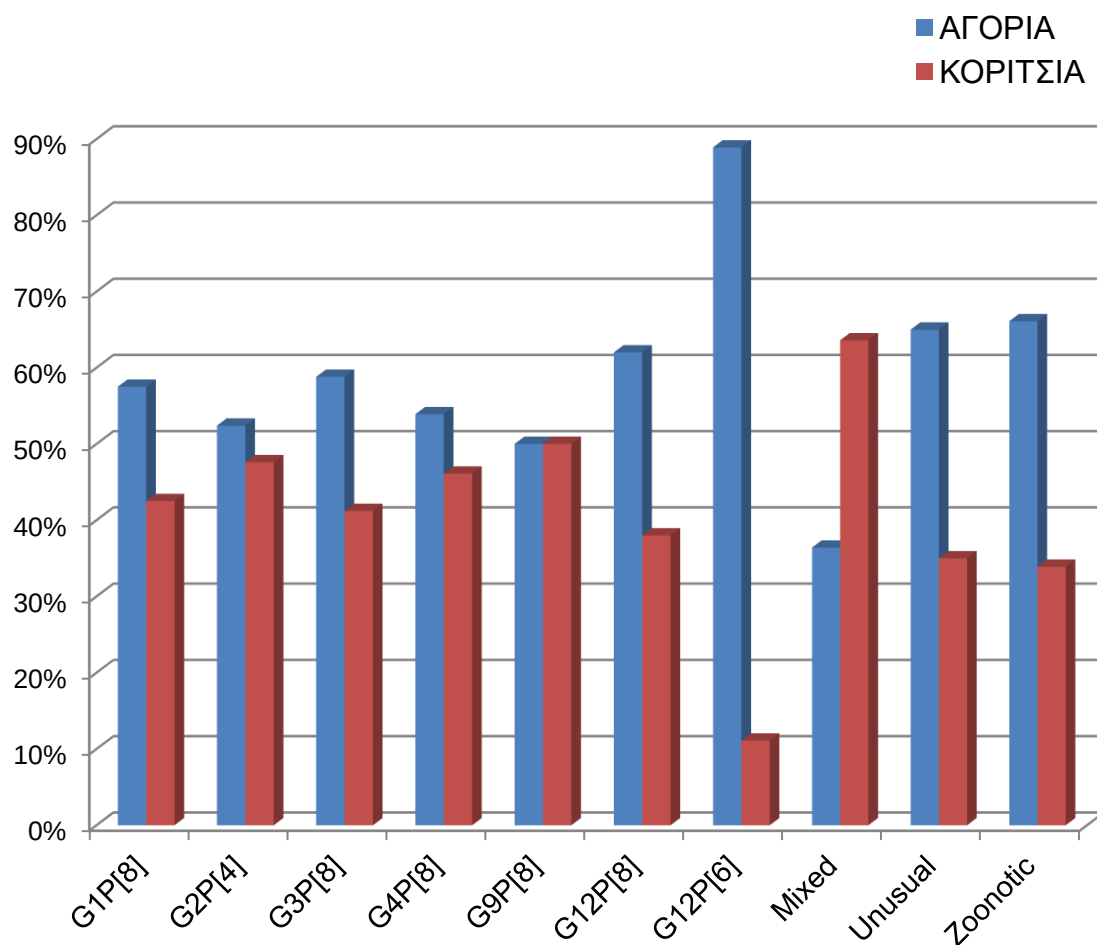
Γονότυπος	Μέση ηλικία (ημέρες)	Μέση ηλικία (μήνες)
G1P[8]	985.9	32.8
G2P[4]	936.6	31.2
G3P[8]	841.5	28.05
G4P[8]	980.9	32.7
G9P[8]	991.5	33.05
G12P[8]	956.0	31.9
G12P[6]	389.3	12.9
Mixed	897.6	29.9
Unusual	687.3	22.9
Zoonotic	1009.2	33.6



Σχήμα 14. Κατανομή ηλικιακής ομάδας παιδιών με Ρότα ιό ανάλογα με το γονότυπο, που απομονώθηκε, κατά τη διάρκεια επταετούς μελέτης (2008-2014).

ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΡΟΤΑ ΙΟΥ ΑΝΑ ΦΥΛΟ

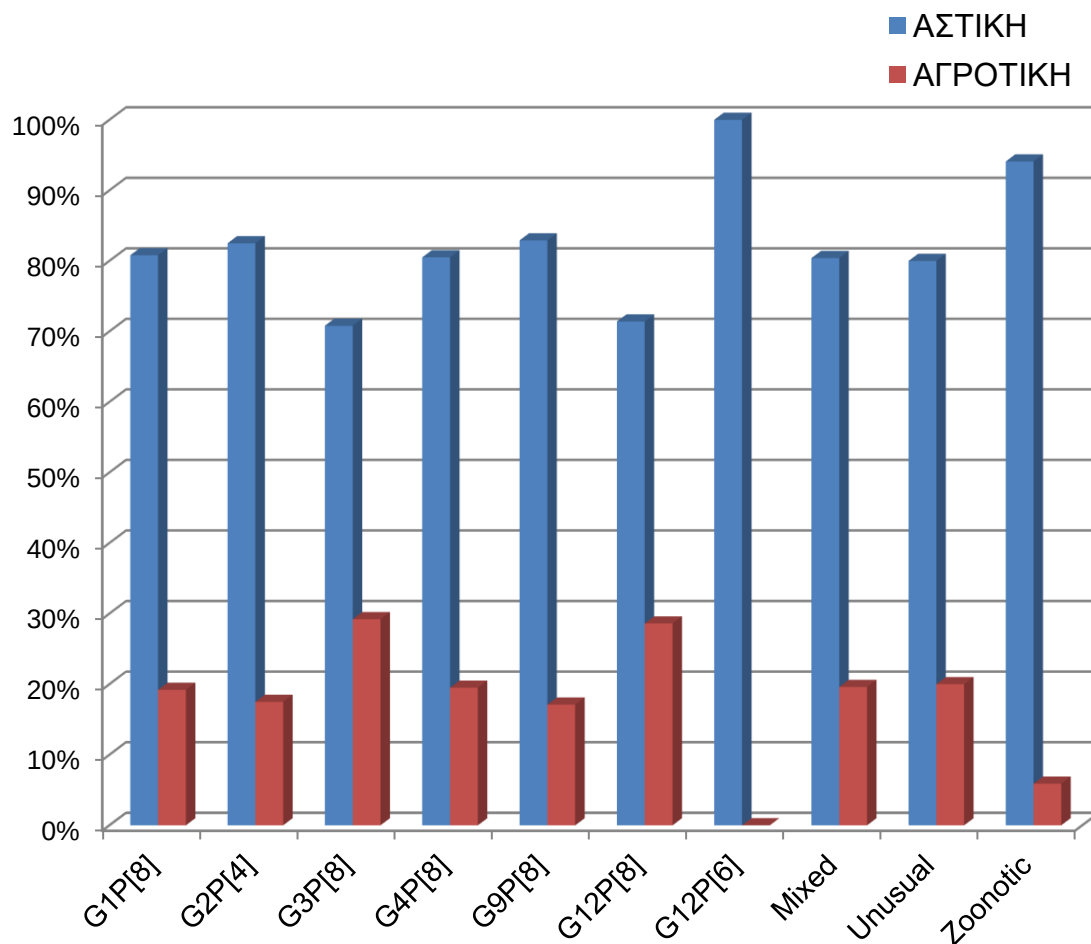
Η στατιστική ανάλυση της κατανομής γονοτύπων Ρότα ιού σε σχέση με το φύλο έδειξε ότι τα αγόρια υπερτερούν σε σχέση με τα κορίτσια σε όλους τους γονότυπους με εξαίρεση τους μικτούς, που είναι πιο συχνοί στα κορίτσια και τον G9P[8], που έχει την ίδια συχνότητα σε αγόρια και κορίτσια. Η συσχέτιση αυτή ωστόσο δεν ήταν στατιστικά σημαντική (P-value 0,076).



Σχήμα 15. Κατανομή γονοτύπων Ρότα ιού σε παιδιά ΟΓ από Ρότα ιό ανάλογα με το φύλο κατά τη διάρκεια επταετούς μελέτης (2008-2014).

ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΡΟΤΑ ΙΟΥ ΑΝΑ ΤΟΠΟ ΔΙΑΜΟΝΗΣ

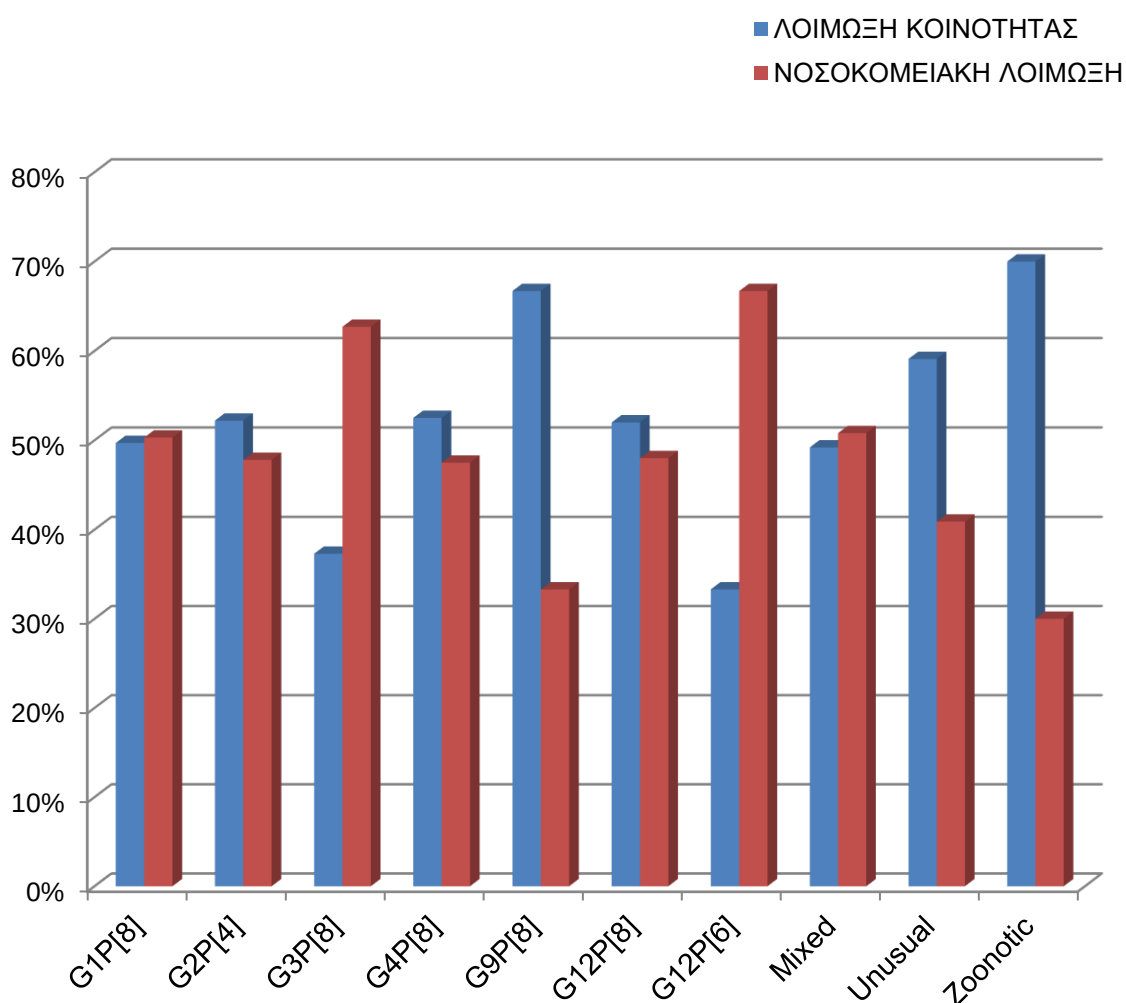
Η στατιστική ανάλυση της κατανομής γονοτύπων Ρότα ιού σε σχέση με τον τόπο διαμονής των παιδιών δεν έδειξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση (P-value 0,3). Στις αγροτικές περιοχές ωστόσο οι γονότυποι G3P[8] και G12P[8] ήταν συχνότεροι συγκριτικά με τους υπόλοιπους γονότυπους στις αντίστοιχες περιοχές.



Σχήμα 16. Κατανομή γονοτύπων Ρότα ιού σε παιδιά ανάλογα με τον τόπο διαμονής τους κατά τη διάρκεια επταετούς μελέτης (2008-2014).

ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΡΟΤΑ ΙΟΥ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΗΝ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ

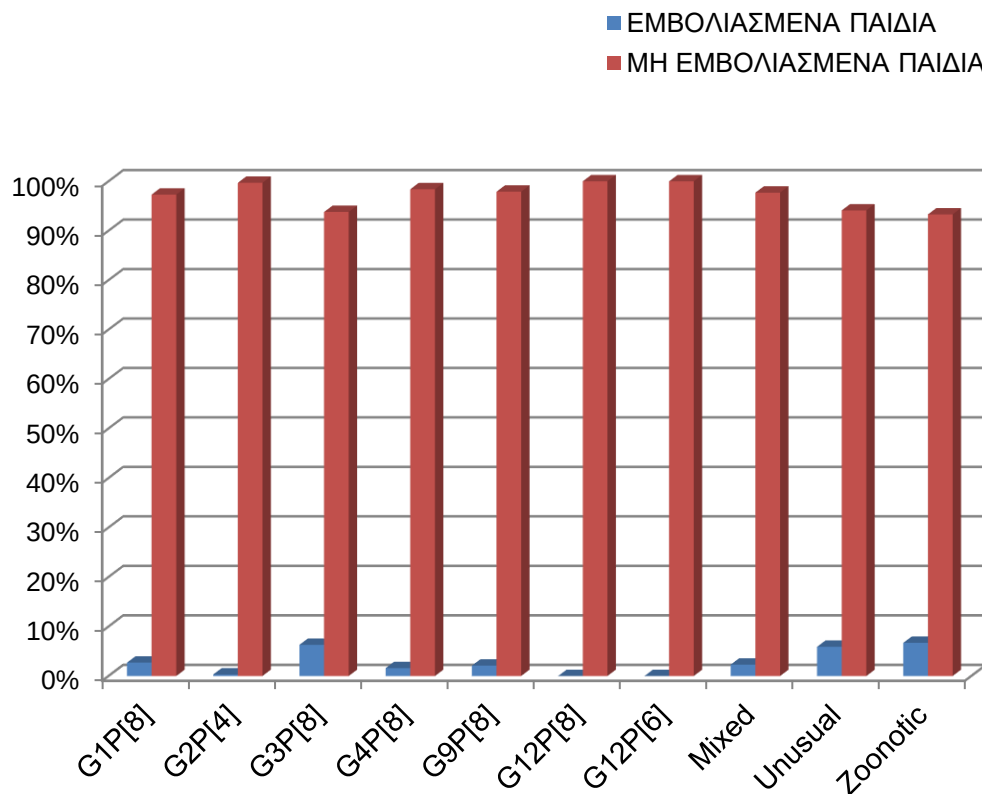
Η στατιστική ανάλυση της κατανομής γονοτύπων Ρότα ιού σε σχέση με τη νοσοκομειακή ή μη προέλευση των δειγμάτων δεν έδειξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση (P-value 0,098). Οι G1P[8], G3P[8], G12P[6] και οι μικτοί γονότυποι ήταν συχνότεροι σε παιδιά με νοσοκομειακή λοίμωξη από Ρότα ιό.



Σχήμα 17. Κατανομή γονοτύπων Ρότα ιού σε παιδιά ανάλογα με την προέλευση της λοίμωξης (κοινότητα ή νοσοκομειακή) κατά τη διάρκεια επταετούς μελέτης (2008-2014).

ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΡΟΤΑ ΙΟΥ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΥ

Η στατιστική συσχέτιση της κατανομής γονοτύπων Ρότα ιού με την εμβολιαστική κατάσταση των παιδιών δεν έδειξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση (P-value <0,089).



Σχήμα 18. Κατανομή γονοτύπων Ρότα ιού σε παιδιά ανάλογα με την κατάσταση εμβολιασμού τους κατά τη διάρκεια επταετούς μελέτης (2008-2014).

ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΡΟΤΑ ΙΟΥ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΗ ΣΟΒΑΡΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΟΓ

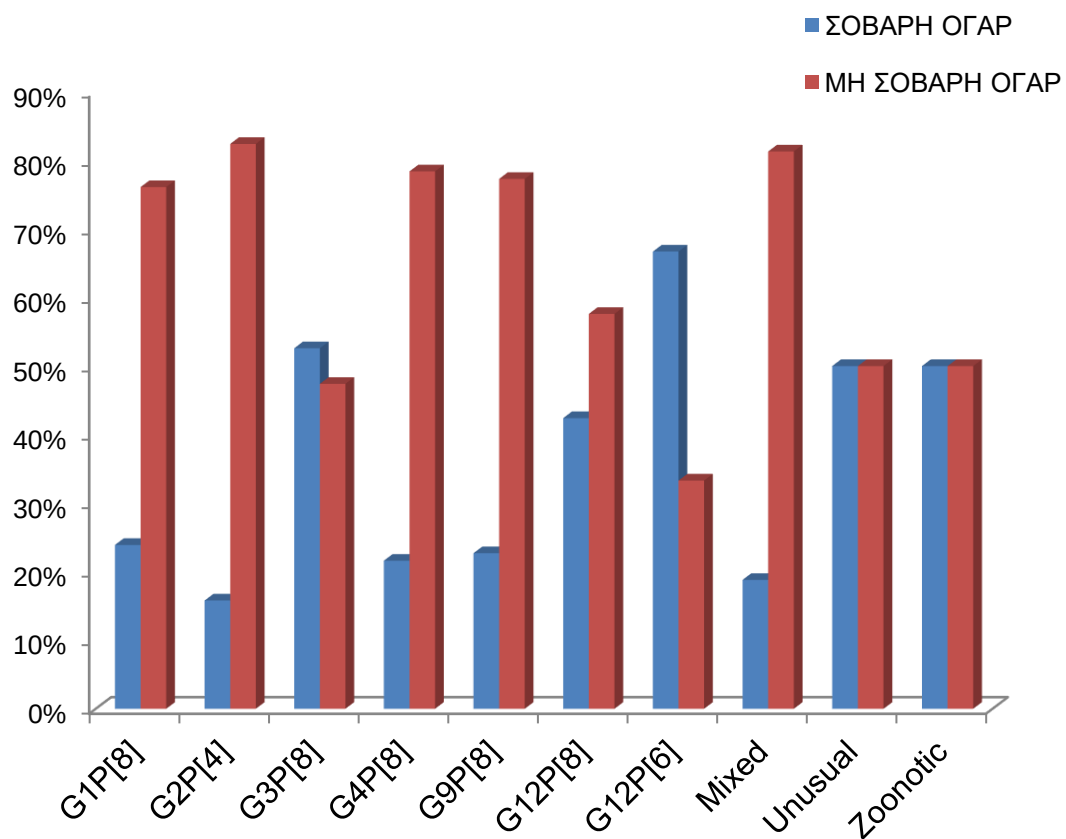
Οι πληροφορίες από το ιστορικό των παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό, που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της βαρύτητας της ΟΓ κατά την κλίμακα Vesicari φαίνονται στον Πίνακα 17.

- Το 42.8% των παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό είχε >6 κενώσεις ανά 24ωρο.
- Το 70.7% των παιδιών των παιδιών είχε διάρροια για 1-4 ημέρες.
- Έμετο έως 1 ανά 24ωρο είχε το 50.7% των παιδιών και συνήθως διάρκειας 1 ημέρας (62.6% των παιδιών).
- Πυρετό έως 38.4 °C παρουσίασε το 44.8% των παιδιών.
- Το 69.7% των παιδιών είχε αφυδάτωση 1-5%.
- Ενδοφλέβια υγρά για ενυδάτωση έλαβε το 74.5% των παιδιών.
- Σοβαρή γαστρεντερίτιδα με Vesicari score ≥ 11 παρουσίασε το 72.4% των παιδιών και ήπια γαστρεντερίτιδα με Vesicari score < 11 , το 27.6% των παιδιών.

Πίνακας 17. Συχνότητα παραμέτρων κλίμακας Vesikari, σύμφωνα με την οποία γίνεται η εκτίμηση βαρύτητας ΟΓ από Ρότα ιό.

ΜΕΓΙΣΤΟΣ ΑΡΙΘΜΟΣ	1-3	4-5	>6
ΔΙΑΡΡΟΙΚΩΝ ΚΕΝΩΣΕΩΝ/24ΩΡΟ	36,5%	20,7%	42,8%
ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΔΙΑΡΡΟΙΚΩΝ ΚΕΝΩΣΕΩΝ (ΜΕΡΕΣ)	1-4	5	>6
	70,7%	9,8%	19,5%
ΜΕΓΙΣΤΟΣ ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΜΕΤΩΝ/24ΩΡΟ	1	2-4	>5
	50,7%	24,1%	25,2%
ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΕΜΕΤΩΝ (ΜΕΡΕΣ)	1	2	>3
	62,6%	19,2%	18,2%
ΜΕΓΙΣΤΗ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ (°C)	37,1-38,4	38,5-38,9	>39
	44,8%	28,9%	26,3%
ΑΦΥΔΑΤΩΣΗ	ΚΑΘΟΛΟΥ	1-5%	>6%
	20,5%	69,7%	9,8%
ΤΡΟΠΟΣ ΕΝΥΔΑΤΩΣΗΣ	ΑΠΟ ΤΟ ΣΤΟΜΑ	ΕΝΔΟΦΛΕΒΙΑ	
	25,5%	74,5%	
ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΒΑΡΥΤΗΤΑΣ ΟΓ ΑΠΟ ΡΟΤΑ ΙΟ (VESIKARI SCORE)	ΗΠΙΑ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙΔΑ SCORE <11	ΣΟΒΑΡΗ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙΔΑ SCORE >11	
	27,6%	72,4%	

Η στατιστική ανάλυση της κατανομής γονοτύπων Ρότα ιού σε σχέση με τη σοβαρότητα της ΟΓ από Ρότα ιό (ΟΓΑΡ) κατά κλίμακα Vesikari έδειξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση ($p < 0,001$). Οι G3P[8] και G12P[6] ήταν συχνότεροι σε παιδιά με σοβαρή ΟΓ από Ρότα ιό. Οι ασυνήθεις γονότυποι και τα στελέχη πιθανής ζωικής προέλευσης ήταν εξίσου συχνοί σε παιδιά με σοβαρή και μη σοβαρή ΟΓ από Ρότα ιό.



Σχήμα 19. Κατανομή γονοτύπων Ρότα ιού σε παιδιά με σοβαρή και μη σοβαρή ΟΓ από Ρότα ιό κατά τη διάρκεια επταετούς μελέτης (2008-2014).

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη πολυκεντρική μελέτη στη χώρα μας, που περιγράφει την επιδημιολογία, την κατανομή γονοτύπων και τα κλινικά χαρακτηριστικά της λοίμωξης από Ρότα ιό σε παιδιά προσχολικής ηλικίας. Πραγματοποιήθηκε σε 20 Παιδιατρικές Κλινικές, που βρίσκονται στις 10 από τις 13 περιφέρειες της χώρας μας και εξυπηρετούν το 93.1% του πληθυσμού των παιδιών προσχολικής ηλικίας. Το μέγεθος του δείγματος ήταν 2528 παιδιά με ΟΓ από Ρότα ιό και ήταν αντιπροσωπευτικό από όλη την Ελλάδα, τόσο από μεγάλα αστικά κέντρα όσο και από μικρότερες επαρχιακές πόλεις ή και αγροτικές περιοχές. Ο τόπος κατοικίας των παιδιών ήταν σε ποσοστό 80,7% κάποιο αστικό κέντρο και σε ποσοστό 19,3% αγροτική περιοχή. Ως προς τη γεωγραφική κατανομή το 76,6% των παιδιών κατοικούσαν στην περιφέρεια της Αττικής και το 23,4% των παιδιών στις υπόλοιπες εννιά περιφέρειες της Ελλάδας και συγκεκριμένα στην Πελοπόννησο, τη Δυτική Μακεδονία, την Κεντρική Μακεδονία, την Ανατολική Μακεδονία & Θράκη, τη Θεσσαλία, την Ήπειρο, την Κρήτη, τη Στερεά και τη Δυτική Ελλάδα .

Επίσης η μελέτη πραγματοποιήθηκε κατά τη διάρκεια 7 διαδοχικών ετών και καθόλη τη διάρκεια του έτους προκειμένου να ερευνηθούν μεταβολές στην επιδημιολογία του Ρότα ιού από χρονιά σε χρονιά και από εποχή σε εποχή. Ως περίοδος της μελέτης ορίστηκε το διάστημα από το Σεπτέμβριο ενός έτους έως τον Αύγουστο του επόμενου έτους με εξαίρεση την πρώτη περίοδο της μελέτης, η οποία ξεκίνησε από τον Ιανουάριο 2008 και τελείωσε τον Αύγουστο 2008. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία και με βάση τον παιδιατρικό πληθυσμό της Ελλάδας για να περιγραφούν οι γονότυποι, που κυκλοφορούν στον πληθυσμό με συχνότητα $\geq 1\%$, πρέπει το ετήσιο μέγεθος του δείγματος, που μελετάται, να είναι τουλάχιστον 161 παιδιά. Επομένως η μελέτη μας ήταν επαρκής ως προς το μέγεθος του δείγματος, καθώς ο ελάχιστος ετήσιος αριθμός παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό, που συγκεντρώθηκε ήταν 233 παιδιά την περίοδο 2012-2013 και ο μέγιστος ετήσιος αριθμός παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό ήταν 560 κατά την περίοδο 2011-2012. Εξαίρεση αποτέλεσε η πρώτη

περίοδος της μελέτης, η οποία ήταν μισή σε διάρκεια (Ιανουάριος 2008 έως Αύγουστος 2008) και στην οποία συγκεντρώθηκαν 67 παιδιά.

Οι χρονιές 2008-2014, που διεξήχθη η μελέτη, αφορούσαν στην περίοδο μετά την κυκλοφορία των δύο εμβολίων στη χώρα μας, του πενταδύναμου Rotateq και του μονοδύναμου Rotarix, που ξεκίνησε το 2007. Μέχρι και το 2010 η εμβολιαστική κάλυψη για το Ρότα ιό ήταν χαμηλή στη χώρα μας και δεν ξεπέρασε το 25% καθώς δεν υπήρχε επίσημη σύσταση από το Υπουργείο Υγείας να εφαρμόζονται υποχρεωτικά τα νέα εμβόλια για το Ρότα ιό. Το 2011 τα δύο εμβόλια πήραν έγκριση να εφαρμόζονται και να αποζημιώνονται κατά 75% από τα δημόσια ταμεία του κράτους. Έτσι το 2014, σύμφωνα με τα στοιχεία των πωλήσεων των δύο εμβολίων, η εμβολιαστική κάλυψη για το Ρότα ιό στην Ελλάδα αυξήθηκε και έφτασε το 35-40%. Οι πωλήσεις για τα δύο εμβόλια ήταν ισότιμα κατανεμημένες και συγκεκριμένα ήταν 55% για το Rotateq και 45% για το Rotarix. Η περίοδος διεξαγωγής της παρούσας μελέτης χωρίστηκε σε περίοδο πρώιμης εμβολιαστικής κάλυψης (2008-2011) και περίοδο όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης (2011-2014) και έγινε σύγκριση της επιδημιολογίας του Ρότα ιού ανάμεσα σε αυτές τις δύο περιόδους. Ο αριθμός παιδιών, που συγκεντρώθηκε στις δύο περιόδους ήταν παρόμοιος, δηλαδή 1254 παιδιά την πρώτη περίοδο και 1274 παιδιά τη δεύτερη περίοδο.

Στην περίοδο της πρώιμης εμβολιαστικής κάλυψης υπήρξε αντιπροσωπευτικότητα και από τις 20 Παιδιατρικές κλινικές, που συμμετείχαν στη μελέτη. Στην περίοδο της όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης σημειώθηκε μείωση στον αριθμό των παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό, που συγκεντρώθηκαν σε κάποιες Παιδιατρικές κλινικές, όπως στο Παίδων Πεντέλης, την Πάτρα, την Καλαμάτα, την Καρδίτσα, το Ηράκλειο, τη Λαμία, τη Θεσσαλονίκη και την Κατερίνη, ενώ σε πέντε Παιδιατρικές Κλινικές (Θριάσιο, Ιωάννινα, Άρτα, Κομοτηνή, Λάρισα) δε συγκεντρώθηκε κανένα δείγμα. Σε πέντε Παιδιατρικές Κλινικές («Μητέρα», «Ιασώ», «Ευρωκλινική», Βέροια και Βόλος) συγκεντρώθηκαν περισσότερα παιδιά με ΟΓ από Ρότα ιό κατά την περίοδο όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης συγκριτικά με την περίοδο πρώιμης εμβολιαστικής κάλυψης. Οι μεταβολές αυτές στον αριθμό των παιδιών μπορεί να αποδοθούν στην ευρύτερη εφαρμογή του εμβολιασμού στη χώρα μας.

Η παγκόσμια εφαρμογή του εμβολιασμού έναντι του Ρότα ιού έχει οδηγήσει σε μείωση της νοσηρότητας από Ρότα ιό, όπως αυτό αποτυπώνεται από τα επεισόδια ΟΓ σε παιδιά τη κοινότητας, από τις επισκέψεις στα επείγοντα και από τις νοσηλείες των παιδιών σε νοσοκομεία τόσο στην Ευρώπη όσο και στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής (Η.Π.Α.), την Αυστραλία και το Μεξικό (Roczko-Farkas et al., 2018). Η επίπτωση της ΟΓ από Ρότα ιό έχει μειωθεί σημαντικά και σταθερά σε χώρες, που πέτυχαν σύντομα υψηλή εμβολιαστική κάλυψη (μεγέθους 84-93%) όπως η Αυστρία, το Βέλγιο, η Φιλανδία και η Αυστραλία (Braeckman et al., 2011, Zeller et al., 2010, Raes et al., 2011, Paulke-Korinek et al., 2010). Αντίθετα στις Η.Π.Α. η εμβολιαστική κάλυψη αυξήθηκε με πιο αργό ρυθμό ειδικά τις χρονιές 2010-2015 και δεν ξεπέρασε το 59-73%. Παρολαυτά η επίπτωση του Ρότα ιού στις Η.Π.Α. μειώθηκε έως και 60% την περίοδο μετά την εφαρμογή του εμβολιασμού (2008-2015) συγκριτικά με την περίοδο πριν την εφαρμογή του εμβολιασμού (2000-2006). (Baker et al., 2019)

Η εμβολιαστική κάλυψη στην Ελλάδα σε όλη την περίοδο της μελέτης ήταν σχετικά χαμηλή, επομένως οι μεταβολές στο μέγεθος του δείγματος, που συγκεντρώθηκε από χρονιά σε χρονιά, θεωρούμε ότι σχετίζεται περισσότερο με τη φυσική διακύμανση της επίπτωσης του Ρότα ιού από χρονιά σε χρονιά και από περιοχή σε περιοχή, που είναι χαρακτηριστικό της επιδημιολογίας του ιού. Επίσης σημαντικό ρόλο στη διακύμανση των δειγμάτων παίζει και η οργάνωση του ιατρικού προσωπικού ως προς το σχεδιασμό της συλλογής των δειγμάτων κοπράνων από τα παιδιά με ΟΓ παρά στην εφαρμογή των εμβολίων στην Ελλάδα. Αυτό εξηγείται και από το γεγονός ότι στο Νοσοκομείο Παίδων «Η Αγία Σοφία στην Αθήνα», που ήταν το κέντρο αναφοράς της μελέτης και η συγκέντρωση δειγμάτων κοπράνων από τα παιδιά με ΟΓ από Ρότα ιό ήταν εντατική και συστηματική δεν υπήρξε διακύμανση στον αριθμό των παιδιών στις δύο περιόδους (725 παιδιά την περίοδο πρώιμης εμβολιαστικής κάλυψης και 709 παιδιά την περίοδο όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης). Οι κλινικοί ιατροί, εφόσον υπάρχει η δυνατότητα, πρέπει να προχωρούν σε εργαστηριακό διαγνωστικό έλεγχο σε επεισόδια ΟΓ ειδικά κατά την περίοδο αιχμής του Ρότα ιού, όπως είναι ο Χειμώνας και η Άνοιξη (Sederdahl et al., 2018).

Μετά την κυκλοφορία των εμβολίων έναντι του Ρότα ιού παρατηρήθηκε ένα επαναλαμβανόμενο πρότυπο αυξημένης επίπτωσης του Ρότα ιού ανά διετία. Συγκεκριμένα στις Η.Π.Α. παρατηρήθηκε ότι η επίπτωση των παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό ήταν αυξημένη κάθε δεύτερο χρόνο (20,2% vs 6,4%, $p<0,001$), αν και στο σύνολο ήταν μειωμένη συγκριτικά με την περίοδο πριν την εφαρμογή των εμβολίων (Sederdahl et al., 2018). Στην Ελλάδα παρατηρήθηκε παρόμοια εικόνα με τις Η.Π.Α., δηλαδή τα μονά έτη της μελέτης τα παιδιά με ΟΓ από Ρότα ιό ήταν περισσότερα συγκριτικά με τα ζυγά έτη της μελέτης (20% vs 12,5%, $p<0,001$). Εξήγηση για αυτό το φαινόμενο είναι ότι η υψηλή εμβολιαστική κάλυψη έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του αριθμού των βρεφών, που νοσούν και κατά συνέπεια τη μείωση της μεταδοτικότητας του ιού σε άλλα βρέφη ή παιδιά μεγαλύτερης ηλικίας (ανοσία της κοινότητας). Η μέτρια εμβολιαστική κάλυψη, όπως υπάρχει και στην Ελλάδα, δε δημιουργεί γρήγορα ικανοποιητικό αριθμό άνοσων βρεφών, με αποτέλεσμα τα ανεμβολίαστα βρέφη να νοσούν έστω και καθυστερημένα και να χρειάζονται δύο χρονιές έως ότου ο άνοσος πληθυσμός να λειτουργήσει ως ασπίδα στη μετάδοση του ιού. (Shah et al., 2018)

Ένα άλλο χαρακτηριστικό της ΟΓ από Ρότα ιό είναι η εποχικότητα. Στις χώρες με εύκρατο κλίμα ο Ρότα ιός είναι συχνότερος το Χειμώνα, ενώ στις χώρες με τροπικό κλίμα περιγράφονται επιδημίες σε όλη τη διάρκεια του έτους. Σύμφωνα με τα δεδομένα της πολυκεντρικής Ευρωπαϊκής μελέτης του Ρότα ιού, «Eurorotanet», στην οποία συμμετείχαν 14 χώρες από όλη την Ευρώπη, για το χρονικό διάστημα 2006-2014 ο μήνας με τη μεγαλύτερη συχνότητα ΟΓ από Ρότα ιό ήταν ο Μάρτιος. Ομοίως και στη δική μας μελέτη ο μήνας με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό ήταν ο Μάρτιος και ακολούθησε ο Ιανουάριος, ενώ παρατηρήθηκε εναλλαγή από έτος σε έτος ως προς το μήνα αιχμής του Ρότα ιού. Συγκεκριμένα στα μονά έτη της μελέτης τα περισσότερα παιδιά με ΟΓ από Ρότα ιό συγκεντρώθηκαν τους χειμερινούς μήνες και συγκεκριμένα τους μήνες Ιανουάριο 2008, Φεβρουάριο 2010, Ιανουάριο 2012 και Δεκέμβριο 2014, ενώ στα ζυγά έτη της μελέτης τα περισσότερα παιδιά με ΟΓ από Ρότα ιό συγκεντρώθηκαν τους μήνες της Άνοιξης, δηλαδή τους μήνες Μάιο 2009, Μάρτιο 2011 και Απρίλιο 2013 αντίστοιχα ($p<0.001$).

Διαφορές στην έναρξη της περιόδου αιχμής του Ρότα ιού παρατηρούνται από χώρα σε χώρα και από χρονιά σε χρονιά, γεγονός που αποδίδεται στη φύση του Ρότα ιού κι έχει περιγραφεί σε μελέτης τόσο στην Ευρώπη όσο στην Αμερική. Σύμφωνα με τη μελέτη του «Eurorotanet» σχετικά με την εποχικότητα του Ρότα ιού υπάρχει πάντα ένα επαναλαμβανόμενο πρότυπο έναρξης της περιόδου αιχμής της ΟΓ από Ρότα ιό στην Ευρώπη. Σύμφωνα με το πρότυπο αυτό ο Ρότα ιός προκαλεί συμπτώματα ΟΓ νωρίς το χειμώνα (Ιανουάριο) στις χώρες, που βρίσκονται στη Νοτιοδυτική Ευρώπη, όπως η Ισπανία και ακολουθούν οι χώρες της Ανατολικής και Βόρειας Ευρώπης, όπως η Ελλάδα και η Φιλανδία, όπου η ΟΓ από Ρότα ιό εμφανίζει έξαρση στις αρχές της Άνοιξης (Μάρτιος-Απρίλιος). Παρόμοιο πρότυπο εξάπλωσης του Ρότα ιού από τα Νοτιοδυτικά προς τα Βόρεια και Ανατολικά έχει περιγραφεί και στις Η.Π.Α. (Iturriza-Gomara et al., 2011, Pitzer et al., 2009) και είναι θέμα προς μελέτη, καθώς δεν υπάρχει κάποια συγκεκριμένη εξήγηση. Στις τροπικές χώρες της Υποσαχάριας Αφρικής, όπου υπάρχουν αυξημένα ποσοστά γεννήσεων, ο ρότα ιός προκαλεί ΟΓ σχεδόν όλο το χρόνο. Επομένως φαίνεται ότι η εποχικότητα του Ρότα ιού έχει να κάνει με την εύκολη μετάδοσή του από άτομο σε άτομο και όχι τόσο με τις κλιματικές συνθήκες ή το γεωγραφικό πλάτος της χώρας. Σε αυτό συμβάλλει το γεγονός ότι ο Ρότα ιός μπορεί να υπάρχει σε ασυμπτωματικούς ανθρώπους και ζώα ή να παραμένει για καιρό στο περιβάλλον και να προκαλεί εποχικές επιδημίες μόνο όταν οι συνθήκες ευνοούν την εύκολη και γρήγορη μετάδοσή του. (Pitzer et al., 2011).

Συγκρίνοντας την εποχικότητα του Ρότα ιού κατά την περίοδο πρώιμης εμβολιαστικής κάλυψης και την περίοδο όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης στην Ελλάδα διαπιστώθηκε ότι στη δεύτερη περίοδο η αιχμή της ΟΓ από Ρότα ιό συνέβη νωρίτερα και συγκεκριμένα τον Ιανουάριο και είχε μικρότερη διάρκεια (4 μήνες vs 5 μήνες, $p < 0,001$). Παρόμοια μεταβολή στην επιδημιολογία του Ρότα ιού υπήρξε στις Η.Π.Α. και το Βέλγιο μετά την ευρεία εφαρμογή του εμβολιασμού. Μετά το 2008, σύμφωνα με μελέτες στις Η.Π.Α., η περίοδος αιχμής του ιού ήταν μικρότερη και συνέβη καθυστερημένα κατά 1-2 μήνες, όπως παρόμοια καθυστέρηση παρατηρήθηκε και στο Βέλγιο (Sederdahl et al., 2018, Braeckman et al., 2011, Tate et al., 2009). Αν και η μεταβολή αυτή στην επιδημιολογία του Ρότα ιού ήταν από τις

πρώτες παρατηρήσεις, που περιγράφηκαν μετά την κυκλοφορία των εμβολίων, δεν είναι ακόμα ξεκάθαρο αν οφείλεται στην εφαρμογή του εμβολιασμού ή στη φυσική διακύμανση της εποχικότητας του ιού.

Η ηλικία των παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό στη μελέτη μας ήταν στο μεγαλύτερο ποσοστό μεταξύ 3-12 μηνών και το 67% των παιδιών ήταν συνολικά 3-24 μηνών. Σύμφωνα με τη μελέτη του «Eurorotanet» το μεγαλύτερο ποσοστό παιδιών που νοσούσαν από Ρότα ιό στην Ευρώπη ήταν μεταξύ 6-24 μηνών. Μελέτες δείχνουν ότι τα βρέφη μετά την ηλικία των 3 μηνών, που δεν έχουν πια ανοσολογική ενίσχυση από τα αντισώματα της μητέρας τους, είναι πιο ευάλωτα στο Ρότα ιό. Μέχρι και την ηλικία των 3 ετών σχεδόν όλα τα παιδιά θα νοσήσουν έστω και μία φορά από ΟΓ από Ρότα ιό. Τα παιδιά μεγαλύτερης ηλικίας μπορεί να έρθουν ξανά σε επαφή με τον ιό και να νοσήσουν αλλά λόγω της αθροιστικής δράσης της ανοσολογικής μνήμης από τις προηγούμενες λοιμώξεις θα έχουν ηπιότερη κλινική εικόνα ή μπορεί να είναι και ασυμπτωματικά.

Στην επιδημιολογική μελέτη των Sederdahl et al, που έγινε στις ΗΠΑ από το 2001-2015, η μέση ηλικία των παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό την περίοδο μετά την εφαρμογή του εμβολιασμού ήταν αυξημένη (26 μήνες vs 13 μήνες, $p < 0,001$) και το μεγαλύτερο ποσοστό παιδιών αφορούσε στην ηλικιακή ομάδα 24-36 μήνες (Sederdahl et al., 2018). Παρόμοια παρατήρηση σχετικά με την αύξηση του μέσου όρου ηλικίας στα παιδιά που νοσούν από Ρότα ιό έχει αναφερθεί και σε μελέτες της Βραζιλίας αλλά και στο Βέλγιο, όπου παρατηρήθηκε μείωση της συχνότητας του Ρότα ιού στα βρέφη κάτω του ενός έτους μετά την κυκλοφορία των εμβολίων (Dulgheroff et al., 2012, Zeller et al., 2010). Στη μελέτη μας σημειώθηκε αύξηση στο μέσο όρο ηλικίας των παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό (22,6 μήνες vs 17,9 μήνες, $p < 0,001$) στην περίοδο όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης. Επίσης στην ίδια περίοδο μειώθηκε η συχνότητα των παιδιών ηλικίας κάτω των 2 ετών με ΟΓ από Ρότα ιό.

Στη μελέτη μας έγινε τυποποίηση Ρότα ιού σε 2100 δείγματα από το σύνολο των 2528 δειγμάτων κοπράνων, που συγκεντρώθηκαν από παιδιά με ΟΓ από Ρότα ιό, (2100/2528, 83,1%). Τα υπόλοιπα δείγματα, στα οποία αν και είχε ανιχνευθεί το

αντιγόνο του Ρότα ιού με ταχεία μέθοδο ανοσοχρωματογραφίας, δεν τυποποιήθηκε ο γονότυπος του ιού, μπορεί να είχαν μικρό ιϊκό φορτίο ή να μην είχαν συντηρηθεί σωστά. Ύπαρξη μη τυποποιήσιμων στελεχών έχει αναφερθεί σχεδόν σε κάθε επιδημιολογική μελέτη ανά τον κόσμο ανεξάρτητα από τη μέθοδο τυποποίησης, που χρησιμοποιείται. Οι Ρότα ιοί υφίστανται συνεχή γενετική μεταβολή μέσω διαδοχικών σημειακών μεταλλάξεων ή γενετικού ανασυνδυασμού (Suzuki et al., 1998, Desselberger, 1996), οπότε η ανάδυση στελεχών, που δεν τυποποιούνται με τις συνήθεις μεθόδους δεν είναι απίθανη (Fischer and Gentsch, 2004). Τα ποσοστά των μη τυποποιήσιμων δειγμάτων στις μελέτες, στις οποίες χρησιμοποιήθηκε ανοσοενζυμική μέθοδος (EIA) ήταν από 8% έως 46.2% (Padilla-Noriega et al., 1998, Woods et al., 1992, Trabelsi et al., 2000, Bishop et al., 1991). Τα μη τυποποιήσιμα στελέχη είναι συνήθως μεταλλαγμένα ή ασυνήθιστα στελέχη πχ G5, G6, G8, G10 ή G12, που είναι μη ανιχνεύσιμα από μονοκλωνικά αντισώματα, που χρησιμοποιούνται συνήθως στις ανοσοενζυμικές μεθόδους (EIA) ανίχνευσης ανθρώπινων στελεχών (Morita et al., 1988). Η ανάπτυξη και η εφαρμογή της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης με ανάστροφη μεταγραφή (RT-PCR) στην τυποποίηση των Ρότα ιών έχει μειώσει το ποσοστό των μη τυποποιήσιμων στελεχών. Τυχαίες μεταλλάξεις όμως μπορεί να συμβούν στο σημείο πρόσδεσης του εκκινητή (primer) με αποτέλεσμα στελέχη Ρότα ιού να μην μπορούν να τυποποιηθούν ούτε με μοριακές μεθόδους. Τα ποσοστά ανίχνευσης μη τυποποιήσιμων στελεχών σε μελέτες, στις οποίες χρησιμοποιήθηκε μόνο η RT-PCR ήταν από 16% έως 65% (Armah et al., 2001, O'Mahony et al., 1999, Fischer et al., 2000). Σε μερικές μελέτες έχει χρησιμοποιηθεί ο συνδυασμός EIA, RT-PCR και real time PCR, ωστόσο 7.8% με 26.6% των στελεχών παρέμειναν μη τυποποιήσιμα πιθανώς εξαιτίας γενετικής ποικιλομορφίας του Ρότα ιού (Santos et al., 2003, Iturriza-Gomara et al., 2000a). Σε μερικές μελέτες τα γονίδια, που κωδικοποιούν τα γονίδια VP4 και/ή VP7 επιλεγμένων μη τυποποιήσιμων στελεχών αναλύθηκαν περαιτέρω με αλληλούχιση (sequencing) και φάνηκε ότι κάποια στελέχη ήταν συνήθεις G ή P γονότυποι ενώ άλλα ήταν σπάνια στελέχη (Das et al., 2003, Rahman et al., 2003, Arista et al., 1999, Mphahlele and Steele, 1995).

Αν και ο Ρότα ιός έχει μεγάλη γενετική και επιδημιολογική ποικιλομορφία, οι γονότυποι που κυριαρχούν παγκοσμίως τα τελευταία 25 χρόνια, από τότε δηλαδή που έχουν αναπτυχθεί οι μοριακές τεχνικές τυποποίησης είναι οι εξής πέντε: G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] και G9P[8]. Στις αναπτυγμένες χώρες, όπως στη Βόρεια Αμερική, την Αυστραλία και την Ευρώπη ο G1P[8] είναι ο συχνότερος γονότυπος (Doro et al., 2014). Την τελευταία δεκαετία ένας αναδυόμενος γονότυπος, ο G12P[8], έχει κάνει την εμφάνισή του σε χώρες τόσο της Ευρώπης όσο και της Αμερικής και θεωρείται ως ο έκτος συχνότερος γονότυπος που απαντάται παγκοσμίως. (Doro et al., 2014) Οι έξι συχνότεροι γονότυποι κυκλοφορούν παγκοσμίως με συχνότητα 73%, που αγγίζει και το 87%, αν δεν υπολογιστούν τα μερικώς τυποποιημένα στελέχη. Η συχνότητα εμφάνισης αυτών των γονοτύπων ποικίλλει ανά γεωγραφική περιοχή και αλλάζει από εποχή σε εποχή. Σύμφωνα με τις δημοσιεύσεις του «Eurorotanet», του επίσημου ευρωπαϊκού δικτύου καταγραφής γονοτύπων Ρότα ιού, οι γονότυποι που κυριαρχούν την τελευταία δεκαετία στις Ευρωπαϊκές χώρες οφείλονται στους έξι αναφερόμενους γονότυπους σε ποσοστό έως και 98%. Αντίθετα στις χώρες του αναπτυσσόμενου κόσμου (Αφρική, Ασία, Νότια Αμερική) οι παραπάνω έξι γονότυποι κυκλοφορούν σε συχνότητα που δεν ξεπερνά το 63%. Σε αυτές τις χώρες κατά καιρούς εμφανίζονται γονότυποι με πιθανή ζωική προέλευση, όπως οι G5P[8], G8P[6], οι οποίοι προκαλούν σποραδικές επιδημίες με πολλά κρούσματα σε κλειστούς πληθυσμούς, που όμως δεν έχουν σταθερότητα στο χρόνο και περιορίζονται στις χώρες αυτές.

Οι γονότυποι που ανιχνεύθηκαν σε ποσοστό $\geq 1\%$ στη μελέτη μας ήταν οι εξής έξι: G4P[8], G1P[8], G2P[4], G9P[8], G3P[8] και G12P[8]. Η συχνότητά τους στο σύνολο των δειγμάτων ήταν αντίστοιχα: 45.2%, 25.2%, 17%, 2.6%, 2.4% και 2.4%. Συνολικά οι έξι αυτοί γονότυποι αποτέλεσαν το 94.8% των δειγμάτων. Παρόμοιο ποσοστό 91.5% βρέθηκε και στη μελέτη του «Eurorotanet» για τη χρονική περίοδο 2006-2014. Στελέχη που δεν είχαν το συνήθη συνδυασμό των παραπάνω γονοτύπων, αλλά έφεραν τουλάχιστον έναν από τους γνωστούς G ή P τύπους, που καλύπτονται από τα εμβόλια (G1, G2, G3, G4, G9, P[8], P[4]) ήταν 16 (16/2100, 0,8%). Επομένως το άθροισμα των συνηθισμένων γονοτύπων μαζί με αυτούς, που έφεραν τουλάχιστον

ένα γνωστό G ή P τύπο έφτασε το 95.6%. Το αντίστοιχο ποσοστό στη μελέτη του Eurorotanet ήταν 98%. Σε αντίθεση με την Ευρώπη η συχνότητα των παραπάνω γονοτύπων στις αναπτυσσόμενες χώρες της Αφρικής και της Νότιας Αμερικής είναι πολύ μικρότερη (63%), όπως επίσης και στη γειτονική Τουρκία, όπου σε μια ανασκόπηση της επιδημιολογίας του Ρότα ιού το ποσοστό των πέντε συνηθισμένων γονοτύπων (G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8], G9P[8]) ήταν μόλις 59.7% (Tapisiz et al., 2019)

Μικτοί γονότυποι με περισσότερους από έναν G ή/και P τύπους σε κάθε στέλεχος βρέθηκε σε ποσοστό 2.8%. Στη μελέτη του «Eurorotanet» το ποσοστό αυτό έφτασε το 7% και συγκεκριμένα στην Ιταλία το 12%, όπου περιελάμβανε μικτά και μερικώς τυποποιημένα στελέχη. Στην ανασκόπηση επιδημιολογίας του Ρότα ιού στην Τουρκία οι μικτοί γονότυποι βρέθηκαν επίσης σε ποσοστό 2.4%. Η επίπτωση των μικτών στελεχών πρέπει να προσδιορίζεται στις επιδημιολογικές μελέτες, καθώς τα στελέχη αυτά μέσω του μηχανισμού του ανασυνδυασμού μπορεί να παίξουν καθοριστικό ρόλο στην εξέλιξη του Ρότα ιού (Maunula and Von Bonsdorff, 2002, Iturriza-Gomara et al., 2001).

Επιπλέον στη μελέτη μας βρέθηκαν ασυνήθεις συνδυασμοί μεταξύ των γνωστών γονοτύπων σε ποσοστό 1% και γονότυποι με πιθανή ζωική προέλευση βρέθηκαν επίσης σε ποσοστό 1.4%. Αρκετά από τα παραπάνω ασυνήθιστα στελέχη, όπως τα G1P[4], G2P[8], G3P[4] και G4P[4] έχουν ανιχνευθεί κατά περιόδους με σχετικά υψηλή συχνότητα σε διάφορα μέρη του κόσμου, γεγονός που δείχνει ότι τα στελέχη αυτά έχουν γενετική σταθερότητα και πιθανώς ικανότητα να διαθοδούν στον πληθυσμό εφόσον υπάρχουν οι κατάλληλες συνθήκες. (Santos and Hoshino, 2005)

Σύμφωνα με την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας ο G1P[8] γονότυπος είναι ο συχνότερος γονότυπος ανά τον κόσμο (συχνότητα 20-47%) με εξαίρεση κάποιες περιοχές της Νότιας Αμερικής, όπου επικρατεί ο G2P[4] (Doro et al., 2014). Στην ευρωπαϊκή μελέτη «Eurorotanet», αν και η κατανομή γονοτύπων για την περίοδο 2006-2014 είχε μεγάλη διακύμανση από χρονιά σε χρονιά και από περιοχή σε περιοχή, ο συχνότερος γονότυπος σε όλες τις χώρες της Ευρώπης ήταν ο G1P[8] με

εξαίρεση την Αυστρία, το Βέλγιο και την Ελλάδα. Η συχνότητά του δεν ήταν σταθερή και κυμάνθηκε από 61% την περίοδο 2007-2008 έως 38% την περίοδο 2013-2014. Σύμφωνα με τη μελέτη μας ο G1P[8] στις αντίστοιχες περιόδους ανιχνεύθηκε σε ποσοστό 57.8% (2008), όπου ήταν και ο συχνότερος γονότυπος για εκείνη τη χρονιά και σε ποσοστό 7.2% την περίοδο 2013-2014. Επίσης στη μελέτη μας ο G1P[8] ήταν συχνότερος στην περίοδο πρώιμης εμβολιαστικής κάλυψης (2008-2011) συγκριτικά με την περίοδο όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης, όπου συχνότερος γονότυπος ήταν ο G4P[8].

Ο G2P[4] σύμφωνα με τη βιβλιογραφία έχει αυξημένη συχνότητα σε χώρες, όπου εφαρμόζεται συστηματικά ο εμβολιασμός με το μονοδύναμο εμβόλιο Rotarix, όπως στην Αυστρία, το Βέλγιο και σε κάποιες χώρες της Λατινικής Αμερικής. Επίσης σε περιοχές της Αυστραλίας, αν και εφαρμόζεται το πενταδύναμο εμβόλιο Rotateq, ο G2P[4] γονότυπος είναι επίσης πολύ συχνός. Δεν είναι δυνατό να γνωρίζουμε αν η επικράτηση του G2P[4] είναι αποτέλεσμα της υψηλής εμβολιαστικής κάλυψης ή όχι, γιατί δεν υπάρχουν αρκετά δεδομένα κατανομής γονοτύπων πριν από την εφαρμογή των εμβολίων. Επίσης στο Βέλγιο την περίοδο 2013-2014 παρατηρήθηκε μείωση του G2P[4] και αύξηση του G9P[8] και G3P[8], που επίσης δεν μπορούμε να γνωρίζουμε αν είναι αποτέλεσμα της εμβολιαστικής κάλυψης ή της φυσικής μεταβλητότητας του ιού από έτος σε έτος. Στην Ελλάδα ο γονότυπος G2P[4] ήταν ο τρίτος συχνότερος στη σειρά (17%) και ήταν συχνότερος στην περίοδο όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης (2011-2014) συγκριτικά με την περίοδο πρώιμης εμβολιαστικής κάλυψης.

Ο G3P[8] γονότυπος, που στην Ελλάδα ανιχνεύθηκε σε μικρό ποσοστό (2.4%) και αυξήθηκε στην περίοδο όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία επικρατεί σε διάφορες περιοχές της Αυστραλίας και των Η.Π.Α., όπου εφαρμόζονται και τα δύο εμβόλια. Επίσης επικρατεί και σε χώρες, όπου δεν εφαρμόζεται μαζικός εμβολιασμός, όπως Αργεντινή, Ταϊλάνδη, Γερμανία καθώς και σε χώρες της Ασίας.(Doro et al., 2014)

Ο G4P[8] γονότυπος ήταν ο συχνότερος στην Ελλάδα με ποσοστό 45.2% και μειώθηκε κατά την περίοδο όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης. Στον υπόλοιπο κόσμο

επικρατεί σποραδικά σε διάφορες χώρες, όπως Εσθονία, Βουλγαρία, Ουγγαρία και Ρωσία καθώς και σε ορισμένες περιοχές της Αυστραλίας, όπου εφαρμόζεται το μονοδύναμο εμβόλιο Rotarix.(Doro et al., 2014)

Οι γονότυποι G9P[8] και G12P[8] ουσιαστικά έκαναν την εμφάνισή τους τις δύο τελευταίες δεκαετίες (στα μέσα του 1990 ο G9P[8] και στα μέσα του 2000 ο G12P[8]). Στην Ελλάδα ανιχνεύθηκαν σε ποσοστά 25.2% και 2.4% αντίστοιχα, ωστόσο με μεγάλη διακύμανση ως προς τη συχνότητά τους. Ειδικότερα ο G12P[8] εμφανίστηκε την περίοδο 2009-2010 με συχνότητα 8%, συνέχισε να κυκλοφορεί την επόμενη περίοδο με συχνότητα 3.1%, εξαφανίστηκε την επόμενη χρονιά και επανεμφανίστηκε στην περίοδο 2012-2013 με συχνότητα 3.9%. Σύμφωνα με τα δεδομένα του «Eurorotanet» ο G12P[8] εμφανίζεται σταθερά σε πολλές χώρες της Ευρώπης μετά την περίοδο 2010-2011 και προκαλεί μικροεπιδημίες, οι οποίες όμως περιορίζονται γρήγορα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η Ισπανία, όπου την περίοδο 2011-2012 το 80% των στελεχών G12P[8] απομονώθηκε από μια συγκεκριμένη περιοχή της Βόρειας Ισπανίας (Gipuzkoa) και τις επόμενες χρονιές εξαφανίστηκε. Στο Ηνωμένο Βασίλειο αντίθετα ο G12P[8] έκανε την εμφάνισή του το 2011-2012 σε μια περιοχή της Σκωτίας και την επόμενη περίοδο ανιχνεύθηκε σε σημαντικό ποσοστό σε όλη τη χώρα.(Hungerford et al., 2019)

Οι ασυνήθεις γονότυποι με πιθανή ζωική προέλευση ανιχνεύθηκαν στη χώρα μας σε ποσοστό 1% και αφορούσαν στα στελέχη G6, G8, G10, G12, P[6], P[9], P[10], P[14] που συνδυάζονταν είτε μεταξύ τους είτε με τους συνήθεις γονότυπους. Οι γονότυποι αυτοί απομονώθηκαν σποραδικά σε κάποιες περιοχές της Ελλάδας, όπως Αθήνα, Καλαμάτα, Καρδίτσα και Βέροια. Δε συσχετίστηκαν με το φύλο, την αγροτική κατοικία, τη νοσοκομειακή λοίμωξη ή με τη σοβαρή κλινική εικόνα της ΟΓ. Σχετίστηκαν σημαντικά όμως με την ηλικία των παιδιών, δηλαδή τα παιδιά που έφεραν κάποιον από αυτούς τους γονότυπους είχαν μεγαλύτερη ηλικία. Στη μελέτη του «Eurorotanet» παρόμοιοι γονότυποι έχουν ανιχνευθεί σε πολύ μικρό ποσοστό και με σποραδικό τρόπο, γεγονός που δείχνει ότι οι γονότυποι αυτοί προέρχονται από ανασυνδυασμό ανθρώπινου με ζωικό στέλεχος, που μπορεί να μολύνει τον άνθρωπο αλλά δεν μπορεί να μεταδοθεί περαιτέρω από άνθρωπο σε άνθρωπο και

να προκαλέσει επιδημίες. Φυλογενετική ανάλυση αυτών των γονοτύπων ίσως να δώσει περισσότερες πληροφορίες σχετικά με την κυκλοφορία τους στα παιδιά με ΟΓ.

Επίσης στην μελέτη του «Eurorotanet» διαπιστώθηκε συσχέτιση του γονότυπου με την ηλικία, δηλαδή ο G1P[8] ήταν ο συχνότερος γονότυπος στα παιδιά <5 ετών (47%) και λιγότερο συχνός στις μεγαλύτερες ηλικίες, ενώ ο G2P[4] ήταν συχνότερος στους ενήλικες (28%) και ειδικά στους ηλικιωμένους (65%), ενώ στα παιδιά <5 ετών ήταν πιο σπάνιος (11%). Στην Ελλάδα δε σημειώθηκε επικράτηση του G2P[4] στις μεγαλύτερες ηλικίες, καθώς η μελέτη μας περιορίστηκε σε παιδιά <5 ετών. Τα παιδιά με μεγαλύτερο μέσο όρο ηλικίας φάνηκε να νοσούν από στελέχη πιθανής ζωικής προέλευσης, όπως αναφέρθηκε παραπάνω. Αυτό μπορεί να ερμηνευθεί από τη διαφορετική γενετική προέλευση των γονοτύπων αυτών (DS-1-like προέλευση για τον G2P[4]) συγκριτικά με τη γενετική προέλευση των συχνών γονοτύπων (Wa-like), που τους καθιστά ικανούς να επιβιώνουν και να πολλαπλασιάζονται σε άτομα μεγαλύτερης ηλικίας με διαφορετική ανοσοποιητική κατάσταση συγκριτικά με τα μικρά παιδιά και τα βρέφη, στα οποία επικρατούν οι υπόλοιποι τέσσερις γονότυποι (G1P[8], G3P[8], G4P[8] και G9P[8]).

Τέλος στη μελέτη μας κατά τη συσχέτιση των γονοτύπων με το φύλο, την αστική ή αγροτική κατοικία, τη νοσηλεία ή μη των παιδιών, την εμβολιαστική τους κατάσταση και τη σοβαρότητα της κλινική τους εικόνας δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση. Στη μελέτη του «Eurorotanet» και συγκεκριμένα σε χώρες όπως το Βέλγιο, η Γερμανία και το Ηνωμένο Βασίλειο αναφέρεται συσχέτιση του G2P[4] με τη νοσηλεία των παιδιών, ενώ το αντίθετο δηλαδή παρουσία του G2P[4] σε παιδιά που δε νοσηλεύθηκαν σε νοσοκομείο παρατηρήθηκε σε άλλες χώρες, όπως η Λιθουανία, η Σουηδία και η Δανία. Επίσης ο G12P[8] γονότυπος ανιχνεύθηκε σε βαθμό στατιστικά σημαντικό σε αγροτικές περιοχές σε ορισμένες χώρες, όπως η Ισπανία και το Ηνωμένο Βασίλειο. Τα αποτελέσματα αυτά λόγω της μεγάλης ετερογένειας των δειγμάτων από κάθε χώρα δεν μπορούν να γενικευθούν. Περισσότερες μελέτες με πιο πολλά δείγματα και συνεχή επιτήρηση των δεδομένων είναι απαραίτητες προκειμένου να βγουν ασφαλή συμπεράσματα.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Πίνακας Α. Αντιμικροβιακή θεραπεία για αντιμετώπιση οξείας μικροβιακής γαστρεντερίτιδας.

ΠΑΘΟΓΟΝΟ	ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΓΙΑ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ	ΦΑΡΜΑΚΟ ΕΚΛΟΓΗΣ	ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ
Shigella spp	Υποψία ή αποδεδειγμένη σιγκέλλωση	Από το στόμα: Azithromycin (12 mg/kg την 1η μέρα και στη συνέχεια 6 mg/kg για 4 μέρες) Παρεντερικά: Ceftriaxone (50 mg/kg για 2–5 μέρες)	Cefixime (8 mg /kg/μέρα; Ciprofloxacin PO (20–30 mg/ kg/ μέρα). Για στέλεχος με ευαισθησία: TMP/SMX (8 mg/kg/μέρα) ή Ampicillin (100 mg/kg/μέρα
Salmonella spp (nontyphoidal)	Παιδιά με παράγοντες κινδύνου για να μειωθεί η πιθανότητα μικροβιαμίας και εξωεντερικών εκδηλώσεων	Ceftriaxone (50–100 mg/ kg /μέρα)	Azithromycin (10 mg/ kg / μέρα); Ciprofloxacin PO (20–30 mg/ kg/ μέρα). Για στέλεχος με ευαισθησία:TMP/SMX (8 mg/kg/μέρα)
Campylobacter spp	Σε στέλεχη, που προκαλούν δυσεντερία. Είναι αποτελεσματική, όταν χορηγείται τις 3 πρώτες μέρες της νόσου	Azithromycin (10 mg/kg/μέρα για 3 μέρες, ή μοναδική δόση 30 mg/kg/δόση)	Doxycycline (>8 ετών) ή Ciprofloxacin (>17 ετών)
Escherichia coli (ETEC)	Κυρίως για την ταξιδιωτική διάρροια	Azithromycin (10 mg/kg/ μέρα για 3 μέρες)	Cefixime (8 m/kg/μέρα για 5 μέρες); TMP/SMX (8 mg/ kg/ μέρα); Ciprofloxacin PO (20–30 mg/ kg/ μέρα); Rifaximin (>12 ετών, 600 mg/μέρα για 3 μέρες)
Vibrio cholerae	Σε επιβεβαιωμένες ή ύποπτες περιπτώσεις βάση ταξιδιωτικού ιστορικού	Azithromycin (10 mg/kg/ μέρα για 3 μέρες ή μοναδική δόση 20 mg/kg δόση)	Doxycycline (>8 ετών), Ciprofloxacin (>17 ετών), ή TMP/SMX (σε ευαισθησία)
Clostridium difficile	Σε μέτριες και σοβαρές περιπτώσεις	Metronidazole (30 mg /kg/μέρα για 10 μέρες)	Vancomycin PO (40 mg/kg /μέρα

Πίνακας Β. Πρωτεΐνες (δομικές και μη δομικές) Ρότα ιού και η λειτουργία τους.

ΠΡΩΤΕΪΝΗ	ΤΜΗΜΑ dsRNA	ΤΟΠΟΘΕΣΙΑ ΣΤΟ ΙΙΚΟ ΚΑΨΙΔΙΟ	ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ
Δομικές			
VP1	1	Κορυφές του πυρήνα	dsRNA σύνθεση, RNA polymerase
VP2	2	Εσωτερικό κέλυφος του πυρήνα	Διεγείρει την αντιγραφή του ιικού RNA
VP3	3	Κορυφές του πυρήνα	Γουανιλική τρανσφεράση του mRNA Ένζυμο καλύπτρας
VP4 (Διασπάται σε VP5* και VP8*)	4	Επιφανειακές προεξοχές	Προσκόλληση του ιού στα κύτταρα Λοιμογόνος δύναμη ως P-type εξουδετερωτικό αντιγόνο
VP6	6	Εσωτερικό καψίδιο	Πρωτεΐνη μεσαίου στρώματος Δομικό και ειδικό για τα είδη του ιού αντιγόνο
VP7	9	Εξωτερικό καψίδιο	Δομικό και G-type εξουδετερωτικό αντιγόνο
Μη δομικές			
NSP1	5	Μη δομική	Δεσμεύει το 5'RNA Ανταγωνιστής INF
NSP2	8	Μη δομική	NTP-άση που εμπλέκεται σε συσκευασία RNA συσκευασία (Viroplasm)
NSP3	7	Μη δομική	Δυναμώνει την RNA ιική δραστηριότητα και σταματά την πρωτεΐνοσύνθεση μέσω αναστολής mRNA σύνθεσης Σχετίζεται με συστηματική διασπορά
NSP4	10	Μη δομική	Εντεροτοξίνη Σύνθεση του εξωτερικού καψιδίου Ρύθμιση της ομιόστασης ασβεστίου
NSP5	11	Μη δομική	ssRNA και dsRNA δεσμευτικό του NSP2
NSP6	11	Μη δομική	Σύνθεση του ιικού πλάσματος (Viroplasm formation)

Πίνακας Γ. Ποικιλία G γονοτύπων (VP7 gene) του Ρότα ιού ομάδας A και πιθανή προέλευσή τους.

ΓΟΝΟΤΥΠΟΣ	ΠΙΘΑΝΗ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΚΑΤΑΧΩΡΗΣΗΣ	ΌΝΟΜΑ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ
G[1]	Human	D16343	KU
G[2]	Human	M11164	S2
G[3]	Simian	M21650	RRV
G[4]	Porcine	X06386	Gottfried
G[5]	Porcine	X04613	OSU
G[6]	Bovine	M12394	NCDV
G[7]	Chicken	X56784	Ch-2
G[8]	Bovine	D01054	A5
G[9]	Human	L14072	116E
G[10]	Bovine	X53403	61A
G[11]	Porcine	M23194	YM
G[12]	Human	M58290	L26
G[13]	Equine	D13549	L338
G[14]	Equine	D25229	CH3
G[15]	Bovine	AF237666	Hg18
G[16]	Murine	U08430	EW
G[17]	Turkey	S58166	Ty-1
G[18]	Pigeon	D82979	PO-13
G[19]	Chicken	AB080738	Ch-1
G[20]	Human	EU805775	Ecu534
G[21]	Bovine	AB454421	AzuK-1
G[22]	Turkey	EU486973	Tu-2E10
G[23]	Pheasant	FN393056	Phea17655

Πίνακας Δ. Ποικιλία Ρ γονοτύπων (VP4 gene) του Ρότα ιού ομάδας Α και πιθανή προέλευσή τους.

ΓΟΝΟΤΥΠΟΣ	ΠΙΘΑΝΗ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΚΑΤΑΧΩΡΗΣΗΣ	ΌΝΟΜΑ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ
P[1]	Bovine	AB119636	NCDV
P[2]	Simian	M23188	SA11
P[3]	Feline, Canine	D14723	FRV64
P[4]	Human	M58292	L26
P[5]	Bovine	M22306	UK
P[6]	Porcine	M33516	Gottfried
P[7]	Porcine	X13190	OSU
P[8]	Human	L34161	Wa
P[9]	Human	D10970	AU-1
P[10]	Human	M60600	69 M
P[11]	Bovine	D13394	B223
P[12]	Equine	L04638	H-2
P[13]	Porcine	L07886	MDR-13
P[14]	Bovine	AB158430	Sun9
P[15]	Ovine	L11599	Lp14
P[16]	Murine	AF039219	EDIM
P[17]	Avian	AB009632	PO-13
P[18]	Equine	D13399	L338
P[19]	Human	D38054	Mc345
P[20]	Murine	U08424	EHP
P[21]	Bovine	AF237665	Hg18
P[22]	Lapine	AF526374	160/01
P[23]	Porcine	AY768809	34461-4
P[24]	Simian	AY596189	TUCH
P[25]	Human	AY773004	Dhaka6
P[26]	Porcine	DQ061053	134/04-15
P[27]	Porcine	DQ534016	CMP034
P[28]	Human	EU805773	Ecu534
P[29]	Bovine	AB454420	AzuK-1
P[30]	Chicken	EU486956	Ch-2G3
P[31]	Chicken	EU486962	Ch-661G1
P[32]	Porcine	FJ492835	61/07ire

Πίνακας Ε. Πρότυπο ερωτηματολόγιο για συλλογή δεδομένων ασθενών με ΟΓ από Ρότα ιό.

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙΔΑ ΑΠΟ ΡΟΤΑ ΙΟ			
ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ			
Κωδικός Ασθενούς			
Αρχικά ονόματος			
Φύλο	Άρρεν ☐	Θήλυ ☐	
Ημερομηνία γέννησης			
Ηλικία κατά την εισαγωγή (ημέρες)			
Καταγωγή			
Τόπος διαμονής			
ΚΛΙΝΙΚΑ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙΔΑΣ			
Πυρετός (μέγιστη θερμοκρασία)	≤37,1-38,4°C ☐	38,5-38,9 °C ☐	≥ 39,0°C ☐
Αριθμός διαρροϊκών κενώσεων ανά 24ωρο	1-3 ☐	4-5 ☐	≥6 ☐
Διάρκεια διαρροϊκών κενώσεων (ημέρες)	1-4 ☐	5 ☐	≥6 ☐
Αριθμός εμέτων ανά 24ωρο	1 ☐	2-4 ☐	≥5 ☐
Διάρκεια εμέτων (ημέρες)	1 ☐	2 ☐	≥3 ☐
Βαθμός αφυδάτωσης	Καθόλου ☐	1-5% ☐	≥6% ☐
Ενυδάτωση	Όχι ☐	Ναι ☐	
Είδος ενυδάτωσης	Από το στόμα ☐	Ενδοφλέβια ☐	Και τα δύο ☐
ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΥ			
Εμβολιασμός για Ρότα ιό	Όχι ☐	Ναι ☐	
Είδος εμβολίου	Rotarix ☐	Rotateq ☐	Άγνωστο ☐
Αριθμός δόσεων	3 ☐	2 ☐	1 ☐
			Άγνωστο ☐

Πίνακας ΣΤ. Πληθυσμός παιδιών ανά περιφέρεια της Ελλάδας (δημογραφικά δεδομένα ελληνικής στατιστικής υπηρεσίας, 2011).

	0-9 ετών	0-5 ετών
ΑΤΤΙΚΗ-ΑΘΗΝΑ	362540	185257
ΣΤΕΡΕΑ ΕΛΛΑΔΑ	50091	25596
ΔΥΤΙΚΗ ΕΛΛΑΔΑ	65785	33616
ΘΕΣΣΑΛΙΑ	71731	36654
ΗΠΕΙΡΟΣ	29553	15101
ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑ-ΘΡΑΚΗ	60316	30821
ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΣ	52601	26879
ΚΕΝΤΡΙΚΗ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑ	188745	96449
ΔΥΤΙΚΗ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑ	26629	13607
ΚΡΗΤΗ-ΗΡΑΚΛΕΙΟ	69924	35731
ΒΟΡΕΙΟ ΑΙΓΑΙΟ	18652	9531
ΝΟΤΙΟ ΑΙΓΑΙΟ	33615	17177
ΙΟΝΙΟΙ ΝΗΣΟΙ	19657	10045
ΣΥΝΟΛΟ	1049839	536868

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

«ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙΔΑ ΑΠΟ ΡΟΤΑ ΙΟΥ: ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ»

Εισαγωγή: Ο Ρότα ιός (RV) είναι το συχνότερο αίτιο οξείας γαστρεντερίτιδας στα παιδιά <5 ετών παγκοσμίως και σημαντικό αίτιο θανάτου παιδιών στις αναπτυσσόμενες χώρες της Αφρικής και της Ασίας. Μείωση τόσο στην επίπτωση του Ρότα ιού όσο και στη θνητότητα σημειώθηκε μετά την κυκλοφορία των δύο εμβολίων το 2006. Οι συχνότεροι γονότυποι Ρότα ιού, που κυκλοφορούν παγκοσμίως είναι πέντε (G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] και G9P[8]) και η συχνότητά τους διαφέρει από χώρα σε χώρα (63-97%) και από χρονιά σε χρονιά. Τα δύο εμβόλια έναντι του Ρότα ιού είναι ασφαλή και αποτελεσματικά ως προς τη σοβαρή ΟΓ που προκαλείται από τους παραπάνω γονότυπους. Δίκτυα επιτήρησης και καταγραφής των γονοτύπων του Ρότα ιού έχουν δημιουργηθεί σε όλο τον κόσμο προκειμένου να μελετήσουν την επίδραση των εμβολίων στην επιδημιολογία του ιού και την πιθανή ανάδυση νέων στελεχών.

Σκοπός: Μελέτη της επιδημιολογίας και της κατανομής των γονοτύπων του Ρότα ιού στην Ελλάδα κατά την περίοδο πρώιμης και όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης.

Υλικό και μέθοδος: Πρόκειται για προοπτική μελέτη, που ξεκίνησε τον Ιανουάριο 2008 και ολοκληρώθηκε τον Αύγουστο 2014. Συμμετείχαν 20 Παιδιατρικές κλινικές από όλη την Ελλάδα, όπου συγκεντρώθηκαν δείγματα κοπράνων από παιδιά <5 ετών με συμπτώματα ΟΓ. Η ανίχνευση του αντιγόνου του Ρότα ιού ομάδας Α έγινε με γρήγορη ανοσοχρωματογραφική μέθοδο (VIKIA Rota-Adeno test, Biomerieux) και τα θετικά δείγματα για Ρότα ιό τυποποιήθηκαν στο τμήμα Λοιμώξεων του Χωρέμειου Ερευνητικού Εργαστηρίου του Νοσοκομείου Παίδων «Η Αγία Σοφία» με σκοπό να ανιχνευθεί ο G και ο P τύπος του Ρότα ιού. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν μοριακές μέθοδοι (RT-PCR, Multiplex-nested PCR και ηλεκτροφόρηση σε γέλη αгарόζης). Ταυτόχρονα συλλέχτηκαν επιδημιολογικά δεδομένα (εποχή, φύλο, ηλικία, τόπος διαμονής, κλινικά συμπτώματα, ανάγκη για νοσηλεία και εμβολιαστική κατάσταση). Έναρξη περιόδου συλλογής των δειγμάτων θεωρήθηκε ο Σεπτέμβριος κάθε έτους και λήξη ο Αύγουστος του επόμενου έτους. Η μελέτη είχε συνολικά επτά περιόδους και αυτές χωρίστηκαν περαιτέρω σε περίοδο πρώιμης (2008-2011) και

όψιμης (2011-2014) εμβολιαστικής κάλυψης για το Ρότα ιό στην Ελλάδα. Ακολούθησε στατιστική ανάλυση των επιδημιολογικών δεδομένων και συσχέτιση με τους γονότυπους του ιού. Τέλος έγινε σύγκριση των παραπάνω αποτελεσμάτων μεταξύ της περιόδου πρώιμης και όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης.

Αποτελέσματα: Συγκεντρώθηκαν 2528 παιδιά (54.5% αγόρια) με ΟΓ από Ρότα ιό. Η μέση ηλικία τους ήταν 20.2 ± 18 μήνες και το 80% των παιδιών ήταν <3 ετών. Νοσηλευόμενα σε παιδιατρική κλινική ήταν το 95.4% των παιδιών και ενδονοσοκομειακή λοίμωξη από Ρότα ιό παρατηρήθηκε στο 19.2% των παιδιών. Στην περιοχή της Αττικής συγκεντρώθηκε το 76.6% των παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό και το υπόλοιπο 23.4% από άλλες 9 περιφέρειες της Ελλάδας καλύπτοντας συνολικά το 93.3% των παιδιών <5ετών που κατοικούν στη χώρα μας. Από αυτές τις περιοχές αστικές ήταν το 80.7%. Εμβόλιο για Ρότα ιό είχε γίνει σε 43 παιδιά (1.7%). Σοβαρή ΟΓ από Ρότα είχε το 72.4% των παιδιών. Ο ελάχιστος αριθμός των παιδιών που συγκεντρώθηκε ανά περίοδο ήταν 233 και ο μέγιστος αριθμός παιδιών ήταν 560 με εξαίρεση την πρώτη περίοδο (συλλέχτηκαν 67 παιδιά), καθώς η συλλογή ξεκίνησε τον Ιανουάριο. Αυξημένος αριθμός παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό παρατηρήθηκε ανά δεύτερη περίοδο της μελέτης. Τα περισσότερα δείγματα (51.8%) συγκεντρώθηκαν από τον Ιανουάριο έως και τον Απρίλιο με εναλλαγή της εποχής αιχμής της νόσου ανάμεσα σε Άνοιξη και Χειμώνα από περίοδο σε περίοδο. Συνολικά τυποποιήθηκαν 2100 στελέχη Ρότα ιού και οι συχνότεροι γονότυποι που απομονώθηκαν με συνολικό ποσοστό 94.8% ήταν οι εξής: G4P[8] 45.2%, G1P[8] 25.2%, G2P[4] 17%, G3P[8] 2.4%, G9P[8] 2.6% και G12P[8] 2.4%. Ασυνήθης συνδυασμός αυτών των γονοτύπων απομονώθηκε στο 1% και γονότυποι με πιθανή ζωική προέλευση απομονώθηκαν σε ποσοστό 1.4%. Μικτοί γονότυποι με περισσότερους από έναν G ή/και P τύπο ανιχνεύθηκαν σε ποσοστό 2.8%. Αν και παρατηρήθηκε μεταβολή στην κατανομή των γονοτύπων από έτος σε έτος και από περιοχή σε περιοχή οι δύο γονότυποι G1P[8] και G4P[8] ήταν αυτοί που επικράτησαν σε όλες τις χρονιές και σε όλες τις περιοχές με ετήσια μέγιστη συχνότητα 39.3-74.2% και 50.1-78.1% αντίστοιχα. Στατιστικά σημαντική συσχέτιση βρέθηκε ανάμεσα στους γονότυπους με πιθανή ζωική προέλευση και τα παιδιά μεγαλύτερης ηλικίας και ανάμεσα στους γονότυπους G3P[8] και G12P[6] και τη σοβαρή οξεία γαστρεντερίτιδα. Συγκρίνοντας την περίοδο

πρώιμης εμβολιαστικής κάλυψης (2008-2011) με την περίοδο όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης (2011-2014) παρατηρήθηκε μετατόπιση της εποχής αυξημένης συχνότητας του Ρότα ιού κατά 1-2 μήνες νωρίτερα και μείωση της διάρκειάς της κατά την περίοδο όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης. Επίσης στην ίδια περίοδο διαπιστώθηκε αύξηση του μέσου όρου ηλικίας των παιδιών με ΟΓ από Ρότα ιό και αύξηση της συχνότητας των γονοτύπων G2P[4], G3P[8], G4P[8] και G9P[8].

Συμπεράσματα: Η παρούσα μελέτη έδειξε αλλαγή στην επιδημιολογία και κατανομή γονοτύπων του Ρότα ιού στην Ελλάδα κατά την περίοδο όψιμης εμβολιαστικής κάλυψης. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν δημοσιευθεί και από άλλες χώρες (Αγγλία, Βέλγιο, Αυστρία, Η.ΠΑ.) παρόλο που έχουν μεγαλύτερη εμβολιαστική κάλυψη συγκριτικά με την Ελλάδα. Η επιδημιολογία του Ρότα ιού ανά τον κόσμο φαίνεται να αλλάζει μετά την κυκλοφορία των δύο εμβολίων και γίνεται περισσότερο εμφανής όσο αυξάνεται η εμβολιαστική κάλυψη. Η συνεχής επιδημιολογική επιτήρηση του Ρότα ιού παίζει καθοριστικό ρόλο στην αποσαφήνιση του ερωτήματος αν η αλλαγή αυτή οφείλεται στην εφαρμογή των εμβολίων ή αν πρόκειται για τη φυσιολογική εξέλιξη της επιδημιολογίας του ιού. Η μοριακή τυποποίηση των γονοτύπων του ιού και η φυλογενετική τους ανάλυση έχουν καθοριστική σημασία για τη μελέτη της εξέλιξης του Ρότα ιού και για την επιτήρηση της ανάδυσης νέων στελεχών, που μπορεί να επηρεάσουν την αποτελεσματικότητα των εμβολίων που κυκλοφορούν.

SUMMARY

«ROTAVIRUS GASTROENTERITIS: EPIDEMIOLOGY AND GENOTYPE DISTRIBUTION»

Introduction: Rotavirus (RV) is the leading cause of acute gastroenteritis among young children worldwide and major cause of deaths in developed countries, especially in Africa and Asia. In 2006 two vaccines against RV were licensed and reduction to morbidity and mortality due to RV was reported. Five are the RV genotypes that affect humans mostly; G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] and G9P[8]. Their prevalence is estimated between 63-97% worldwide and differs from country to country and year to year. RV vaccines are safe and highly effective towards the above genotypes. RV surveillance networks are established around the world to collect epidemiological and genotyping data, so as to monitor changes in the epidemiology of RV due to the universal mass vaccination and detect the emergence of new RV strains.

Objectives: Study the epidemiology of RV infection and describe the distribution of RV genotypes in Greece during the early and late post vaccine era.

Materials and methods: A prospective multi-center study was conducted in 20 Pediatric Hospitals around Greece during 7 consecutive seasons (2008-2014). Faecal samples were obtained from children <5years old, presenting symptoms of acute gastroenteritis and tested for the presence of RV group A antigen by immunonochromatography (VIKIA Rota-Adeno test, Biomerieux). Positive samples were sent to the «Choremio Research Laboratory» in Athens and genotyped by RT-PCR and Multiplex Nested PCR using primers for the VP7 and VP4 RV genes. Samples were further G and P characterized by using gel electrophoresis and UV lighting. Additionally epidemiological data (date, gender, age, residence, clinical symptoms, hospitalization status and vaccination status) were collected from children with RV gastroenteritis. RV season was determined as the period between September and August of the next year. The duration of the study was seven RV seasons which were further grouped into early (2008-2011) and late (2011-2014) post vaccine periods. Epidemiological data were analyzed with the «SPSS statistical package» and correlated

with the RV genotyping results. Finally a comparison between results of the early (2008-2011) and the late (2011-2014) post vaccine period was made.

Results: A total of 2528 children (54.5% male) of median age 20.2 ± 18 months participated in the study. Most of them (80%) were under 3 years old and 95.4% were hospitalized. Nosocomial infection was detected in 19.2% of children with RV gastroenteritis. RV samples were collected from children living in the region of Attica (76.6%) and in other 9 geographical regions of Greece (23.4%) covering in total the 93.2% of the population of Greek children <5 years old. Urban regions of Greece was the place of living for 80.7% of children. At least one dose of vaccine was implemented in 43 children (1.7%). Symptoms of severe gastroenteritis were found in 72.4% of children. The number of samples collected from each season was between 233-560 except from the first season which was shorter and only 67 samples were collected. Increase in the number of RV samples was reported every second season of the study. Most of the RV samples were collected between January and April (52%) and RV peak was reported periodically either in Winter or Spring. Totally 2100 samples were genotyped and 94.8%, of them were the common genotypes; G4P[8] 45.2%, G1P[8] 25.2%, G2P[4] 17%, G3P[8] 2.4%, G9P[8] 2.6% and G12P[8] 2.4%. Other genotypes that were detected were; uncommon combinations of the above genotypes (1%), possible animal originated (1.4%) and mixed genotypes (2.8%). Even if changes of the prevalent genotypes were mentioned from year to year and place to place, two genotypes G4P[8] and G1P[8] were the most prevalent during the study with annual highest percentages of 39.3-74.2% and 50.1-78.1% respectively. Statistical significant association was found between older children and animal originated genotypes as well as between severe gastroenteritis and genotypes G3P[8] and G12P[6]. Comparison between the early post vaccine period and the late post vaccine period showed an earlier and shorter peak of RV season during the latter period. Also increase in the mean age of children and increase in the prevalence of G2P[4], G3P[8], G4P[8] and G9P[8] genotypes was mentioned during the late post vaccine period.

Conclusions: This study showed changes in the epidemiology and diversity of RV strains during the late post vaccination period in Greece despite the low vaccine

coverage. Similar changes have been reported by several countries (UK, Belgium, Austria, USA) that have implemented massive vaccination and have achieved high vaccine coverage. It is not clear yet whether these changes can be attributed to the implementation of RV vaccination or to the natural fluctuation of the virus. Continuous surveillance of RV epidemiology is needed to elucidate the previous question. Further molecular and phylogenetic analysis of RV genotypes may contribute to understand better the evolution's pattern of the Rotavirus and to monitor the emergence of possible new RV genotypes under the vaccine-induced selection pressure, which could lead to an alteration of vaccines effectiveness.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- ADAMS, W. R. & KRAFT, L. M. 1963. Epizootic diarrhea of infant mice: identification of the etiologic agent. *Science*, 141, 359-60.
- AHMED, M. U., URASAWA, S., TANIGUCHI, K., URASAWA, T., KOBAYASHI, N., WAKASUGI, F., ISLAM, A. I. & SAHIKH, H. A. 1991. Analysis of human rotavirus strains prevailing in Bangladesh in relation to nationwide floods brought by the 1988 monsoon. *J Clin Microbiol*, 29, 2273-9.
- AIYEGBO, M. S., SAPPARAPU, G., SPILLER, B. W., ELI, I. M., WILLIAMS, D. R., KIM, R., LEE, D. E., LIU, T., LI, S., WOODS, V. L., JR., NANNEMANN, D. P., MEILER, J., STEWART, P. L. & CROWE, J. E., JR. 2013. Human rotavirus VP6-specific antibodies mediate intracellular neutralization by binding to a quaternary structure in the transcriptional pore. *PLoS One*, 8, e61101.
- AKINCI, A., TEZIC, T., GUR, I., CETIN, H. & HATUN, S. 1991. Rotavirus diarrhea in newborn infants. *Turk J Pediatr*, 33, 153-7.
- ALAM, N. H., ISLAM, S., SATTAR, S., MONIRA, S. & DESJEUX, J. F. 2009. Safety of rapid intravenous rehydration and comparative efficacy of 3 oral rehydration solutions in the treatment of severely malnourished children with dehydrating cholera. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 48, 318-27.
- ALLISON, G. M., ROGERS, K. A., BORAD, A., AHMED, S., KARIM, M. M., KANE, A. V., HIBBERD, P. L., NAUMOVA, E. N., CALDERWOOD, S. B., RYAN, E. T., KHAN, W. A. & WARD, H. D. 2011. Antibody responses to the immunodominant *Cryptosporidium* gp15 antigen and gp15 polymorphisms in a case-control study of cryptosporidiosis in children in Bangladesh. *Am J Trop Med Hyg*, 85, 97-104.
- ANSALDI, F., LAI, P., VALLE, L., RIENTE, R., DURANDO, P., STICCHI, L., TUCCI, P., BIASCI, P., CROVARI, P., GASPARINI, R. & ICARDI, G. 2008. Burden of rotavirus-associated and non-rotavirus-associated diarrhea among nonhospitalized individuals in central Italy: a 1-year sentinel-based epidemiological and virological surveillance. *Clin Infect Dis*, 46, e51-5.
- AOKI, S. T., SETTEMBRE, E. C., TRASK, S. D., GREENBERG, H. B., HARRISON, S. C. & DORMITZER, P. R. 2009. Structure of rotavirus outer-layer protein VP7 bound with a neutralizing Fab. *Science*, 324, 1444-7.
- ARIAS, C. F., ROMERO, P., ALVAREZ, V. & LOPEZ, S. 1996. Trypsin activation pathway of rotavirus infectivity. *J Virol*, 70, 5832-9.
- ARISTA, S., VIZZI, E., ALAIMO, C., PALERMO, D. & CASCIO, A. 1999. Identification of human rotavirus strains with the P[14] genotype by PCR. *J Clin Microbiol*, 37, 2706-8.
- ARMAH, G. E., PAGER, C. T., ASMAH, R. H., ANTO, F. R., ODURO, A. R., BINKA, F. & STEELE, D. 2001. Prevalence of unusual human rotavirus strains in Ghanaian children. *J Med Virol*, 63, 67-71.
- ARMAH, G. E., SOW, S. O., BREIMAN, R. F., DALLAS, M. J., TAPIA, M. D., FEIKIN, D. R., BINKA, F. N., STEELE, A. D., LASERSON, K. F., ANSAH, N. A., LEVINE, M. M., LEWIS, K., COIA, M. L., ATTAH-POKU, M., OJWANDO, J., RIVERS, S. B., VICTOR, J. C., NYAMBANE, G., HODGSON, A., SCHODEL, F., CIARLET, M. & NEUZIL, K. M. 2010. Efficacy of pentavalent rotavirus vaccine against severe rotavirus gastroenteritis in infants in developing countries in sub-Saharan Africa: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*, 376, 606-14.
- ARNOLD, M. M., BARRO, M. & PATTON, J. T. 2013a. Rotavirus NSP1 mediates degradation of interferon regulatory factors through targeting of the dimerization domain. *J Virol*, 87, 9813-21.

- ARNOLD, M. M. & PATTON, J. T. 2011. Diversity of interferon antagonist activities mediated by NSP1 proteins of different rotavirus strains. *J Virol*, 85, 1970-9.
- ARNOLD, M. M., SEN, A., GREENBERG, H. B. & PATTON, J. T. 2013b. The battle between rotavirus and its host for control of the interferon signaling pathway. *PLoS Pathog*, 9, e1003064.
- ARNOLDI, F., CAMPAGNA, M., EICHWALD, C., DESSELBERGER, U. & BURRONE, O. R. 2007. Interaction of rotavirus polymerase VP1 with nonstructural protein NSP5 is stronger than that with NSP2. *J Virol*, 81, 2128-37.
- AU, K. S., MATTION, N. M. & ESTES, M. K. 1993. A subviral particle binding domain on the rotavirus nonstructural glycoprotein NS28. *Virology*, 194, 665-73.
- BALL, J. M., MITCHELL, D. M., GIBBONS, T. F. & PARR, R. D. 2005. Rotavirus NSP4: a multifunctional viral enterotoxin. *Viral Immunol*, 18, 27-40.
- BALL, J. M., TIAN, P., ZENG, C. Q., MORRIS, A. P. & ESTES, M. K. 1996. Age-dependent diarrhea induced by a rotaviral nonstructural glycoprotein. *Science*, 272, 101-4.
- BANDIN, F., KWON, T., LINAS, M. D., GUIGONIS, V., VALENTIN, A., CASSAING, S., CAROL, A., GARNIER, A., BAUDOUIN, V. & DECRAMER, S. 2009. Cryptosporidiosis in paediatric renal transplantation. *Pediatr Nephrol*, 24, 2245-55.
- BANYAI, K., ESTES, M. K., MARTELLA, V. & PARASHAR, U. D. 2018. Viral gastroenteritis. *Lancet*, 392, 175-186.
- BANYAI, K., KEMENESI, G., BUDINSKI, I., FOLDES, F., ZANA, B., MARTON, S., VARGA-KUGLER, R., OLDAL, M., KURUCZ, K. & JAKAB, F. 2017. Candidate new rotavirus species in Schreiber's bats, Serbia. *Infect Genet Evol*, 48, 19-26.
- BARDHAN, P. K., SALAM, M. A. & MOLLA, A. M. 1992. Gastric emptying of liquid in children suffering from acute rotaviral gastroenteritis. *Gut*, 33, 26-9.
- BARNES, G. L., BISHOP, R. F. & TOWNLEY, R. R. 1974. Microbial flora and disaccharidase depression in infantile gastroenteritis. *Acta Paediatr Scand*, 63, 423-6.
- BEARDS, G. M., DESSELBERGER, U. & FLEWETT, T. H. 1989. Temporal and geographical distributions of human rotavirus serotypes, 1983 to 1988. *J Clin Microbiol*, 27, 2827-33.
- BELL, M. J., TERNBERG, J. L., FEIGIN, R. D., KEATING, J. P., MARSHALL, R., BARTON, L. & BROTHERTON, T. 1978. Neonatal necrotizing enterocolitis. Therapeutic decisions based upon clinical staging. *Ann Surg*, 187, 1-7.
- BELLEMARE, S., HARTLING, L., WIEBE, N., RUSSELL, K., CRAIG, W. R., MCCONNELL, D. & KLASSEN, T. P. 2004. Oral rehydration versus intravenous therapy for treating dehydration due to gastroenteritis in children: a meta-analysis of randomised controlled trials. *BMC Med*, 2, 11.
- BERKOVA, Z., CRAWFORD, S. E., BLUTT, S. E., MORRIS, A. P. & ESTES, M. K. 2007. Expression of rotavirus NSP4 alters the actin network organization through the actin remodeling protein cofilin. *J Virol*, 81, 3545-53.
- BERNER, R., SCHUMACHER, R. F., HAMEISTER, S. & FORSTER, J. 1999. Occurrence and impact of community-acquired and nosocomial rotavirus infections--a hospital-based study over 10 y. *Acta Paediatr Suppl*, 88, 48-52.
- BERNSTEIN, D. I., SANDER, D. S., SMITH, V. E., SCHIFF, G. M. & WARD, R. L. 1991. Protection from rotavirus reinfection: 2-year prospective study. *J Infect Dis*, 164, 277-83.
- BERNSTEIN, D. I., SMITH, V. E., SHERWOOD, J. R., SCHIFF, G. M., SANDER, D. S., DEFEUDIS, D., SPRIGGS, D. R. & WARD, R. L. 1998. Safety and immunogenicity of live, attenuated human rotavirus vaccine 89-12. *Vaccine*, 16, 381-7.
- BHAN, M. K., LEW, J. F., SAZAWAL, S., DAS, B. K., GENTSCH, J. R. & GLASS, R. I. 1993. Protection conferred by neonatal rotavirus infection against subsequent rotavirus diarrhea. *J Infect Dis*, 168, 282-7.

- BISHOP, R. F., BARNES, G. L., CIPRIANI, E. & LUND, J. S. 1983. Clinical immunity after neonatal rotavirus infection. A prospective longitudinal study in young children. *N Engl J Med*, 309, 72-6.
- BISHOP, R. F., DAVIDSON, G. P., HOLMES, I. H. & RUCK, B. J. 1973. Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute non-bacterial gastroenteritis. *Lancet*, 2, 1281-3.
- BISHOP, R. F., DAVIDSON, G. P., HOLMES, I. H. & RUCK, B. J. 1974. Detection of a new virus by electron microscopy of faecal extracts from children with acute gastroenteritis. *Lancet*, 1, 149-51.
- BISHOP, R. F., MASENDYCZ, P. J., BUGG, H. C., CARLIN, J. B. & BARNES, G. L. 2001. Epidemiological patterns of rotaviruses causing severe gastroenteritis in young children throughout Australia from 1993 to 1996. *J Clin Microbiol*, 39, 1085-91.
- BISHOP, R. F., UNICOMB, L. E. & BARNES, G. L. 1991. Epidemiology of rotavirus serotypes in Melbourne, Australia, from 1973 to 1989. *J Clin Microbiol*, 29, 862-8.
- BLACK, R. E., GREENBERG, H. B., KAPIKIAN, A. Z., BROWN, K. H. & BECKER, S. 1982. Acquisition of serum antibody to Norwalk Virus and rotavirus and relation to diarrhea in a longitudinal study of young children in rural Bangladesh. *J Infect Dis*, 145, 483-9.
- BLACKHALL, J., FUENTES, A. & MAGNUSSON, G. 1996. Genetic stability of a porcine rotavirus RNA segment during repeated plaque isolation. *Virology*, 225, 181-90.
- BLUTT, S. E., KIRKWOOD, C. D., PARRENO, V., WARFIELD, K. L., CIARLET, M., ESTES, M. K., BOK, K., BISHOP, R. F. & CONNER, M. E. 2003. Rotavirus antigenaemia and viraemia: a common event? *Lancet*, 362, 1445-9.
- BOK, K. & GREEN, K. Y. 2012. Norovirus gastroenteritis in immunocompromised patients. *N Engl J Med*, 367, 2126-32.
- BURNETT, E., JONESTELLER, C. L., TATE, J. E., YEN, C. & PARASHAR, U. D. 2017. Global Impact of Rotavirus Vaccination on Childhood Hospitalizations and Mortality From Diarrhea. *J Infect Dis*, 215, 1666-1672.
- BURNETT, E., PARASHAR, U. & TATE, J. 2018. Rotavirus Vaccines: Effectiveness, Safety, and Future Directions. *Paediatr Drugs*, 20, 223-233.
- BUTLER, T. 2008. Loperamide for the treatment of traveler's diarrhea: broad or narrow usefulness? *Clin Infect Dis*, 47, 1015-6.
- CAMPAGNA, M., EICHWALD, C., VASCOTTO, F. & BURRONE, O. R. 2005. RNA interference of rotavirus segment 11 mRNA reveals the essential role of NSP5 in the virus replicative cycle. *J Gen Virol*, 86, 1481-7.
- CHAN, C. M., CHAN, C. W., MA, C. K. & CHAN, H. B. 2011a. Norovirus as cause of benign convulsion associated with gastro-enteritis. *J Paediatr Child Health*, 47, 373-7.
- CHAN, J., NIRWATI, H., TRIASIH, R., BOGDANOVIC-SAKRAN, N., SOENARTO, Y., HAKIMI, M., DUKE, T., BUTTERY, J. P., BINES, J. E., BISHOP, R. F., KIRKWOOD, C. D. & DANCHIN, M. D. 2011b. Maternal antibodies to rotavirus: could they interfere with live rotavirus vaccines in developing countries? *Vaccine*, 29, 1242-7.
- CHISTI, M. J., PIETRONI, M. A., SMITH, J. H., BARDHAN, P. K. & SALAM, M. A. 2011. Predictors of death in under-five children with diarrhoea admitted to a critical care ward in an urban hospital in Bangladesh. *Acta Paediatr*, 100, e275-9.
- CHUNG, K. T. & MCCRAE, M. A. 2011. Regulation of gene expression by the NSP1 and NSP3 non-structural proteins of rotavirus. *Arch Virol*, 156, 2197-203.
- CHURGAY, C. A. & AFTAB, Z. 2012. Gastroenteritis in children: Part 1. Diagnosis. *Am Fam Physician*, 85, 1059-62.
- CLARK, H. F., BORIAN, F. E. & PLOTKIN, S. A. 1990. Immune protection of infants against rotavirus gastroenteritis by a serotype 1 reassortant of bovine rotavirus WC3. *J Infect Dis*, 161, 1099-104.

- CLARK, H. F. & OFFIT, P. A. 2004. Vaccines for rotavirus gastroenteritis universally needed for infants. *Pediatr Ann*, 33, 536-43.
- CLARK, H. F., OFFIT, P. A., ELLIS, R. W., EIDEN, J. J., KRAH, D., SHAW, A. R., PICHICHERO, M., TREANOR, J. J., BORIAN, F. E., BELL, L. M. & PLOTKIN, S. A. 1996. The development of multivalent bovine rotavirus (strain WC3) reassortant vaccine for infants. *J Infect Dis*, 174 Suppl 1, S73-80.
- CLEMENS, J., RAO, M., AHMED, F., WARD, R., HUDA, S., CHAKRABORTY, J., YUNUS, M., KHAN, M. R., ALI, M., KAY, B. & ET AL. 1993. Breast-feeding and the risk of life-threatening rotavirus diarrhea: prevention or postponement? *Pediatrics*, 92, 680-5.
- CLEMENS, J. D., WARD, R. L., RAO, M. R., SACK, D. A., KNOWLTON, D. R., VAN LOON, F. P., HUDA, S., MCNEAL, M., AHMED, F. & SCHIFF, G. 1992. Seroepidemiologic evaluation of antibodies to rotavirus as correlates of the risk of clinically significant rotavirus diarrhea in rural Bangladesh. *J Infect Dis*, 165, 161-5.
- COFFIN, S. E., ELSE, J., MARCHANT, C., SAWYER, M., POLLARA, B., FAYORSEY, R., NELSON, L., LAWLEY, D., GOVEIA, M., STEK, J., HILLE, D. & DINUBILE, M. J. 2006. Impact of acute rotavirus gastroenteritis on pediatric outpatient practices in the United States. *Pediatr Infect Dis J*, 25, 584-9.
- COLOMINA, J., GIL, M. T., CODONER, P. & BUESA, J. 1998. Viral proteins VP2, VP6, and NSP2 are strongly precipitated by serum and fecal antibodies from children with rotavirus symptomatic infection. *J Med Virol*, 56, 58-65.
- DAS, S., VARGHESE, V., CHAUDHURY, S., BARMAN, P., MAHAPATRA, S., KOJIMA, K., BHATTACHARYA, S. K., KRISHNAN, T., RATHO, R. K., CHHOTRAY, G. P., PHUKAN, A. C., KOBAYASHI, N. & NAIK, T. N. 2003. Emergence of novel human group A rotavirus G12 strains in India. *J Clin Microbiol*, 41, 2760-2.
- DAVIDSON, G. P. & BARNES, G. L. 1979. Structural and functional abnormalities of the small intestine in infants and young children with rotavirus enteritis. *Acta Paediatr Scand*, 68, 181-6.
- DAVIDSON, G. P., BISHOP, R. F., TOWNLEY, R. R. & HOLMES, I. H. 1975. Importance of a new virus in acute sporadic enteritis in children. *Lancet*, 1, 242-6.
- DAY, T. G., JACKSON, C. & BRYANT, P. A. 2012. Cluster of neurological manifestations of rotavirus infection in children. *BMJ Case Rep*, 2012.
- DE ROUGEMONT, A., KAPLON, J., BILLAUD, G., LINA, B., PINCHINAT, S., DERROUGH, T., CAULIN, E., POTHIER, P. & FLORET, D. 2009. [Sensitivity and specificity of the VIKIA Rota-Adeno immuno-chromatographic test (bioMerieux) and the ELISA IDEIA Rotavirus kit (Dako) compared to genotyping]. *Pathol Biol (Paris)*, 57, 86-9.
- DELMAS, O., GARDET, A., CHWETZOFF, S., BRETON, M., COHEN, J., COLARD, O., SAPIN, C. & TRUGNAN, G. 2004. Different ways to reach the top of a cell. Analysis of rotavirus assembly and targeting in human intestinal cells reveals an original raft-dependent, Golgi-independent apical targeting pathway. *Virology*, 327, 157-61.
- DENNEHY, P. H. 2000. Transmission of rotavirus and other enteric pathogens in the home. *Pediatr Infect Dis J*, 19, S103-5.
- DENNEHY, P. H. 2005. Acute diarrheal disease in children: epidemiology, prevention, and treatment. *Infect Dis Clin North Am*, 19, 585-602.
- DENNEHY, P. H. 2011. Viral gastroenteritis in children. *Pediatr Infect Dis J*, 30, 63-4.
- DENNEHY, P. H., CORTESE, M. M., BEGUE, R. E., JAEGER, J. L., ROBERTS, N. E., ZHANG, R., RHODES, P., GENTSCH, J., WARD, R., BERNSTEIN, D. I., VITEK, C., BRESEE, J. S. & STAAT, M. A. 2006. A case-control study to determine risk factors for hospitalization for rotavirus gastroenteritis in U.S. children. *Pediatr Infect Dis J*, 25, 1123-31.
- DESSELBERGER, U. 1996. Genome rearrangements of rotaviruses. *Arch Virol Suppl*, 12, 37-51.
- DESSELBERGER, U. & HUPPERTZ, H. I. 2011. Immune responses to rotavirus infection and vaccination and associated correlates of protection. *J Infect Dis*, 203, 188-95.

- DICKMAN, K. G., HEMPSON, S. J., ANDERSON, J., LIPPE, S., ZHAO, L., BURAKOFF, R. & SHAW, R. D. 2000. Rotavirus alters paracellular permeability and energy metabolism in Caco-2 cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 279, G757-66.
- DJURETIC, T., RAMSAY, M., GAY, N., WALL, P., RYAN, M. & FLEMING, D. 1999. An estimate of the proportion of diarrhoeal disease episodes seen by general practitioners attributable to rotavirus in children under 5 y of age in England and Wales. *Acta Paediatr Suppl*, 88, 38-41.
- DORMITZER, P. R., SUN, Z. Y., WAGNER, G. & HARRISON, S. C. 2002. The rhesus rotavirus VP4 sialic acid binding domain has a galectin fold with a novel carbohydrate binding site. *EMBO J*, 21, 885-97.
- DUNN, S. J., GREENBERG, H. B., WARD, R. L., NAKAGOMI, O., BURNS, J. W., VO, P. T., PAX, K. A., DAS, M., GOWDA, K. & RAO, C. D. 1993. Serotypic and genotypic characterization of human serotype 10 rotaviruses from asymptomatic neonates. *J Clin Microbiol*, 31, 165-9.
- EDMONSON, L. M., EBBERT, J. O. & EVANS, J. M. 2000. Report of a rotavirus outbreak in an adult nursing home population. *J Am Med Dir Assoc*, 1, 175-9.
- ENOUF, V., LANGELLA, P., COMMISSAIRE, J., COHEN, J. & CORTHIER, G. 2001. Bovine rotavirus nonstructural protein 4 produced by *Lactococcus lactis* is antigenic and immunogenic. *Appl Environ Microbiol*, 67, 1423-8.
- ESQUIVEL, F. R., LOPEZ, S., GUITIERREZ, X. L. & ARIAS, C. 2000. The internal rotavirus protein VP6 primes for an enhanced neutralizing antibody response. *Arch Virol*, 145, 813-25.
- ESTES, M. K., CRAWFORD, S. E., PENARANDA, M. E., PETRIE, B. L., BURNS, J. W., CHAN, W. K., ERICSON, B., SMITH, G. E. & SUMMERS, M. D. 1987. Synthesis and immunogenicity of the rotavirus major capsid antigen using a baculovirus expression system. *J Virol*, 61, 1488-94.
- ESTES, M. K. & DESSELBERGER, U. 2012. Rotaviruses: cause of vaccine-preventable disease yet many fundamental questions remain to be explored. *Curr Opin Virol*, 2, 369-72.
- ESTES, M. K., GRAHAM, D. Y., SMITH, E. M. & GERBA, C. P. 1979. Rotavirus stability and inactivation. *J Gen Virol*, 43, 403-9.
- FENG, N., LAWTON, J. A., GILBERT, J., KUKLIN, N., VO, P., PRASAD, B. V. & GREENBERG, H. B. 2002. Inhibition of rotavirus replication by a non-neutralizing, rotavirus VP6-specific IgA mAb. *J Clin Invest*, 109, 1203-13.
- FERRIS, A. A. 1965. The epidemiology of infective diarrhoea. *Aust J. Sci*, 28, 187-92.
- FISCHER, T. K., ASHLEY, D., KERIN, T., REYNOLDS-HEDMANN, E., GENTSCH, J., WIDDOWSON, M. A., WESTERMAN, L., PUHR, N., TURCIOS, R. M. & GLASS, R. I. 2005. Rotavirus antigenemia in patients with acute gastroenteritis. *J Infect Dis*, 192, 913-9.
- FISCHER, T. K. & GENTSCH, J. R. 2004. Rotavirus typing methods and algorithms. *Rev Med Virol*, 14, 71-82.
- FISCHER, T. K., STEINSLAND, H., MOLBAK, K., CA, R., GENTSCH, J. R., VALENTINER-BRANTH, P., AABY, P. & SOMMERFELT, H. 2000. Genotype profiles of rotavirus strains from children in a suburban community in Guinea-Bissau, Western Africa. *J Clin Microbiol*, 38, 264-7.
- FISCHER, T. K., VALENTINER-BRANTH, P., STEINSLAND, H., PERCH, M., SANTOS, G., AABY, P., MOLBAK, K. & SOMMERFELT, H. 2002. Protective immunity after natural rotavirus infection: a community cohort study of newborn children in Guinea-Bissau, west Africa. *J Infect Dis*, 186, 593-7.
- FONSECA, B. K., HOLDGATE, A. & CRAIG, J. C. 2004. Enteral vs intravenous rehydration therapy for children with gastroenteritis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 158, 483-90.
- FORD-JONES, E. L., WANG, E., PETRIC, M., COREY, P., MOINEDDIN, R. & FEARON, M. 2000. Rotavirus-associated diarrhea in outpatient settings and child care centers. The

- Greater Toronto Area/Peel Region PRESI Study Group. Pediatric Rotavirus Epidemiology Study for Immunization. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 154, 586-93.
- FRAGOSO, M., KUMAR, A. & MURRAY, D. L. 1986. Rotavirus in nasopharyngeal secretions of children with upper respiratory tract infections. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 4, 87-8.
- FRANCO, M. A., ANGEL, J. & GREENBERG, H. B. 2006. Immunity and correlates of protection for rotavirus vaccines. *Vaccine*, 24, 2718-31.
- FREEDMAN, S. B., ELTORKY, M. & GORELICK, M. 2010. Evaluation of a gastroenteritis severity score for use in outpatient settings. *Pediatrics*, 125, e1278-85.
- FRIEDMAN, J. N., GOLDMAN, R. D., SRIVASTAVA, R. & PARKIN, P. C. 2004. Development of a clinical dehydration scale for use in children between 1 and 36 months of age. *J Pediatr*, 145, 201-7.
- FRIESEMA, I. H., DE BOER, R. F., DUIZER, E., KORTBEEK, L. M., NOTERMANS, D. W., NORBRUIS, O. F., BEZEMER, D. D., VAN HEERBEEK, H., VAN ANDEL, R. N., VAN ENK, J. G., FRAAIJ, P. L., KOOPMANS, M. P., KOOISTRA-SMID, A. M. & VAN DUYNHOVEN, Y. T. 2012. Etiology of acute gastroenteritis in children requiring hospitalization in the Netherlands. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 31, 405-15.
- FRUHWIRTH, M., HEININGER, U., EHLKEN, B., PETERSEN, G., LAUBEREAU, B., MOLL-SCHULER, I., MUTZ, I. & FORSTER, J. 2001. International variation in disease burden of rotavirus gastroenteritis in children with community- and nosocomially acquired infection. *Pediatr Infect Dis J*, 20, 784-91.
- GAIRDNER, P. 1945. Infantile diarrhoea: An Analysis of 216 Cases with Special Reference to Institutional Outbreaks. *Arch Dis Child*, 20, 22-7.
- GARCIA-BASTEIRO, A. L., BOSCH, A., SICURI, E., BAYAS, J. M., TRILLA, A. & HAYES, E. B. 2011. Hospitalizations due to rotavirus gastroenteritis in Catalonia, Spain, 2003-2008. *BMC Res Notes*, 4, 429.
- GE, Y., MANSELL, A., USSHER, J. E., BROOKS, A. E., MANNING, K., WANG, C. J. & TAYLOR, J. A. 2013. Rotavirus NSP4 Triggers Secretion of Proinflammatory Cytokines from Macrophages via Toll-Like Receptor 2. *J Virol*, 87, 11160-7.
- GELLERT, G. A., WATERMAN, S. H., EWERT, D., OSHIRO, L., GILES, M. P., MONROE, S. S., GORELKIN, L. & GLASS, R. I. 1990. An outbreak of acute gastroenteritis caused by a small round structured virus in a geriatric convalescent facility. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 11, 459-64.
- GENTSCH, J. R., HULL, J. J., TEEL, E. N., KERIN, T. K., FREEMAN, M. M., ESONA, M. D., GRIFFIN, D. D., BIELFELT-KRALL, B. P., BANYAI, K., JIANG, B., CORTESE, M. M., GLASS, R. I. & PARASHAR, U. D. 2009. G and P types of circulating rotavirus strains in the United States during 1996-2005: nine years of prevaccine data. *J Infect Dis*, 200 Suppl 1, S99-S105.
- GILGER, M. A., MATSON, D. O., CONNER, M. E., ROSENBLATT, H. M., FINEGOLD, M. J. & ESTES, M. K. 1992. Extraintestinal rotavirus infections in children with immunodeficiency. *J Pediatr*, 120, 912-7.
- GLASS, R. I. 2006. New hope for defeating rotavirus. *Sci Am*, 294, 46-51, 54-5.
- GLASS, R. I., BRESEE, J., JIANG, B., GENTSCH, J., ANDO, T., FANKHAUSER, R., NOEL, J., PARASHAR, U., ROSEN, B. & MONROE, S. S. 2001. Gastroenteritis viruses: an overview. *Novartis Found Symp*, 238, 5-19; discussion 19-25.
- GLASS, R. I., BRESEE, J. S., PARASHAR, U., TURCIOS, R., FISCHER, T. K., JIANG, B., WIDDOWSON, M. A. & GENTSCH, J. 2005. Rotavirus vaccines: past, present, and future. *Arch Pediatr*, 12, 844-7.
- GLASS, R. I., BRESEE, J. S., PARASHAR, U. D., HOLMAN, R. C. & GENTSCH, J. R. 1999. First rotavirus vaccine licensed: is there really a need? *Acta Paediatr Suppl*, 88, 2-8.

- GLASS, R. I., KILGORE, P. E., HOLMAN, R. C., JIN, S., SMITH, J. C., WOODS, P. A., CLARKE, M. J., HO, M. S. & GENTSCH, J. R. 1996. The epidemiology of rotavirus diarrhea in the United States: surveillance and estimates of disease burden. *J Infect Dis*, 174 Suppl 1, S5-11.
- GLEIZES, O., DESSELBERGER, U., TATOCHENKO, V., RODRIGO, C., SALMAN, N., MEZNER, Z., GIAQUINTO, C. & GRIMPREL, E. 2006. Nosocomial rotavirus infection in European countries: a review of the epidemiology, severity and economic burden of hospital-acquired rotavirus disease. *Pediatr Infect Dis J*, 25, S12-21.
- GOLDMAN, R. D., FRIEDMAN, J. N. & PARKIN, P. C. 2008. Validation of the clinical dehydration scale for children with acute gastroenteritis. *Pediatrics*, 122, 545-9.
- GONZALEZ, A. M., JAIMES, M. C., CAJIAO, I., ROJAS, O. L., COHEN, J., POTHIER, P., KOHLI, E., BUTCHER, E. C., GREENBERG, H. B., ANGEL, J. & FRANCO, M. A. 2003. Rotavirus-specific B cells induced by recent infection in adults and children predominantly express the intestinal homing receptor alpha4beta7. *Virology*, 305, 93-105.
- GORRELL, R. J. & BISHOP, R. F. 1999. Homotypic and heterotypic serum neutralizing antibody response to rotavirus proteins following natural primary infection and reinfection in children. *J Med Virol*, 57, 204-11.
- GOUVEA, V. & BRANTLY, M. 1995. Is rotavirus a population of reassortants? *Trends Microbiol*, 3, 159-62.
- GRAFF, J. W., ETTAYEBI, K. & HARDY, M. E. 2009. Rotavirus NSP1 inhibits NFkappaB activation by inducing proteasome-dependent degradation of beta-TrCP: a novel mechanism of IFN antagonism. *PLoS Pathog*, 5, e1000280.
- GREENBERG, H. B. & ESTES, M. K. 2009. Rotaviruses: from pathogenesis to vaccination. *Gastroenterology*, 136, 1939-51.
- GREGORIO, G. V., GONZALES, M. L., DANS, L. F. & MARTINEZ, E. G. 2009. Polymer-based oral rehydration solution for treating acute watery diarrhoea. *Cochrane Database Syst Rev*, CD006519.
- GRIMPREL, E., GARBARG-CHENON, A., PIRCON, J. Y., CURRAN, D., SORIANO-GABARRO, M. & MEYER, N. 2010. Surveillance to estimate the burden of rotavirus gastroenteritis in children aged less than 3 years attending day care centers in Paris, France. *Hum Vaccin*, 6, 399-406.
- GRIMWOOD, K., LUND, J. C., COULSON, B. S., HUDSON, I. L., BISHOP, R. F. & BARNES, G. L. 1988. Comparison of serum and mucosal antibody responses following severe acute rotavirus gastroenteritis in young children. *J Clin Microbiol*, 26, 732-8.
- GUARINO, A., ALBANO, F., ASHKENAZI, S., GENDREL, D., HOEKSTRA, J. H., SHAMIR, R. & SZAJEWSKA, H. 2008. European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/European Society for Paediatric Infectious Diseases evidence-based guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe: executive summary. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 46, 619-21.
- GUARINO, A., ASHKENAZI, S., GENDREL, D., LO VECCHIO, A., SHAMIR, R. & SZAJEWSKA, H. 2014. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/European Society for Pediatric Infectious Diseases evidence-based guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe: update 2014. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 59, 132-52.
- HAFFEJEE, I. E. 1991. Neonatal rotavirus infections. *Rev Infect Dis*, 13, 957-62.
- HAGBOM, M., ISTRATE, C., ENGBLOM, D., KARLSSON, T., RODRIGUEZ-DIAZ, J., BUESA, J., TAYLOR, J. A., LOITTO, V. M., MAGNUSSON, K. E., AHLMAN, H., LUNDGREN, O. & SVENSSON, L. 2011. Rotavirus stimulates release of serotonin (5-HT) from human enterochromaffin cells and activates brain structures involved in nausea and vomiting. *PLoS Pathog*, 7, e1002115.
- HAGBOM, M., SHARMA, S., LUNDGREN, O. & SVENSSON, L. 2012. Towards a human rotavirus disease model. *Curr Opin Virol*, 2, 408-18.

- HAHN, S., KIM, S. & GARNER, P. 2002. Reduced osmolarity oral rehydration solution for treating dehydration caused by acute diarrhoea in children. *Cochrane Database Syst Rev*, CD002847.
- HARRINGTON, M., BUTLER, K. & CAFFERKEY, M. 2003. Rotavirus infection in hospitalised children: incidence and impact on healthcare resources. *Ir J Med Sci*, 172, 33-6.
- HART, B. L. 1988. Biological basis of the behavior of sick animals. *Neurosci Biobehav Rev*, 12, 123-37.
- HASELHORST, T., FLEMING, F. E., DYASON, J. C., HARTNELL, R. D., YU, X., HOLLOWAY, G., SANTEGOETS, K., KIEFEL, M. J., BLANCHARD, H., COULSON, B. S. & VON ITZSTEIN, M. 2009. Sialic acid dependence in rotavirus host cell invasion. *Nat Chem Biol*, 5, 91-3.
- HENKE-GENDO, C., HARSTE, G., JUERGENS-SAATHOFF, B., MATTNER, F., DEPPE, H. & HEIM, A. 2009. New real-time PCR detects prolonged norovirus excretion in highly immunosuppressed patients and children. *J Clin Microbiol*, 47, 2855-62.
- HJELT, K. 1991. [Nosocomial virus infections in pediatric departments. Rotavirus and respiratory syncytial virus]. *Ugeskr Laeger*, 153, 2102-4.
- HJELT, K., GRAUBALLE, P. C., PAERREGAARD, A., NIELSEN, O. H. & KRASILNIKOFF, P. A. 1987. Protective effect of preexisting rotavirus-specific immunoglobulin A against naturally acquired rotavirus infection in children. *J Med Virol*, 21, 39-47.
- HORN, C. C. 2008. Why is the neurobiology of nausea and vomiting so important? *Appetite*, 50, 430-4.
- HSU, V. P., STAAT, M. A., ROBERTS, N., THIEMAN, C., BERNSTEIN, D. I., BRESEE, J., GLASS, R. I. & PARASHAR, U. D. 2005. Use of active surveillance to validate international classification of diseases code estimates of rotavirus hospitalizations in children. *Pediatrics*, 115, 78-82.
- HU, L., CRAWFORD, S. E., CZAKO, R., CORTES-PENFIELD, N. W., SMITH, D. F., LE PENDU, J., ESTES, M. K. & PRASAD, B. V. 2012a. Cell attachment protein VP8* of a human rotavirus specifically interacts with A-type histo-blood group antigen. *Nature*, 485, 256-9.
- HU, L., CRAWFORD, S. E., HYSER, J. M., ESTES, M. K. & PRASAD, B. V. 2012b. Rotavirus non-structural proteins: structure and function. *Curr Opin Virol*, 2, 380-8.
- ITURRIZA-GOMARA, M., GREEN, J., BROWN, D. W., DESSELBERGER, U. & GRAY, J. J. 2000a. Diversity within the VP4 gene of rotavirus P[8] strains: implications for reverse transcription-PCR genotyping. *J Clin Microbiol*, 38, 898-901.
- ITURRIZA-GOMARA, M., GREEN, J., BROWN, D. W., RAMSAY, M., DESSELBERGER, U. & GRAY, J. J. 2000b. Molecular epidemiology of human group A rotavirus infections in the United Kingdom between 1995 and 1998. *J Clin Microbiol*, 38, 4394-401.
- ITURRIZA-GOMARA, M., ISHERWOOD, B., DESSELBERGER, U. & GRAY, J. 2001. Reassortment in vivo: driving force for diversity of human rotavirus strains isolated in the United Kingdom between 1995 and 1999. *J Virol*, 75, 3696-705.
- JANSEN, A., STARK, K., KUNKEL, J., SCHREIER, E., IGNATIUS, R., LIESENFELD, O., WERBER, D., GOBEL, U. B., ZEITZ, M. & SCHNEIDER, T. 2008. Aetiology of community-acquired, acute gastroenteritis in hospitalised adults: a prospective cohort study. *BMC Infect Dis*, 8, 143.
- KAISER, P., BORTE, M., ZIMMER, K. P. & HUPPERTZ, H. I. 2012. Complications in hospitalized children with acute gastroenteritis caused by rotavirus: a retrospective analysis. *Eur J Pediatr*, 171, 337-45.
- KALJOT, K. T., SHAW, R. D., RUBIN, D. H. & GREENBERG, H. B. 1988. Infectious rotavirus enters cells by direct cell membrane penetration, not by endocytosis. *J Virol*, 62, 1136-44.
- KAPIKIAN, A. Z. 1993. Viral gastroenteritis. *JAMA*, 269, 627-30.
- KAPIKIAN, A. Z. & CHANOCK, R. M. 1996. Fields Virology. Philadelphia: Lippincott-Raven.
- KAPIKIAN, A. Z. & SHOPE, R. E. 1996. Rotaviruses, Reoviruses, Coltiviruses, and Orbiviruses.

- KAPIKIAN, A. Z., WYATT, R. G., DOLIN, R., THORNHILL, T. S., KALICA, A. R. & CHANOCK, R. M. 1972. Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J Virol*, 10, 1075-81.
- KAPIKIAN, A. Z., WYATT, R. G., LEVINE, M. M., YOLKEN, R. H., VANKIRK, D. H., DOLIN, R., GREENBERG, H. B. & CHANOCK, R. M. 1983. Oral administration of human rotavirus to volunteers: induction of illness and correlates of resistance. *J Infect Dis*, 147, 95-106.
- KAVANAGH, O. V., AJAMI, N. J., CHENG, E., CIARLET, M., GUERRERO, R. A., ZENG, C. Q., CRAWFORD, S. E. & ESTES, M. K. 2010. Rotavirus enterotoxin NSP4 has mucosal adjuvant properties. *Vaccine*, 28, 3106-11.
- KEIDAN, I., SHIF, I., KEREN, G. & PASSWELL, J. H. 1992. Rotavirus encephalopathy: evidence of central nervous system involvement during rotavirus infection. *Pediatr Infect Dis J*, 11, 773-5.
- KILGORE, P. E., HOLMAN, R. C., CLARKE, M. J. & GLASS, R. I. 1995. Trends of diarrheal disease-associated mortality in US children, 1968 through 1991. *JAMA*, 274, 1143-8.
- KIM, C. R., OH, J. W., YUM, M. K., LEE, J. H. & KANG, J. O. 2009. Rotavirus infection in neonates at a university hospital in Korea. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 30, 893-5.
- KING, C. K., GLASS, R., BRESEE, J. S. & DUGGAN, C. 2003. Managing acute gastroenteritis among children: oral rehydration, maintenance, and nutritional therapy. *MMWR Recomm Rep*, 52, 1-16.
- KIRKWOOD, C., BOGDANOVIC-SAKRAN, N., CLARK, R., MASENDYCH, P., BISHOP, R. & BARNES, G. 2002. Report of the Australian Rotavirus Surveillance Program, 2001/2002. *Commun Dis Intell Q Rep*, 26, 537-40.
- KLUGER, M. J. 1991. Fever: role of pyrogens and cryogens. *Physiol Rev*, 71, 93-127.
- KNIPE, D. M. & HOWLEY, P. M. 2013. *Fields Virology*, Lippincott Williams & Wilkins.
- KONSTANTOPOULOS, A., TRAGIANNIDIS, A., FOUZAS, S., KAVALIOTIS, I., TSIATSOU, O., MICHAILEDIOU, E., SPANAKI, A., MANTAGOS, S., KAFETZIS, D., PAPA-EVANGELOU, V., GOPALA, K. & HOLL, K. 2013. Burden of rotavirus gastroenteritis in children <5 years of age in Greece: hospital-based prospective surveillance (2008-2010). *BMJ Open*, 3, e003570.
- KOOPMANS, M. & BROWN, D. 1999. Seasonality and diversity of Group A rotaviruses in Europe. *Acta Paediatr Suppl*, 88, 14-9.
- KORDASTI, S., ISTRATE, C., BANASAZ, M., ROTTENBERG, M., SJOVALL, H., LUNDGREN, O. & SVENSSON, L. 2006. Rotavirus infection is not associated with small intestinal fluid secretion in the adult mouse. *J Virol*, 80, 11355-61.
- KORDASTI, S., SJOVALL, H., LUNDGREN, O. & SVENSSON, L. 2004. Serotonin and vasoactive intestinal peptide antagonists attenuate rotavirus diarrhoea. *Gut*, 53, 952-7.
- KOSEK, M., BERN, C. & GUERRANT, R. L. 2003. The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. *Bull World Health Organ*, 81, 197-204.
- KOSHIMURA, Y., NAKAGOMI, T. & NAKAGOMI, O. 2000. The relative frequencies of G serotypes of rotaviruses recovered from hospitalized children with diarrhea: A 10-year survey (1987-1996) in Japan with a review of globally collected data. *Microbiol Immunol*, 44, 499-510.
- KOTCH, J. B., ISBELL, P., WEBER, D. J., NGUYEN, V., SAVAGE, E., GUNN, E., SKINNER, M., FOWLKES, S., VIRK, J. & ALLEN, J. 2007. Hand-washing and diapering equipment reduces disease among children in out-of-home child care centers. *Pediatrics*, 120, e29-36.
- KOUKOU, D., GRIVEA, I., ROMA, E., TSIONI, H., TRIMIS, G., GALANAKIS, E., FARMAKI, E., IOSIFIDIS, E., MICHOS, A., SIAMOPOULOU-MAVRIDOU, A., KALMANTI, M., PAPADOPOULOU, H., ROILIDES, E., THEODORIDOU, M., SYROGIANNOPOULOS, G. A. &

- SYRIOPOULOU, V. 2011. Frequency, clinical characteristics, and genotype distribution of rotavirus gastroenteritis in Greece (2007-2008). *J Med Virol*, 83, 165-9.
- KOVACS-NOLAN, J., YOO, D. & MINE, Y. 2003. Fine mapping of sequential neutralization epitopes on the subunit protein VP8 of human rotavirus. *Biochem J*, 376, 269-75.
- LARRALDE, G., LI, B. G., KAPIKIAN, A. Z. & GORZIGLIA, M. 1991. Serotype-specific epitope(s) present on the VP8 subunit of rotavirus VP4 protein. *J Virol*, 65, 3213-8.
- LIGHT, J. S. & HODES, H. L. 1943. Studies on Epidemic Diarrhea of the New-born: Isolation of a Filtrable Agent Causing Diarrhea in Calves. *Am J Public Health Nations Health*, 33, 1451-4.
- LINHARES, A. C., MONCAO, H. C., GABBAY, Y. B., DE ARAUJO, V. L., SERRUYA, A. C. & LOUREIRO, E. C. 1983. Acute diarrhoea associated with rotavirus among children living in Belem, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 77, 384-90.
- LIU, M., MATTION, N. M. & ESTES, M. K. 1992. Rotavirus VP3 expressed in insect cells possesses guanylyltransferase activity. *Virology*, 188, 77-84.
- LOPEZ, S. & ARIAS, C. F. 2004. Multistep entry of rotavirus into cells: a Versaillesque dance. *Trends Microbiol*, 12, 271-8.
- LU, X., MCDONALD, S. M., TORTORICI, M. A., TAO, Y. J., VASQUEZ-DEL CARPIO, R., NIBERT, M. L., PATTON, J. T. & HARRISON, S. C. 2008. Mechanism for coordinated RNA packaging and genome replication by rotavirus polymerase VP1. *Structure*, 16, 1678-88.
- LUNDGREN, O., PEREGRIN, A. T., PERSSON, K., KORDASTI, S., UHNOO, I. & SVENSSON, L. 2000. Role of the enteric nervous system in the fluid and electrolyte secretion of rotavirus diarrhea. *Science*, 287, 491-5.
- LUNDGREN, O. & SVENSSON, L. 2001. Pathogenesis of rotavirus diarrhea. *Microbes Infect*, 3, 1145-56.
- MAILLE, L., BEBY-DEFAUX, A., BOURGOIN, A., KOULMANN, L., EUCHER, V., CARDONA, J., ORIOU, D. & AGIUS, G. 2000. [Nosocomial infections due to rotavirus and respiratory syncytial virus in pediatric wards: a 2-year study]. *Ann Biol Clin (Paris)*, 58, 601-6.
- MALHERBE, H. H. & STRICKLAND-CHOLMLEY, M. 1967. Simian virus SA11 and the related O agent. *Arch Gesamte Virusforsch*, 22, 235-45.
- MALIK, J., BHAN, M. K. & RAY, P. 2008. Natural immunity to rotavirus infection in children. *Indian J Biochem Biophys*, 45, 219-28.
- MANGER, M. S., TANEJA, S., STRAND, T. A., UELAND, P. M., REFSUM, H., SCHNEEDE, J., NYGARD, O., SOMMERFELT, H. & BHANDARI, N. 2011. Poor folate status predicts persistent diarrhea in 6- to 30-month-old north Indian children. *J Nutr*, 141, 2226-32.
- MATA, L., SIMHON, A., URRUTIA, J. J. & KRONMAL, R. A. 1983. Natural history of rotavirus infection in the children of Santa Maria Cauque. *Prog Food Nutr Sci*, 7, 167-77.
- MATTHIJNSSENS, J., CIARLET, M., HEIMAN, E., ARIJS, I., DELBEKE, T., MCDONALD, S. M., PALOMBO, E. A., ITURRIZA-GOMARA, M., MAES, P., PATTON, J. T., RAHMAN, M. & VAN RANST, M. 2008. Full genome-based classification of rotaviruses reveals a common origin between human Wa-Like and porcine rotavirus strains and human DS-1-like and bovine rotavirus strains. *J Virol*, 82, 3204-19.
- MATTHIJNSSENS, J., CIARLET, M., MCDONALD, S. M., ATTOUI, H., BANYAI, K., BRISTER, J. R., BUESA, J., ESONA, M. D., ESTES, M. K., GENTSCH, J. R., ITURRIZA-GOMARA, M., JOHNE, R., KIRKWOOD, C. D., MARTELLA, V., MERTENS, P. P., NAKAGOMI, O., PARRENO, V., RAHMAN, M., RUGGERI, F. M., SAIF, L. J., SANTOS, N., STEYER, A., TANIGUCHI, K., PATTON, J. T., DESSELBERGER, U. & VAN RANST, M. 2011. Uniformity of rotavirus strain nomenclature proposed by the Rotavirus Classification Working Group (RCWG). *Arch Virol*, 156, 1397-413.
- MATTHIJNSSENS, J., MINO, S., PAPP, H., POTGIETER, C., NOVO, L., HEYLEN, E., ZELLER, M., GARAICOECHEA, L., BADARACCO, A., LENGUEL, G., KISFALI, P., CULLINANE, A., COLLINS, P. J., CIARLET, M., O'SHEA, H., PARRENO, V., BANYAI, K., BARRANDEGUY, M.

- & VAN RANST, M. 2012a. Complete molecular genome analyses of equine rotavirus A strains from different continents reveal several novel genotypes and a largely conserved genotype constellation. *J Gen Virol*, 93, 866-75.
- MATTHIJNSSENS, J., OTTO, P. H., CIARLET, M., DESSELBERGER, U., VAN RANST, M. & JOHNE, R. 2012b. VP6-sequence-based cutoff values as a criterion for rotavirus species demarcation. *Arch Virol*, 157, 1177-82.
- MAUNULA, L. & VON BONSDORFF, C. H. 2002. Frequent reassortments may explain the genetic heterogeneity of rotaviruses: analysis of Finnish rotavirus strains. *J Virol*, 76, 11793-800.
- MCCLAIN, B., SETTEMBRE, E., TEMPLE, B. R., BELLAMY, A. R. & HARRISON, S. C. 2010. X-ray crystal structure of the rotavirus inner capsid particle at 3.8 Å resolution. *J Mol Biol*, 397, 587-99.
- MCLEAN, B. & HOLMES, I. H. 1980. Transfer of antirotaviral antibodies from mothers to their infants. *J Clin Microbiol*, 12, 320-5.
- MEBUS, C. A., UNDERDAHL, N. R., RHODES, M. B. & TWIEHAUS, M. J. 1969. Further studies on neonatal calf diarrhea virus. *Proc Annu Meet U S Anim Health Assoc*, 73, 97-9.
- MENG, Z. D., BIRCH, C., HEATH, R. & GUST, I. 1987. Physicochemical stability and inactivation of human and simian rotaviruses. *Appl Environ Microbiol*, 53, 727-30.
- MICHELANGELI, F., RUIZ, M. C., DEL CASTILLO, J. R., LUDERT, J. E. & LIPRANDI, F. 1991. Effect of rotavirus infection on intracellular calcium homeostasis in cultured cells. *Virology*, 181, 520-7.
- MOON, S. S., WANG, Y., SHANE, A. L., NGUYEN, T., RAY, P., DENNEHY, P., BAEK, L. J., PARASHAR, U., GLASS, R. I. & JIANG, B. 2010. Inhibitory effect of breast milk on infectivity of live oral rotavirus vaccines. *Pediatr Infect Dis J*, 29, 919-23.
- MOORE, S. R., LIMA, N. L., SOARES, A. M., ORIA, R. B., PINKERTON, R. C., BARRETT, L. J., GUERRANT, R. L. & LIMA, A. A. 2010. Prolonged episodes of acute diarrhea reduce growth and increase risk of persistent diarrhea in children. *Gastroenterology*, 139, 1156-64.
- MORALES, E., GARCIA-ESTEBAN, R., GUXENS, M., GUERRA, S., MENDEZ, M., MOLTO-PUIGMARTI, C., LOPEZ-SABATER, M. C. & SUNYER, J. 2012. Effects of prolonged breastfeeding and colostrum fatty acids on allergic manifestations and infections in infancy. *Clin Exp Allergy*, 42, 918-28.
- MORITA, Y., TANIGUCHI, K., URASAWA, T. & URASAWA, S. 1988. Analysis of serotype-specific neutralization epitopes on VP7 of human rotavirus by the use of neutralizing monoclonal antibodies and antigenic variants. *J Gen Virol*, 69 (Pt 2), 451-8.
- MORRIS, A. P., SCOTT, J. K., BALL, J. M., ZENG, C. Q., O'NEAL, W. K. & ESTES, M. K. 1999. NSP4 elicits age-dependent diarrhea and Ca(2+)-mediated I(-) influx into intestinal crypts of CF mice. *Am J Physiol*, 277, G431-44.
- MORROW, A. L., RUIZ-PALACIOS, G. M., JIANG, X. & NEWBURG, D. S. 2005. Human-milk glycans that inhibit pathogen binding protect breast-feeding infants against infectious diarrhea. *J Nutr*, 135, 1304-7.
- MOSSEL, E. C. & RAMIG, R. F. 2002. Rotavirus genome segment 7 (NSP3) is a determinant of extraintestinal spread in the neonatal mouse. *J Virol*, 76, 6502-9.
- MPHAHLELE, M. J. & STEELE, A. D. 1995. Relative frequency of human rotavirus VP4 (P) genotypes recovered over a ten-year period from South African children with diarrhea. *J Med Virol*, 47, 1-5.
- MURPHY, C., HAHN, S. & VOLMINK, J. 2004. Reduced osmolarity oral rehydration solution for treating cholera. *Cochrane Database Syst Rev*, CD003754.
- MUSHER, D. M. & MUSHER, B. L. 2004. Contagious acute gastrointestinal infections. *N Engl J Med*, 351, 2417-27.

- NAGER, A. L. & WANG, V. J. 2002. Comparison of nasogastric and intravenous methods of rehydration in pediatric patients with acute dehydration. *Pediatrics*, 109, 566-72.
- NAKAGOMI, T. & NAKAGOMI, O. 2005. Rotavirus antigenemia in children with encephalopathy accompanied by rotavirus gastroenteritis. *Arch Virol*, 150, 1927-31.
- NORDGREN, J., SHARMA, S., BUCARDO, F., NASIR, W., GUNAYDIN, G., OUERMI, D., NITIEMA, L. W., BECKER-DREPS, S., SIMPORE, J., HAMMARSTROM, L., LARSON, G. & SVENSSON, L. 2014. Both Lewis and secretor status mediate susceptibility to rotavirus infections in a rotavirus genotype-dependent manner. *Clin Infect Dis*, 59, 1567-73.
- O'MAHONY, J., FOLEY, B., MORGAN, S., MORGAN, J. G. & HILL, C. 1999. VP4 and VP7 genotyping of rotavirus samples recovered from infected children in Ireland over a 3-year period. *J Clin Microbiol*, 37, 1699-703.
- OCHOA, T. J., ECKER, L., BARLETTA, F., MISPIRETA, M. L., GIL, A. I., CONTRERAS, C., MOLINA, M., AMEMIYA, I., VERASTEGUI, H., HALL, E. R., CLEARY, T. G. & LANATA, C. F. 2009. Age-related susceptibility to infection with diarrheagenic *Escherichia coli* among infants from Periurban areas in Lima, Peru. *Clin Infect Dis*, 49, 1694-702.
- ODA, T., SEKI, S. & WATANABE, S. 1969. Molecular basis of structure and function of the microvillus membrane of intestinal epithelial cells. *Acta Med Okayama*, 23, 357-76.
- OFFIT, P. A. 2001. Correlates of protection against rotavirus infection and disease. *Novartis Found Symp*, 238, 106-13; discussion 114-24.
- OGILVIE, I., KHOURY, H., GOETGHEBEUR, M. M., EL KHOURY, A. C. & GIAQUINTO, C. 2012. Burden of community-acquired and nosocomial rotavirus gastroenteritis in the pediatric population of Western Europe: a scoping review. *BMC Infect Dis*, 12, 62.
- OSBORNE, M. P., HADDON, S. J., SPENCER, A. J., COLLINS, J., STARKEY, W. G., WALLIS, T. S., CLARKE, G. J., WORTON, K. J., CANDY, D. C. & STEPHEN, J. 1988. An electron microscopic investigation of time-related changes in the intestine of neonatal mice infected with murine rotavirus. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 7, 236-48.
- PADILLA-NORIEGA, L., FIORE, L., RENNELS, M. B., LOSONSKY, G. A., MACKOW, E. R. & GREENBERG, H. B. 1992. Humoral immune responses to VP4 and its cleavage products VP5* and VP8* in infants vaccinated with rhesus rotavirus. *J Clin Microbiol*, 30, 1392-7.
- PADILLA-NORIEGA, L., MENDEZ-TOSS, M., MENCHACA, G., CONTRERAS, J. F., ROMERO-GUIDO, P., PUERTO, F. I., GUISCAFRE, H., MOTA, F., HERRERA, I., CEDILLO, R., MUNOZ, O., CALVA, J., GUERRERO, M. L., COULSON, B. S., GREENBERG, H. B., LOPEZ, S. & ARIAS, C. F. 1998. Antigenic and genomic diversity of human rotavirus VP4 in two consecutive epidemic seasons in Mexico. *J Clin Microbiol*, 36, 1688-92.
- PARASHAR, U. D., ALEXANDER, J. P. & GLASS, R. I. 2006a. Prevention of rotavirus gastroenteritis among infants and children. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep*, 55, 1-13.
- PARASHAR, U. D., BRESEE, J. S., GENTSCH, J. R. & GLASS, R. I. 1998a. Rotavirus. *Emerg Infect Dis*, 4, 561-70.
- PARASHAR, U. D., GIBSON, C. J., BRESEE, J. S. & GLASS, R. I. 2006b. Rotavirus and severe childhood diarrhea. *Emerg Infect Dis*, 12, 304-6.
- PARASHAR, U. D., HOLMAN, R. C., CLARKE, M. J., BRESEE, J. S. & GLASS, R. I. 1998b. Hospitalizations associated with rotavirus diarrhea in the United States, 1993 through 1995: surveillance based on the new ICD-9-CM rotavirus-specific diagnostic code. *J Infect Dis*, 177, 13-7.
- PARASHAR, U. D., HUMMELMAN, E. G., BRESEE, J. S., MILLER, M. A. & GLASS, R. I. 2003. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis*, 9, 565-72.
- PATEL, M. M., LOPEZ-COLLADA, V. R., BULHOES, M. M., DE OLIVEIRA, L. H., BAUTISTA MARQUEZ, A., FLANNERY, B., ESPARZA-AGUILAR, M., MONTENEGRO RENOINER, E. I., LUNA-CRUZ, M. E., SATO, H. K., HERNANDEZ-HERNANDEZ LDEL, C., TOLEDO-CORTINA,

- G., CERON-RODRIGUEZ, M., OSNAYA-ROMERO, N., MARTINEZ-ALCAZAR, M., AGUINAGA-VILLASENOR, R. G., PLASCENCIA-HERNANDEZ, A., FOJACO-GONZALEZ, F., HERNANDEZ-PEREDO REZK, G., GUTIERREZ-RAMIREZ, S. F., DORAME-CASTILLO, R., TINAJERO-PIZANO, R., MERCADO-VILLEGAS, B., BARBOSA, M. R., MALUF, E. M., FERREIRA, L. B., DE CARVALHO, F. M., DOS SANTOS, A. R., CESAR, E. D., DE OLIVEIRA, M. E., SILVA, C. L., DE LOS ANGELES CORTES, M., RUIZ MATUS, C., TATE, J., GARGIULLO, P. & PARASHAR, U. D. 2011. Intussusception risk and health benefits of rotavirus vaccination in Mexico and Brazil. *N Engl J Med*, 364, 2283-92.
- PATHELA, P., ZAHID HASAN, K., ROY, E., HUQ, F., KASEM SIDDIQUE, A. & BRADLEY SACK, R. 2006. Diarrheal illness in a cohort of children 0-2 years of age in rural Bangladesh: I. Incidence and risk factors. *Acta Paediatr*, 95, 430-7.
- PAYNE, D. C., STAAT, M. A., EDWARDS, K. M., SZILAGYI, P. G., GENTSCH, J. R., STOCKMAN, L. J., CURNS, A. T., GRIFFIN, M., WEINBERG, G. A., HALL, C. B., FAIRBROTHER, G., ALEXANDER, J. & PARASHAR, U. D. 2008. Active, population-based surveillance for severe rotavirus gastroenteritis in children in the United States. *Pediatrics*, 122, 1235-43.
- PAYNE, D. C., VINJE, J., SZILAGYI, P. G., EDWARDS, K. M., STAAT, M. A., WEINBERG, G. A., HALL, C. B., CHAPPELL, J., BERNSTEIN, D. I., CURNS, A. T., WIKSWO, M., SHIRLEY, S. H., HALL, A. J., LOPMAN, B. & PARASHAR, U. D. 2013. Norovirus and medically attended gastroenteritis in U.S. children. *N Engl J Med*, 368, 1121-30.
- PESAVENTO, J. B., BILLINGSLEY, A. M., ROBERTS, E. J., RAMIG, R. F. & PRASAD, B. V. 2003. Structures of rotavirus reassortants demonstrate correlation of altered conformation of the VP4 spike and expression of unexpected VP4-associated phenotypes. *J Virol*, 77, 3291-6.
- PESAVENTO, J. B., LAWTON, J. A., ESTES, M. E. & VENKATARAM PRASAD, B. V. 2001. The reversible condensation and expansion of the rotavirus genome. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98, 1381-6.
- PLENGE-BONIG, A., SOTO-RAMIREZ, N., KARMAUS, W., PETERSEN, G., DAVIS, S. & FORSTER, J. 2010. Breastfeeding protects against acute gastroenteritis due to rotavirus in infants. *Eur J Pediatr*, 169, 1471-6.
- PONCET, D., APONTE, C. & COHEN, J. 1996. Structure and function of rotavirus nonstructural protein NSP3. *Arch Virol Suppl*, 12, 29-35.
- RAHMAN, M., DE LEENER, K., GOEGEBUER, T., WOLLANTS, E., VAN DER DONCK, I., VAN HOOVELS, L. & VAN RANST, M. 2003. Genetic characterization of a novel, naturally occurring recombinant human G6P[6] rotavirus. *J Clin Microbiol*, 41, 2088-95.
- RAHMAN, M., SULTANA, R., PODDER, G., FARUQUE, A. S., MATTHIJNSSENS, J., ZAMAN, K., BREIMAN, R. F., SACK, D. A., VAN RANST, M. & AZIM, T. 2005. Typing of human rotaviruses: nucleotide mismatches between the VP7 gene and primer are associated with genotyping failure. *Virol J*, 2, 24.
- RAMACHANDRAN, M., DAS, B. K., VIJ, A., KUMAR, R., BHAMBAL, S. S., KESARI, N., RAWAT, H., BAHL, L., THAKUR, S., WOODS, P. A., GLASS, R. I., BHAN, M. K. & GENTSCH, J. R. 1996. Unusual diversity of human rotavirus G and P genotypes in India. *J Clin Microbiol*, 34, 436-9.
- RAMANI, S., PAUL, A., SARAVANABAVAN, A., MENON, V. K., ARUMUGAM, R., SOWMYANARAYANAN, T. V., SAMUEL, P. & KANG, G. 2010. Rotavirus antigenemia in Indian children with rotavirus gastroenteritis and asymptomatic infections. *Clin Infect Dis*, 51, 1284-9.
- RAMIG, R. F. 1997. Genetics of the rotaviruses. *Annu Rev Microbiol*, 51, 225-55.
- RAMIG, R. F. 2004. Pathogenesis of intestinal and systemic rotavirus infection. *J Virol*, 78, 10213-20.

- RANDALL, R. E. & GOODBOURN, S. 2008. Interferons and viruses: an interplay between induction, signalling, antiviral responses and virus countermeasures. *J Gen Virol*, 89, 1-47.
- RATNER, A. J., NEU, N., JAKOB, K., GRUMET, S., ADACHI, N., DELLA-LATTA, P., MARVEL, E. & SAIMAN, L. 2001. Nosocomial rotavirus in a pediatric hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 22, 299-301.
- RICHARDSON, S. C., GRIMWOOD, K. & BISHOP, R. F. 1993. Analysis of homotypic and heterotypic serum immune responses to rotavirus proteins following primary rotavirus infection by using the radioimmunoprecipitation technique. *J Clin Microbiol*, 31, 377-85.
- RIMOLDI, S. G., STEFANI, F., PAGANI, C., CHENAL, L. L., ZANCHETTA, N., DI BARTOLO, I., LOMBARDI, A., RUGGERI, F. M., DI LILLO, D., ZUCCOTTI, G. V. & GISMONDO, M. R. 2011. Epidemiological and clinical characteristics of pediatric gastroenteritis associated with new viral agents. *Arch Virol*, 156, 1583-9.
- RIVERA, F. P., OCHOA, T. J., MAVES, R. C., BERNAL, M., MEDINA, A. M., MEZA, R., BARLETTA, F., MERCADO, E., ECKER, L., GIL, A. I., HALL, E. R., HUICHO, L. & LANATA, C. F. 2010. Genotypic and phenotypic characterization of enterotoxigenic Escherichia coli strains isolated from Peruvian children. *J Clin Microbiol*, 48, 3198-203.
- ROGERS, M., WEINSTOCK, D. M., EAGAN, J., KIEHN, T., ARMSTRONG, D. & SEPKOWITZ, K. A. 2000. Rotavirus outbreak on a pediatric oncology floor: possible association with toys. *Am J Infect Control*, 28, 378-80.
- ROTBART, H. A., LEVIN, M. J., YOLKEN, R. H., MANCHESTER, D. K. & JANTZEN, J. 1983. An outbreak of rotavirus-associated neonatal necrotizing enterocolitis. *J Pediatr*, 103, 454-9.
- RUGGERI, F. M. & GREENBERG, H. B. 1991. Antibodies to the trypsin cleavage peptide VP8 neutralize rotavirus by inhibiting binding of virions to target cells in culture. *J Virol*, 65, 2211-9.
- RUIZ-PALACIOS, G. M., PEREZ-SCHAEEL, I., VELAZQUEZ, F. R., ABATE, H., BREUER, T., CLEMENS, S. C., CHEUVART, B., ESPINOZA, F., GILLARD, P., INNIS, B. L., CERVANTES, Y., LINHARES, A. C., LOPEZ, P., MACIAS-PARRA, M., ORTEGA-BARRIA, E., RICHARDSON, V., RIVERA-MEDINA, D. M., RIVERA, L., SALINAS, B., PAVIA-RUZ, N., SALMERON, J., RUTTIMANN, R., TINOCO, J. C., RUBIO, P., NUNEZ, E., GUERRERO, M. L., YARZABAL, J. P., DAMASO, S., TORNIEPORTH, N., SAEZ-LLORENS, X., VERGARA, R. F., VESIKARI, T., BOUCKENOOGHE, A., CLEMENS, R., DE VOS, B. & O'RYAN, M. 2006. Safety and efficacy of an attenuated vaccine against severe rotavirus gastroenteritis. *N Engl J Med*, 354, 11-22.
- RUIZ, M. C., ABAD, M. J., CHARPILLENNE, A., COHEN, J. & MICHELANGELI, F. 1997. Cell lines susceptible to infection are permeabilized by cleaved and solubilized outer layer proteins of rotavirus. *J Gen Virol*, 78 (Pt 11), 2883-93.
- SALINAS, B., PEREZ SCHAEEL, I., LINHARES, A. C., RUIZ PALACIOS, G. M., GUERRERO, M. L., YARZABAL, J. P., CERVANTES, Y., COSTA CLEMENS, S., DAMASO, S., HARDT, K. & DE VOS, B. 2005. Evaluation of safety, immunogenicity and efficacy of an attenuated rotavirus vaccine, RIX4414: A randomized, placebo-controlled trial in Latin American infants. *Pediatr Infect Dis J*, 24, 807-16.
- SALMI, T. T., ARSTILA, P. & KOIVIKKO, A. 1978. Central nervous system involvement in patients with rotavirus gastroenteritis. *Scand J Infect Dis*, 10, 29-31.
- SANDHU, B. K. 2001. Practical guidelines for the management of gastroenteritis in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 33 Suppl 2, S36-9.
- SANDORA, T. J., TAVERAS, E. M., SHIH, M. C., RESNICK, E. A., LEE, G. M., ROSS-DEGNAN, D. & GOLDMANN, D. A. 2005. A randomized, controlled trial of a multifaceted intervention

- including alcohol-based hand sanitizer and hand-hygiene education to reduce illness transmission in the home. *Pediatrics*, 116, 587-94.
- SANTOS, N., VOLOTAO, E. M., SOARES, C. C., ALBUQUERQUE, M. C., DA SILVA, F. M., CHIZHIKOV, V. & HOSHINO, Y. 2003. VP7 gene polymorphism of serotype G9 rotavirus strains and its impact on G genotype determination by PCR. *Virus Res*, 93, 127-38.
- SCHNADOWER, D., TARR, P. I., GORELICK, M. H., O'CONNELL, K., ROSKIND, C. G., POWELL, E. C., RAO, J., BHATT, S. & FREEDMAN, S. B. 2013. Validation of the modified Vesikari score in children with gastroenteritis in 5 US emergency departments. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 57, 514-9.
- SEDERDAHL, B. K., YI, J., JERRIS, R. C., GILLESPIE, S. E., WESTBLADE, L. F., KRAFT, C. S., SHANE, A. L. & ANDERSON, E. J. 2018. Trends in rotavirus from 2001 to 2015 in two paediatric hospitals in Atlanta, Georgia. *Epidemiol Infect*, 146, 465-467.
- SERMET-GAUDELUS, I., DE LA ROCQUE, F., SALOMON, J. L., LACHASSINE, E., LERUEZ-VILLE, M., BAUJAT, G., TRIOCHE, P., VALDES, L., PAREZ, N. & AUJARD, Y. 2004. [Rotavirus nosocomial infection in pediatric units. A multicentric observation study]. *Pathol Biol (Paris)*, 52, 4-10.
- SETTEMBRE, E. C., CHEN, J. Z., DORMITZER, P. R., GRIGORIEFF, N. & HARRISON, S. C. 2011. Atomic model of an infectious rotavirus particle. *EMBO J*, 30, 408-16.
- SHAI, S., PEREZ-BECKER, R., VON KONIG, C. H., VON KRIES, R., HEININGER, U., FORSTER, J., HUPPERTZ, H. I., ROOS, R., GOBEL, U. & NIEHUES, T. 2013. Rotavirus disease in Germany--a prospective survey of very severe cases. *Pediatr Infect Dis J*, 32, e62-7.
- SHIM, J. O., SON, D. W., SHIM, S. Y., RYOO, E., KIM, W. & JUNG, Y. C. 2012. Clinical characteristics and genotypes of rotaviruses in a neonatal intensive care unit. *Pediatr Neonatol*, 53, 18-23.
- SHKALIM, V., AMIR, A., SAMRA, Z. & AMIR, J. 2012. Characteristics of non-typhi Salmonella gastroenteritis associated with bacteremia in infants and young children. *Infection*, 40, 285-9.
- SILVESTRI, L. S., TARAPOREWALA, Z. F. & PATTON, J. T. 2004. Rotavirus replication: plus-sense templates for double-stranded RNA synthesis are made in viroplasms. *J Virol*, 78, 7763-74.
- SOENARTO, Y., SEBODO, T., RIDHO, R., ALRASJID, H., ROHDE, J. E., BUGG, H. C., BARNES, G. L. & BISHOP, R. F. 1981. Acute diarrhea and rotavirus infection in newborn babies and children in Yogyakarta, Indonesia, from June 1978 to June 1979. *J Clin Microbiol*, 14, 123-9.
- SORIANO-GABARRO, M., MRUKOWICZ, J., VESIKARI, T. & VERSTRAETEN, T. 2006. Burden of rotavirus disease in European Union countries. *Pediatr Infect Dis J*, 25, S7-S11.
- STEINER, M. J., DEWALT, D. A. & BYERLEY, J. S. 2004. Is this child dehydrated? *JAMA*, 291, 2746-54.
- STRAND, T. A., SHARMA, P. R., GJESSING, H. K., ULAK, M., CHANDYO, R. K., ADHIKARI, R. K. & SOMMERFELT, H. 2012. Risk factors for extended duration of acute diarrhea in young children. *PLoS One*, 7, e36436.
- SUGATA, K., TANIGUCHI, K., YUI, A., NAKAI, H., ASANO, Y., HASHIMOTO, S., IHIRA, M., YAGASAKI, H., TAKAHASHI, Y., KOJIMA, S., MATSUMOTO, K., KATO, K. & YOSHIKAWA, T. 2012. Analysis of rotavirus antigenemia in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Transpl Infect Dis*, 14, 49-56.
- SUTRA, S., KOSUWON, P., CHIRAWATKUL, A. & THEPSUTHAMMARAT, K. 2012. Burden of acute, persistent and chronic diarrhea, Thailand, 2010. *J Med Assoc Thai*, 95 Suppl 7, S97-107.
- SUZUKI, Y., GOJOBORI, T. & NAKAGOMI, O. 1998. Intragenic recombinations in rotaviruses. *FEBS Lett*, 427, 183-7.

- SVENSSON, L., FINLAY, B. B., BASS, D., VON BONSDORFF, C. H. & GREENBERG, H. B. 1991. Symmetric infection of rotavirus on polarized human intestinal epithelial (Caco-2) cells. *J Virol*, 65, 4190-7.
- SVENSSON, L., SHESHBERADARAN, H., VENE, S., NORRBY, E., GRANDIEN, M. & WADELL, G. 1987. Serum antibody responses to individual viral polypeptides in human rotavirus infections. *J Gen Virol*, 68 (Pt 3), 643-51.
- TAFAZOLI, F., ZENG, C. Q., ESTES, M. K., MAGNUSSON, K. E. & SVENSSON, L. 2001. NSP4 enterotoxin of rotavirus induces paracellular leakage in polarized epithelial cells. *J Virol*, 75, 1540-6.
- TAI, I. C., HUANG, Y. C., LIEN, R. I., HUANG, C. G., TSAO, K. C. & LIN, T. Y. 2012. Clinical manifestations of a cluster of rotavirus infection in young infants hospitalized in neonatal care units. *J Microbiol Immunol Infect*, 45, 15-21.
- TANG, B., GILBERT, J. M., MATSUI, S. M. & GREENBERG, H. B. 1997. Comparison of the rotavirus gene 6 from different species by sequence analysis and localization of subgroup-specific epitopes using site-directed mutagenesis. *Virology*, 237, 89-96.
- TATE, J. E., BURTON, A. H., BOSCHI-PINTO, C. & PARASHAR, U. D. 2016. Global, Regional, and National Estimates of Rotavirus Mortality in Children <5 Years of Age, 2000-2013. *Clin Infect Dis*, 62 Suppl 2, S96-S105.
- TATE, J. E., BURTON, A. H., BOSCHI-PINTO, C., STEELE, A. D., DUQUE, J. & PARASHAR, U. D. 2012. 2008 estimate of worldwide rotavirus-associated mortality in children younger than 5 years before the introduction of universal rotavirus vaccination programmes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*, 12, 136-41.
- THURET, A., PATURAL, H., BERTHELOT, P., BENZAIT, F., MARTIN, I., JUSOT, J. F., TEYSSIER, G., FABRY, J. & POZZETTO, B. 2004. [Prospective follow-up of hospital-acquired diarrhoea in 28 paediatric wards of the south-east part of France during a winter season]. *Pathol Biol (Paris)*, 52, 131-7.
- TIAN, P., ESTES, M. K., HU, Y., BALL, J. M., ZENG, C. Q. & SCHILLING, W. P. 1995. The rotavirus nonstructural glycoprotein NSP4 mobilizes Ca²⁺ from the endoplasmic reticulum. *J Virol*, 69, 5763-72.
- TOWNLEY, R. R. & BARNES, G. L. 1973. Intestinal biopsy in childhood. *Arch Dis Child*, 48, 480-2.
- TRABELSI, A., PEENZE, I., PAGER, C., JEDDI, M. & STEELE, D. 2000. Distribution of rotavirus VP7 serotypes and VP4 genotypes circulating in Sousse, Tunisia, from 1995 to 1999: emergence of natural human reassortants. *J Clin Microbiol*, 38, 3415-9.
- TRASK, S. D., MCDONALD, S. M. & PATTON, J. T. 2012. Structural insights into the coupling of virion assembly and rotavirus replication. *Nat Rev Microbiol*, 10, 165-77.
- TRIMIS, G., KOUTSOUMBARI, I., KOTTARIDI, C., PALAIOLOGOU, N., ASSIMAKOPOULOU, E., SPATHIS, A., LEBESSI, E., KONSTANTOPOULOS, A., KAFETZIS, D., KARAKITSOS, P. & PAPAEOANGELOU, V. 2011. Hospital-based surveillance of rotavirus gastroenteritis in the era of limited vaccine uptake through the private sector. *Vaccine*, 29, 7292-5.
- UMAMAHESWARI, B., BISWAL, N., ADHISIVAM, B., PARIJA, S. C. & SRINIVASAN, S. 2010. Persistent diarrhea: risk factors and outcome. *Indian J Pediatr*, 77, 885-8.
- UNICOMB, L. E., PODDER, G., GENTSCH, J. R., WOODS, P. A., HASAN, K. Z., FARUQUE, A. S., ALBERT, M. J. & GLASS, R. I. 1999. Evidence of high-frequency genomic reassortment of group A rotavirus strains in Bangladesh: emergence of type G9 in 1995. *J Clin Microbiol*, 37, 1885-91.
- USHIJIMA, H., BOSU, K., ABE, T. & SHINOZAKI, T. 1986. Suspected rotavirus encephalitis. *Arch Dis Child*, 61, 692-4.
- VALENTINI, D., VITTUCCI, A. C., GRANDIN, A., TOZZI, A. E., RUSSO, C., ONORI, M., MENICHELLA, D., BARTULI, A. & VILLANI, A. 2013. Coinfection in acute gastroenteritis predicts a more severe clinical course in children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 32, 909-15.

- VASCOTTO, F., CAMPAGNA, M., VISINTIN, M., CATTANEO, A. & BURRONE, O. R. 2004. Effects of intrabodies specific for rotavirus NSP5 during the virus replicative cycle. *J Gen Virol*, 85, 3285-90.
- VELAZQUEZ, F. R., MATSON, D. O., CALVA, J. J., GUERRERO, L., MORROW, A. L., CARTER-CAMPBELL, S., GLASS, R. I., ESTES, M. K., PICKERING, L. K. & RUIZ-PALACIOS, G. M. 1996. Rotavirus infection in infants as protection against subsequent infections. *N Engl J Med*, 335, 1022-8.
- VELAZQUEZ, F. R., MATSON, D. O., GUERRERO, M. L., SHULTS, J., CALVA, J. J., MORROW, A. L., GLASS, R. I., PICKERING, L. K. & RUIZ-PALACIOS, G. M. 2000. Serum antibody as a marker of protection against natural rotavirus infection and disease. *J Infect Dis*, 182, 1602-9.
- VERROTTI, A., TOCCO, A. M., COPPOLA, G. G., ALTOBELLI, E. & CHIARELLI, F. 2009. Afebrile benign convulsions with mild gastroenteritis: a new entity? *Acta Neurol Scand*, 120, 73-9.
- VESIKARI, T., CLARK, H. F., OFFIT, P. A., DALLAS, M. J., DISTEFANO, D. J., GOVEIA, M. G., WARD, R. L., SCHODEL, F., KARVONEN, A., DRUMMOND, J. E., DINUBILE, M. J. & HEATON, P. M. 2006a. Effects of the potency and composition of the multivalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine on efficacy, safety and immunogenicity in healthy infants. *Vaccine*, 24, 4821-9.
- VESIKARI, T., KARVONEN, A., FERRANTE, S. A. & CIARLET, M. 2010. Efficacy of the pentavalent rotavirus vaccine, RotaTeq(R), in Finnish infants up to 3 years of age: the Finnish Extension Study. *Eur J Pediatr*, 169, 1379-86.
- VESIKARI, T., KARVONEN, A., KORHONEN, T., ESPO, M., LEBACQ, E., FORSTER, J., ZEPP, F., DELEM, A. & DE VOS, B. 2004a. Safety and immunogenicity of RIX4414 live attenuated human rotavirus vaccine in adults, toddlers and previously uninfected infants. *Vaccine*, 22, 2836-42.
- VESIKARI, T., KARVONEN, A., PRYMULA, R., SCHUSTER, V., TEJEDOR, J. C., COHEN, R., MEURICE, F., HAN, H. H., DAMASO, S. & BOUCKENOOGHE, A. 2007. Efficacy of human rotavirus vaccine against rotavirus gastroenteritis during the first 2 years of life in European infants: randomised, double-blind controlled study. *Lancet*, 370, 1757-63.
- VESIKARI, T., KARVONEN, A., PUUSTINEN, L., ZENG, S. Q., SZAKAL, E. D., DELEM, A. & DE VOS, B. 2004b. Efficacy of RIX4414 live attenuated human rotavirus vaccine in Finnish infants. *Pediatr Infect Dis J*, 23, 937-43.
- VESIKARI, T., MATSON, D. O., DENNEHY, P., VAN DAMME, P., SANTOSHAM, M., RODRIGUEZ, Z., DALLAS, M. J., HEYSE, J. F., GOVEIA, M. G., BLACK, S. B., SHINEFIELD, H. R., CHRISTIE, C. D., YLITALO, S., ITZLER, R. F., COIA, M. L., ONORATO, M. T., ADEYI, B. A., MARSHALL, G. S., GOTHEFORS, L., CAMPENS, D., KARVONEN, A., WATT, J. P., O'BRIEN, K. L., DINUBILE, M. J., CLARK, H. F., BOSLEGO, J. W., OFFIT, P. A. & HEATON, P. M. 2006b. Safety and efficacy of a pentavalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine. *N Engl J Med*, 354, 23-33.
- WAISBOURD-ZINMAN, O., BEN-ZIONY, S., SOLTER, E., CHODICK, G., ASHKENAZI, S. & LIVNI, G. 2011. The percentage of nosocomial-related out of total hospitalizations for rotavirus gastroenteritis and its association with hand hygiene compliance. *Am J Infect Control*, 39, 166-8.
- WAISBOURD-ZINMAN, O., BEN-ZIONY, S., SOLTER, E., SCHERF, E., SAMRA, Z. & ASHKENAZI, S. 2009. Hospitalizations for nosocomial rotavirus gastroenteritis in a tertiary pediatric center: a 4-year prospective study. *Am J Infect Control*, 37, 465-9.
- WARD, R. L., BERNSTEIN, D. I., YOUNG, E. C., SHERWOOD, J. R., KNOWLTON, D. R. & SCHIFF, G. M. 1986. Human rotavirus studies in volunteers: determination of infectious dose and serological response to infection. *J Infect Dis*, 154, 871-80.

- WEITKAMP, J. H., KALLEWAARD, N., KUSUHARA, K., BURES, E., WILLIAMS, J. V., LAFLEUR, B., GREENBERG, H. B. & CROWE, J. E., JR. 2003. Infant and adult human B cell responses to rotavirus share common immunodominant variable gene repertoires. *J Immunol*, 171, 4680-8.
- WEITKAMP, J. H., KALLEWAARD, N. L., BOWEN, A. L., LAFLEUR, B. J., GREENBERG, H. B. & CROWE, J. E., JR. 2005. VH1-46 is the dominant immunoglobulin heavy chain gene segment in rotavirus-specific memory B cells expressing the intestinal homing receptor alpha4beta7. *J Immunol*, 174, 3454-60.
- WENNERAS, C. & ERLING, V. 2004. Prevalence of enterotoxigenic Escherichia coli-associated diarrhoea and carrier state in the developing world. *J Health Popul Nutr*, 22, 370-82.
- WHITE, L. J., BUTTERY, J., COOPER, B., NOKES, D. J. & MEDLEY, G. F. 2008. Rotavirus within day care centres in Oxfordshire, UK: characterization of partial immunity. *J R Soc Interface*, 5, 1481-90.
- WIDDOWSON, M. A., VAN DOORNUM, G. J., VAN DER POEL, W. H., DE BOER, A. S., VAN DE HEIDE, R., MAHDI, U., HAANEN, P., KOOL, J. L. & KOOPMANS, M. 2002. An outbreak of diarrhea in a neonatal medium care unit caused by a novel strain of rotavirus: investigation using both epidemiologic and microbiological methods. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 23, 665-70.
- WIEGERING, V., KAISER, J., TAPPE, D., WEISSBRICH, B., MORBACH, H. & GIRSCHICK, H. J. 2011. Gastroenteritis in childhood: a retrospective study of 650 hospitalized pediatric patients. *Int J Infect Dis*, 15, e401-7.
- WILDI-RUNGE, S., ALLEMANN, S., SCHAAD, U. B. & HEININGER, U. 2009. A 4-year study on clinical characteristics of children hospitalized with rotavirus gastroenteritis. *Eur J Pediatr*, 168, 1343-8.
- WONG, C. J., PRICE, Z. & BRUCKNER, D. A. 1984. Aseptic meningitis in an infant with rotavirus gastroenteritis. *Pediatr Infect Dis*, 3, 244-6.
- WOODS, P. A., GENTSCH, J., GOUVEA, V., MATA, L., SANTOSHAM, M., BAI, Z. S., URASAWA, S. & GLASS, R. I. 1992. Distribution of serotypes of human rotavirus in different populations. *J Clin Microbiol*, 30, 781-5.
- WYATT, R. G., YOLKEN, R. H., URRUTIA, J. J., MATA, L., GREENBERG, H. B., CHANOCK, R. M. & KAPIKIAN, A. Z. 1979. Diarrhea associated with rotavirus in rural Guatemala: a longitudinal study of 24 infants and young children. *Am J Trop Med Hyg*, 28, 325-8.
- YAMASHIRO, Y., SHIMIZU, T., OGUCHI, S. & SATO, M. 1989. Prostaglandins in the plasma and stool of children with rotavirus gastroenteritis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 9, 322-7.
- YIH, W. K., LIEU, T. A., KULLDORFF, M., MARTIN, D., MCMAHILL-WALRAVEN, C. N., PLATT, R., SELVAM, N., SELVAN, M., LEE, G. M. & NGUYEN, M. 2014. Intussusception risk after rotavirus vaccination in U.S. infants. *N Engl J Med*, 370, 503-12.
- ZAHORSKY, J. 1929. Hyperemesis hiemsis or the winter vomiting disease. *Arch. Pediatr.*, 45, 391-5.
- ZAO, C. L., YU, W. N., KAO, C. L., TANIGUCHI, K., LEE, C. Y. & LEE, C. N. 1999. Sequence analysis of VP1 and VP7 genes suggests occurrence of a reassortant of G2 rotavirus responsible for an epidemic of gastroenteritis. *J Gen Virol*, 80 (Pt 6), 1407-15.
- ZHANG, M., ZENG, C. Q., MORRIS, A. P. & ESTES, M. K. 2000. A functional NSP4 enterotoxin peptide secreted from rotavirus-infected cells. *J Virol*, 74, 11663-70.
- ZISSIS, G., LAMBERT, J. P., MARBEHANT, P., MARISSENS, D., LOBMANN, M., CHARLIER, P., DELEM, A. & ZYGRAICH, N. 1983. Protection studies in colostrum-deprived piglets of a bovine rotavirus vaccine candidate using human rotavirus strains for challenge. *J Infect Dis*, 148, 1061-8.
- ADAMS, W. R. & KRAFT, L. M. 1963. Epizootic diarrhea of infant mice: identification of the etiologic agent. *Science*, 141, 359-60.

- AHMED, M. U., URASAWA, S., TANIGUCHI, K., URASAWA, T., KOBAYASHI, N., WAKASUGI, F., ISLAM, A. I. & SAHIKH, H. A. 1991. Analysis of human rotavirus strains prevailing in Bangladesh in relation to nationwide floods brought by the 1988 monsoon. *J Clin Microbiol*, 29, 2273-9.
- AKINCI, A., TEZIC, T., GUR, I., CETIN, H. & HATUN, S. 1991. Rotavirus diarrhea in newborn infants. *Turk J Pediatr*, 33, 153-7.
- ALAM, N. H., ISLAM, S., SATTAR, S., MONIRA, S. & DESJEUX, J. F. 2009. Safety of rapid intravenous rehydration and comparative efficacy of 3 oral rehydration solutions in the treatment of severely malnourished children with dehydrating cholera. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 48, 318-27.
- ALLISON, G. M., ROGERS, K. A., BORAD, A., AHMED, S., KARIM, M. M., KANE, A. V., HIBBERD, P. L., NAUMOVA, E. N., CALDERWOOD, S. B., RYAN, E. T., KHAN, W. A. & WARD, H. D. 2011. Antibody responses to the immunodominant *Cryptosporidium* gp15 antigen and gp15 polymorphisms in a case-control study of cryptosporidiosis in children in Bangladesh. *Am J Trop Med Hyg*, 85, 97-104.
- ANSALDI, F., LAI, P., VALLE, L., RIENTE, R., DURANDO, P., STICCHI, L., TUCCI, P., BIASCI, P., CROVARI, P., GASPARINI, R. & ICARDI, G. 2008. Burden of rotavirus-associated and non-rotavirus-associated diarrhea among nonhospitalized individuals in central Italy: a 1-year sentinel-based epidemiological and virological surveillance. *Clin Infect Dis*, 46, e51-5.
- AOKI, S. T., SETTEMBRE, E. C., TRASK, S. D., GREENBERG, H. B., HARRISON, S. C. & DORMITZER, P. R. 2009. Structure of rotavirus outer-layer protein VP7 bound with a neutralizing Fab. *Science*, 324, 1444-7.
- ARIAS, C. F., ROMERO, P., ALVAREZ, V. & LOPEZ, S. 1996. Trypsin activation pathway of rotavirus infectivity. *J Virol*, 70, 5832-9.
- ARISTA, S., VIZZI, E., ALAIMO, C., PALERMO, D. & CASCIO, A. 1999. Identification of human rotavirus strains with the P[14] genotype by PCR. *J Clin Microbiol*, 37, 2706-8.
- ARMAH, G. E., PAGER, C. T., ASMAH, R. H., ANTO, F. R., ODURO, A. R., BINKA, F. & STEELE, D. 2001. Prevalence of unusual human rotavirus strains in Ghanaian children. *J Med Virol*, 63, 67-71.
- ARMAH, G. E., SOW, S. O., BREIMAN, R. F., DALLAS, M. J., TAPIA, M. D., FEIKIN, D. R., BINKA, F. N., STEELE, A. D., LASERSON, K. F., ANSAH, N. A., LEVINE, M. M., LEWIS, K., COIA, M. L., ATTAH-POKU, M., OJWANDO, J., RIVERS, S. B., VICTOR, J. C., NYAMBANE, G., HODGSON, A., SCHODEL, F., CIARLET, M. & NEUZIL, K. M. 2010. Efficacy of pentavalent rotavirus vaccine against severe rotavirus gastroenteritis in infants in developing countries in sub-Saharan Africa: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*, 376, 606-14.
- ARNOLD, M. M., BARRO, M. & PATTON, J. T. 2013a. Rotavirus NSP1 mediates degradation of interferon regulatory factors through targeting of the dimerization domain. *J Virol*, 87, 9813-21.
- ARNOLD, M. M., SEN, A., GREENBERG, H. B. & PATTON, J. T. 2013b. The battle between rotavirus and its host for control of the interferon signaling pathway. *PLoS Pathog*, 9, e1003064.
- ARNOLDI, F., CAMPAGNA, M., EICHWALD, C., DESSELBERGER, U. & BURRONE, O. R. 2007. Interaction of rotavirus polymerase VP1 with nonstructural protein NSP5 is stronger than that with NSP2. *J Virol*, 81, 2128-37.
- BAKER, J. M., DAHL, R. M., CUBILO, J., PARASHAR, U. D. & LOPMAN, B. A. 2019. Effects of the rotavirus vaccine program across age groups in the United States: analysis of national claims data, 2001-2016. *BMC Infect Dis*, 19, 186.
- BALL, J. M., TIAN, P., ZENG, C. Q., MORRIS, A. P. & ESTES, M. K. 1996. Age-dependent diarrhea induced by a rotaviral nonstructural glycoprotein. *Science*, 272, 101-4.

- BANDIN, F., KWON, T., LINAS, M. D., GUIGONIS, V., VALENTIN, A., CASSAING, S., CAROL, A., GARNIER, A., BAUDOUIN, V. & DECRAMER, S. 2009. Cryptosporidiosis in paediatric renal transplantation. *Pediatr Nephrol*, 24, 2245-55.
- BANYAI, K., ESTES, M. K., MARTELLA, V. & PARASHAR, U. D. 2018. Viral gastroenteritis. *Lancet*, 392, 175-186.
- BANYAI, K., KEMENESI, G., BUDINSKI, I., FOLDES, F., ZANA, B., MARTON, S., VARGA-KUGLER, R., OLDAL, M., KURUCZ, K. & JAKAB, F. 2017. Candidate new rotavirus species in Schreiber's bats, Serbia. *Infect Genet Evol*, 48, 19-26.
- BARDHAN, P. K., SALAM, M. A. & MOLLA, A. M. 1992. Gastric emptying of liquid in children suffering from acute rotaviral gastroenteritis. *Gut*, 33, 26-9.
- BARNES, G. L., BISHOP, R. F. & TOWNLEY, R. R. 1974. Microbial flora and disaccharidase depression in infantile gastroenteritis. *Acta Paediatr Scand*, 63, 423-6.
- BEARDS, G. M., DESSELBERGER, U. & FLEWETT, T. H. 1989. Temporal and geographical distributions of human rotavirus serotypes, 1983 to 1988. *J Clin Microbiol*, 27, 2827-33.
- BELLEMARE, S., HARTLING, L., WIEBE, N., RUSSELL, K., CRAIG, W. R., MCCONNELL, D. & KLASSEN, T. P. 2004. Oral rehydration versus intravenous therapy for treating dehydration due to gastroenteritis in children: a meta-analysis of randomised controlled trials. *BMC Med*, 2, 11.
- BERKOVA, Z., CRAWFORD, S. E., BLUTT, S. E., MORRIS, A. P. & ESTES, M. K. 2007. Expression of rotavirus NSP4 alters the actin network organization through the actin remodeling protein cofilin. *J Virol*, 81, 3545-53.
- BERNER, R., SCHUMACHER, R. F., HAMEISTER, S. & FORSTER, J. 1999. Occurrence and impact of community-acquired and nosocomial rotavirus infections--a hospital-based study over 10 y. *Acta Paediatr Suppl*, 88, 48-52.
- BERNSTEIN, D. I., SANDER, D. S., SMITH, V. E., SCHIFF, G. M. & WARD, R. L. 1991. Protection from rotavirus reinfection: 2-year prospective study. *J Infect Dis*, 164, 277-83.
- BERNSTEIN, D. I., SMITH, V. E., SHERWOOD, J. R., SCHIFF, G. M., SANDER, D. S., DEFEUDIS, D., SPRIGGS, D. R. & WARD, R. L. 1998. Safety and immunogenicity of live, attenuated human rotavirus vaccine 89-12. *Vaccine*, 16, 381-7.
- BHAN, M. K., LEW, J. F., SAZAWAL, S., DAS, B. K., GENTSCH, J. R. & GLASS, R. I. 1993. Protection conferred by neonatal rotavirus infection against subsequent rotavirus diarrhea. *J Infect Dis*, 168, 282-7.
- BISHOP, R. F., BARNES, G. L., CIPRIANI, E. & LUND, J. S. 1983. Clinical immunity after neonatal rotavirus infection. A prospective longitudinal study in young children. *N Engl J Med*, 309, 72-6.
- BISHOP, R. F., DAVIDSON, G. P., HOLMES, I. H. & RUCK, B. J. 1973. Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute non-bacterial gastroenteritis. *Lancet*, 2, 1281-3.
- BISHOP, R. F., DAVIDSON, G. P., HOLMES, I. H. & RUCK, B. J. 1974. Detection of a new virus by electron microscopy of faecal extracts from children with acute gastroenteritis. *Lancet*, 1, 149-51.
- BISHOP, R. F., MASENDYCZ, P. J., BUGG, H. C., CARLIN, J. B. & BARNES, G. L. 2001. Epidemiological patterns of rotaviruses causing severe gastroenteritis in young children throughout Australia from 1993 to 1996. *J Clin Microbiol*, 39, 1085-91.
- BISHOP, R. F., UNICOMB, L. E. & BARNES, G. L. 1991. Epidemiology of rotavirus serotypes in Melbourne, Australia, from 1973 to 1989. *J Clin Microbiol*, 29, 862-8.
- BLACK, R. E., GREENBERG, H. B., KAPIKIAN, A. Z., BROWN, K. H. & BECKER, S. 1982. Acquisition of serum antibody to Norwalk Virus and rotavirus and relation to diarrhea in a longitudinal study of young children in rural Bangladesh. *J Infect Dis*, 145, 483-9.

- BLACKHALL, J., FUENTES, A. & MAGNUSSON, G. 1996. Genetic stability of a porcine rotavirus RNA segment during repeated plaque isolation. *Virology*, 225, 181-90.
- BLUTT, S. E., KIRKWOOD, C. D., PARRENO, V., WARFIELD, K. L., CIARLET, M., ESTES, M. K., BOK, K., BISHOP, R. F. & CONNER, M. E. 2003. Rotavirus antigenaemia and viraemia: a common event? *Lancet*, 362, 1445-9.
- BOK, K. & GREEN, K. Y. 2012. Norovirus gastroenteritis in immunocompromised patients. *N Engl J Med*, 367, 2126-32.
- BRAECKMAN, T., VAN HERCK, K., RAES, M., VERGISON, A., SABBE, M. & VAN DAMME, P. 2011. Rotavirus vaccines in Belgium: policy and impact. *Pediatr Infect Dis J*, 30, S21-4.
- BURNETT, E., JONESTELLER, C. L., TATE, J. E., YEN, C. & PARASHAR, U. D. 2017. Global Impact of Rotavirus Vaccination on Childhood Hospitalizations and Mortality From Diarrhea. *J Infect Dis*, 215, 1666-1672.
- BURNETT, E., PARASHAR, U. & TATE, J. 2018. Rotavirus Vaccines: Effectiveness, Safety, and Future Directions. *Paediatr Drugs*, 20, 223-233.
- CAMPAGNA, M., EICHWALD, C., VASCOTTO, F. & BURRONE, O. R. 2005. RNA interference of rotavirus segment 11 mRNA reveals the essential role of NSP5 in the virus replicative cycle. *J Gen Virol*, 86, 1481-7.
- CHAN, C. M., CHAN, C. W., MA, C. K. & CHAN, H. B. 2011. Norovirus as cause of benign convulsion associated with gastro-enteritis. *J Paediatr Child Health*, 47, 373-7.
- CHISTI, M. J., PIETRONI, M. A., SMITH, J. H., BARDHAN, P. K. & SALAM, M. A. 2011. Predictors of death in under-five children with diarrhoea admitted to a critical care ward in an urban hospital in Bangladesh. *Acta Paediatr*, 100, e275-9.
- CHUNG, K. T. & MCCRAE, M. A. 2011. Regulation of gene expression by the NSP1 and NSP3 non-structural proteins of rotavirus. *Arch Virol*, 156, 2197-203.
- CHURGAY, C. A. & AFTAB, Z. 2012. Gastroenteritis in children: Part 1. Diagnosis. *Am Fam Physician*, 85, 1059-62.
- CLARK, H. F., BORIAN, F. E. & PLOTKIN, S. A. 1990. Immune protection of infants against rotavirus gastroenteritis by a serotype 1 reassortant of bovine rotavirus WC3. *J Infect Dis*, 161, 1099-104.
- CLARK, H. F. & OFFIT, P. A. 2004. Vaccines for rotavirus gastroenteritis universally needed for infants. *Pediatr Ann*, 33, 536-43.
- CLARK, H. F., OFFIT, P. A., ELLIS, R. W., EIDEN, J. J., KRAH, D., SHAW, A. R., PICHICHERO, M., TREANOR, J. J., BORIAN, F. E., BELL, L. M. & PLOTKIN, S. A. 1996. The development of multivalent bovine rotavirus (strain WC3) reassortant vaccine for infants. *J Infect Dis*, 174 Suppl 1, S73-80.
- CLEMENS, J. D., WARD, R. L., RAO, M. R., SACK, D. A., KNOWLTON, D. R., VAN LOON, F. P., HUDA, S., MCNEAL, M., AHMED, F. & SCHIFF, G. 1992. Seroepidemiologic evaluation of antibodies to rotavirus as correlates of the risk of clinically significant rotavirus diarrhea in rural Bangladesh. *J Infect Dis*, 165, 161-5.
- COFFIN, S. E., ELSE, J., MARCHANT, C., SAWYER, M., POLLARA, B., FAYORSEY, R., NELSON, L., LAWLEY, D., GOVEIA, M., STEK, J., HILLE, D. & DINUBILE, M. J. 2006. Impact of acute rotavirus gastroenteritis on pediatric outpatient practices in the United States. *Pediatr Infect Dis J*, 25, 584-9.
- DAS, S., VARGHESE, V., CHAUDHURY, S., BARMAN, P., MAHAPATRA, S., KOJIMA, K., BHATTACHARYA, S. K., KRISHNAN, T., RATHO, R. K., CHHOTRAY, G. P., PHUKAN, A. C., KOBAYASHI, N. & NAIK, T. N. 2003. Emergence of novel human group A rotavirus G12 strains in India. *J Clin Microbiol*, 41, 2760-2.
- DAVIDSON, G. P. & BARNES, G. L. 1979. Structural and functional abnormalities of the small intestine in infants and young children with rotavirus enteritis. *Acta Paediatr Scand*, 68, 181-6.

- DAVIDSON, G. P., BISHOP, R. F., TOWNLEY, R. R. & HOLMES, I. H. 1975. Importance of a new virus in acute sporadic enteritis in children. *Lancet*, 1, 242-6.
- DAY, T. G., JACKSON, C. & BRYANT, P. A. 2012. Cluster of neurological manifestations of rotavirus infection in children. *BMJ Case Rep*, 2012.
- DE ROUGEMONT, A., KAPLON, J., BILLAUD, G., LINA, B., PINCHINAT, S., DERROUGH, T., CAULIN, E., POTHIER, P. & FLORET, D. 2009. [Sensitivity and specificity of the VIKIA Rota-Adeno immuno-chromatographic test (bioMerieux) and the ELISA IDEIA Rotavirus kit (Dako) compared to genotyping]. *Pathol Biol (Paris)*, 57, 86-9.
- DE VILLIERS, F. P. & DRIESSEN, M. 2012. Clinical neonatal rotavirus infection: association with necrotising enterocolitis. *S Afr Med J*, 102, 620-4.
- DELMAS, O., GARDET, A., CHWETZOFF, S., BRETON, M., COHEN, J., COLARD, O., SAPIN, C. & TRUGNAN, G. 2004. Different ways to reach the top of a cell. Analysis of rotavirus assembly and targeting in human intestinal cells reveals an original raft-dependent, Golgi-independent apical targeting pathway. *Virology*, 327, 157-61.
- DENNEHY, P. H. 2000. Transmission of rotavirus and other enteric pathogens in the home. *Pediatr Infect Dis J*, 19, S103-5.
- DENNEHY, P. H. 2005. Acute diarrheal disease in children: epidemiology, prevention, and treatment. *Infect Dis Clin North Am*, 19, 585-602.
- DENNEHY, P. H. 2011. Viral gastroenteritis in children. *Pediatr Infect Dis J*, 30, 63-4.
- DENNEHY, P. H., CORTESE, M. M., BEGUE, R. E., JAEGER, J. L., ROBERTS, N. E., ZHANG, R., RHODES, P., GENTSCH, J., WARD, R., BERNSTEIN, D. I., VITEK, C., BRESEE, J. S. & STAAT, M. A. 2006. A case-control study to determine risk factors for hospitalization for rotavirus gastroenteritis in U.S. children. *Pediatr Infect Dis J*, 25, 1123-31.
- DESSELBERGER, U. 1996. Genome rearrangements of rotaviruses. *Arch Virol Suppl*, 12, 37-51.
- DESSELBERGER, U. & HUPPERTZ, H. I. 2011. Immune responses to rotavirus infection and vaccination and associated correlates of protection. *J Infect Dis*, 203, 188-95.
- DJURETIC, T., RAMSAY, M., GAY, N., WALL, P., RYAN, M. & FLEMING, D. 1999. An estimate of the proportion of diarrhoeal disease episodes seen by general practitioners attributable to rotavirus in children under 5 y of age in England and Wales. *Acta Paediatr Suppl*, 88, 38-41.
- DORMITZER, P. R., SUN, Z. Y., WAGNER, G. & HARRISON, S. C. 2002. The rhesus rotavirus VP4 sialic acid binding domain has a galectin fold with a novel carbohydrate binding site. *EMBO J*, 21, 885-97.
- DORO, R., LASZLO, B., MARTELLA, V., LESHEM, E., GENTSCH, J., PARASHAR, U. & BANYAI, K. 2014. Review of global rotavirus strain prevalence data from six years post vaccine licensure surveillance: is there evidence of strain selection from vaccine pressure? *Infect Genet Evol*, 28, 446-61.
- DULGHEROFF, A. C., FIGUEIREDO, E. F., MOREIRA, L. P., MOREIRA, K. C., MOURA, L. M., GOUVEA, V. S. & DOMINGUES, A. L. 2012. Distribution of rotavirus genotypes after vaccine introduction in the Triangulo Mineiro region of Brazil: 4-Year follow-up study. *J Clin Virol*, 55, 67-71.
- DUNN, S. J., GREENBERG, H. B., WARD, R. L., NAKAGOMI, O., BURNS, J. W., VO, P. T., PAX, K. A., DAS, M., GOWDA, K. & RAO, C. D. 1993. Serotypic and genotypic characterization of human serotype 10 rotaviruses from asymptomatic neonates. *J Clin Microbiol*, 31, 165-9.
- EDMONSON, L. M., EBBERT, J. O. & EVANS, J. M. 2000. Report of a rotavirus outbreak in an adult nursing home population. *J Am Med Dir Assoc*, 1, 175-9.
- ESQUIVEL, F. R., LOPEZ, S., GUITIERREZ, X. L. & ARIAS, C. 2000. The internal rotavirus protein VP6 primes for an enhanced neutralizing antibody response. *Arch Virol*, 145, 813-25.
- ESTES, M. K., CRAWFORD, S. E., PENARANDA, M. E., PETRIE, B. L., BURNS, J. W., CHAN, W. K., ERICSON, B., SMITH, G. E. & SUMMERS, M. D. 1987. Synthesis and immunogenicity

- of the rotavirus major capsid antigen using a baculovirus expression system. *J Virol*, 61, 1488-94.
- ESTES, M. K. & DESSELBERGER, U. 2012. Rotaviruses: cause of vaccine-preventable disease yet many fundamental questions remain to be explored. *Curr Opin Virol*, 2, 369-72.
- ESTES, M. K., GRAHAM, D. Y., SMITH, E. M. & GERBA, C. P. 1979. Rotavirus stability and inactivation. *J Gen Virol*, 43, 403-9.
- FERRIS, A. A. 1965. The epidemiology of infective diarrhoea. *Aust J. Sci*, 28, 187-92.
- FISCHER, T. K., ASHLEY, D., KERIN, T., REYNOLDS-HEDMANN, E., GENTSCH, J., WIDDOWSON, M. A., WESTERMAN, L., PUHR, N., TURCIOS, R. M. & GLASS, R. I. 2005. Rotavirus antigenemia in patients with acute gastroenteritis. *J Infect Dis*, 192, 913-9.
- FISCHER, T. K. & GENTSCH, J. R. 2004. Rotavirus typing methods and algorithms. *Rev Med Virol*, 14, 71-82.
- FISCHER, T. K., STEINSLAND, H., MOLBAK, K., CA, R., GENTSCH, J. R., VALENTINER-BRANTH, P., AABY, P. & SOMMERFELT, H. 2000. Genotype profiles of rotavirus strains from children in a suburban community in Guinea-Bissau, Western Africa. *J Clin Microbiol*, 38, 264-7.
- FISCHER, T. K., VALENTINER-BRANTH, P., STEINSLAND, H., PERCH, M., SANTOS, G., AABY, P., MOLBAK, K. & SOMMERFELT, H. 2002. Protective immunity after natural rotavirus infection: a community cohort study of newborn children in Guinea-Bissau, west Africa. *J Infect Dis*, 186, 593-7.
- FONSECA, B. K., HOLDGATE, A. & CRAIG, J. C. 2004. Enteral vs intravenous rehydration therapy for children with gastroenteritis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 158, 483-90.
- FORD-JONES, E. L., WANG, E., PETRIC, M., COREY, P., MOINEDDIN, R. & FEARON, M. 2000. Rotavirus-associated diarrhea in outpatient settings and child care centers. The Greater Toronto Area/Peel Region PRESI Study Group. Pediatric Rotavirus Epidemiology Study for Immunization. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 154, 586-93.
- FRAGOSO, M., KUMAR, A. & MURRAY, D. L. 1986. Rotavirus in nasopharyngeal secretions of children with upper respiratory tract infections. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 4, 87-8.
- FRANCO, M. A., ANGEL, J. & GREENBERG, H. B. 2006. Immunity and correlates of protection for rotavirus vaccines. *Vaccine*, 24, 2718-31.
- FREEDMAN, S. B., ELTORKY, M. & GORELICK, M. 2010. Evaluation of a gastroenteritis severity score for use in outpatient settings. *Pediatrics*, 125, e1278-85.
- FRIEDMAN, J. N., GOLDMAN, R. D., SRIVASTAVA, R. & PARKIN, P. C. 2004. Development of a clinical dehydration scale for use in children between 1 and 36 months of age. *J Pediatr*, 145, 201-7.
- FRIESEMA, I. H., DE BOER, R. F., DUIZER, E., KORTBEEK, L. M., NOTERMANS, D. W., NORBRUIS, O. F., BEZEMER, D. D., VAN HEERBEEK, H., VAN ANDEL, R. N., VAN ENK, J. G., FRAAIJ, P. L., KOOPMANS, M. P., KOOISTRA-SMID, A. M. & VAN DUYNHOVEN, Y. T. 2012. Etiology of acute gastroenteritis in children requiring hospitalization in the Netherlands. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 31, 405-15.
- FRUHWIRTH, M., HEININGER, U., EHLKEN, B., PETERSEN, G., LAUBEREAU, B., MOLL-SCHULER, I., MUTZ, I. & FORSTER, J. 2001. International variation in disease burden of rotavirus gastroenteritis in children with community- and nosocomially acquired infection. *Pediatr Infect Dis J*, 20, 784-91.
- GAIRDNER, P. 1945. Infantile diarrhoea: An Analysis of 216 Cases with Special Reference to Institutional Outbreaks. *Arch Dis Child*, 20, 22-7.
- GARCIA-BASTEIRO, A. L., BOSCH, A., SICURI, E., BAYAS, J. M., TRILLA, A. & HAYES, E. B. 2011. Hospitalizations due to rotavirus gastroenteritis in Catalonia, Spain, 2003-2008. *BMC Res Notes*, 4, 429.

- GE, Y., MANSELL, A., USSHER, J. E., BROOKS, A. E., MANNING, K., WANG, C. J. & TAYLOR, J. A. 2013. Rotavirus NSP4 Triggers Secretion of Proinflammatory Cytokines from Macrophages via Toll-Like Receptor 2. *J Virol*, 87, 11160-7.
- GELLERT, G. A., WATERMAN, S. H., EWERT, D., OSHIRO, L., GILES, M. P., MONROE, S. S., GORELKIN, L. & GLASS, R. I. 1990. An outbreak of acute gastroenteritis caused by a small round structured virus in a geriatric convalescent facility. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 11, 459-64.
- GENTSCH, J. R., HULL, J. J., TEEL, E. N., KERIN, T. K., FREEMAN, M. M., ESONA, M. D., GRIFFIN, D. D., BIELFELT-KRALL, B. P., BANYAI, K., JIANG, B., CORTESE, M. M., GLASS, R. I. & PARASHAR, U. D. 2009. G and P types of circulating rotavirus strains in the United States during 1996-2005: nine years of prevaccine data. *J Infect Dis*, 200 Suppl 1, S99-S105.
- GILGER, M. A., MATSON, D. O., CONNER, M. E., ROSENBLATT, H. M., FINEGOLD, M. J. & ESTES, M. K. 1992. Extraintestinal rotavirus infections in children with immunodeficiency. *J Pediatr*, 120, 912-7.
- GLASS, R. I. 2006. New hope for defeating rotavirus. *Sci Am*, 294, 46-51, 54-5.
- GLASS, R. I., BRESEE, J. S., PARASHAR, U., TURCIOS, R., FISCHER, T. K., JIANG, B., WIDDOWSON, M. A. & GENTSCH, J. 2005. Rotavirus vaccines: past, present, and future. *Arch Pediatr*, 12, 844-7.
- GLASS, R. I., BRESEE, J. S., PARASHAR, U. D., HOLMAN, R. C. & GENTSCH, J. R. 1999. First rotavirus vaccine licensed: is there really a need? *Acta Paediatr Suppl*, 88, 2-8.
- GLASS, R. I., KILGORE, P. E., HOLMAN, R. C., JIN, S., SMITH, J. C., WOODS, P. A., CLARKE, M. J., HO, M. S. & GENTSCH, J. R. 1996. The epidemiology of rotavirus diarrhea in the United States: surveillance and estimates of disease burden. *J Infect Dis*, 174 Suppl 1, S5-11.
- GLEIZES, O., DESSELBERGER, U., TATOCHENKO, V., RODRIGO, C., SALMAN, N., MEZNER, Z., GIAQUINTO, C. & GRIMPREL, E. 2006. Nosocomial rotavirus infection in European countries: a review of the epidemiology, severity and economic burden of hospital-acquired rotavirus disease. *Pediatr Infect Dis J*, 25, S12-21.
- GOLDMAN, R. D., FRIEDMAN, J. N. & PARKIN, P. C. 2008. Validation of the clinical dehydration scale for children with acute gastroenteritis. *Pediatrics*, 122, 545-9.
- GONZALEZ, A. M., JAIMES, M. C., CAJIAO, I., ROJAS, O. L., COHEN, J., POTHIER, P., KOHLI, E., BUTCHER, E. C., GREENBERG, H. B., ANGEL, J. & FRANCO, M. A. 2003. Rotavirus-specific B cells induced by recent infection in adults and children predominantly express the intestinal homing receptor alpha4beta7. *Virology*, 305, 93-105.
- GOUVEA, V. & BRANTLY, M. 1995. Is rotavirus a population of reassortants? *Trends Microbiol*, 3, 159-62.
- GRAFF, J. W., ETTAYEBI, K. & HARDY, M. E. 2009. Rotavirus NSP1 inhibits NFkappaB activation by inducing proteasome-dependent degradation of beta-TrCP: a novel mechanism of IFN antagonism. *PLoS Pathog*, 5, e1000280.
- GREENBERG, H. B. & ESTES, M. K. 2009. Rotaviruses: from pathogenesis to vaccination. *Gastroenterology*, 136, 1939-51.
- GREGORIO, G. V., GONZALES, M. L., DANS, L. F. & MARTINEZ, E. G. 2009. Polymer-based oral rehydration solution for treating acute watery diarrhoea. *Cochrane Database Syst Rev*, CD006519.
- GRIMPREL, E., GARBARG-CHENON, A., PIRCON, J. Y., CURRAN, D., SORIANO-GABARRO, M. & MEYER, N. 2010. Surveillance to estimate the burden of rotavirus gastroenteritis in children aged less than 3 years attending day care centers in Paris, France. *Hum Vaccin*, 6, 399-406.
- GUARINO, A., ALBANO, F., ASHKENAZI, S., GENDREL, D., HOEKSTRA, J. H., SHAMIR, R. & SZAJEWSKA, H. 2008. European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology,

- and Nutrition/European Society for Paediatric Infectious Diseases evidence-based guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe: executive summary. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 46, 619-21.
- GUARINO, A., ASHKENAZI, S., GENDREL, D., LO VECCHIO, A., SHAMIR, R. & SZAJEWSKA, H. 2014. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/European Society for Pediatric Infectious Diseases evidence-based guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe: update 2014. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 59, 132-52.
- HAFFEJEE, I. E. 1991. Neonatal rotavirus infections. *Rev Infect Dis*, 13, 957-62.
- HAGBOM, M., ISTRATE, C., ENGBLOM, D., KARLSSON, T., RODRIGUEZ-DIAZ, J., BUESA, J., TAYLOR, J. A., LOITTO, V. M., MAGNUSSON, K. E., AHLMAN, H., LUNDGREN, O. & SVENSSON, L. 2011. Rotavirus stimulates release of serotonin (5-HT) from human enterochromaffin cells and activates brain structures involved in nausea and vomiting. *PLoS Pathog*, 7, e1002115.
- HAGBOM, M., SHARMA, S., LUNDGREN, O. & SVENSSON, L. 2012. Towards a human rotavirus disease model. *Curr Opin Virol*, 2, 408-18.
- HAHN, S., KIM, S. & GARNER, P. 2002. Reduced osmolarity oral rehydration solution for treating dehydration caused by acute diarrhoea in children. *Cochrane Database Syst Rev*, CD002847.
- HARRINGTON, M., BUTLER, K. & CAFFERKEY, M. 2003. Rotavirus infection in hospitalised children: incidence and impact on healthcare resources. *Ir J Med Sci*, 172, 33-6.
- HASELHORST, T., FLEMING, F. E., DYASON, J. C., HARTNELL, R. D., YU, X., HOLLOWAY, G., SANTEGOETS, K., KIEFEL, M. J., BLANCHARD, H., COULSON, B. S. & VON ITZSTEIN, M. 2009. Sialic acid dependence in rotavirus host cell invasion. *Nat Chem Biol*, 5, 91-3.
- HENKE-GENDO, C., HARSTE, G., JUERGENS-SAATHOFF, B., MATTNER, F., DEPPE, H. & HEIM, A. 2009. New real-time PCR detects prolonged norovirus excretion in highly immunosuppressed patients and children. *J Clin Microbiol*, 47, 2855-62.
- HJELT, K. 1991. [Nosocomial virus infections in pediatric departments. Rotavirus and respiratory syncytial virus]. *Ugeskr Laeger*, 153, 2102-4.
- HJELT, K., GRAUBALLE, P. C., PAERREGAARD, A., NIELSEN, O. H. & KRASILNIKOFF, P. A. 1987. Protective effect of preexisting rotavirus-specific immunoglobulin A against naturally acquired rotavirus infection in children. *J Med Virol*, 21, 39-47.
- HU, L., CRAWFORD, S. E., CZAKO, R., CORTES-PENFIELD, N. W., SMITH, D. F., LE PENDU, J., ESTES, M. K. & PRASAD, B. V. 2012a. Cell attachment protein VP8* of a human rotavirus specifically interacts with A-type histo-blood group antigen. *Nature*, 485, 256-9.
- HU, L., CRAWFORD, S. E., HYSER, J. M., ESTES, M. K. & PRASAD, B. V. 2012b. Rotavirus non-structural proteins: structure and function. *Curr Opin Virol*, 2, 380-8.
- HUNGERFORD, D., ALLEN, D. J., NAWAZ, S., COLLINS, S., LADHANI, S., VIVANCOS, R. & ITURRIZA-GOMARA, M. 2019. Impact of rotavirus vaccination on rotavirus genotype distribution and diversity in England, September 2006 to August 2016. *Euro Surveill*, 24.
- ITURRIZA-GOMARA, M., DALLMAN, T., BANYAI, K., BOTTIGER, B., BUESA, J., DIEDRICH, S., FIORE, L., JOHANSEN, K., KOOPMANS, M., KORSUN, N., KOUKOU, D., KRONEMAN, A., LASZLO, B., LAPPALAINEN, M., MAUNULA, L., MARQUES, A. M., MATTHIJNSSENS, J., MIDGLEY, S., MLADENOVA, Z., NAWAZ, S., POLJSK-PRIJATELJ, M., POTHIER, P., RUGGERI, F. M., SANCHEZ-FAUQUIER, A., STEYER, A., SIDARAVICIUTE-IVASKEVICIENE, I., SYRIOPOULOU, V., TRAN, A. N., USONIS, V., M, V. A. N. R., A, D. E. R. & GRAY, J. 2011. Rotavirus genotypes co-circulating in Europe between 2006 and 2009 as determined by EuroRotaNet, a pan-European collaborative strain surveillance network. *Epidemiol Infect*, 139, 895-909.

- ITURRIZA-GOMARA, M., GREEN, J., BROWN, D. W., DESSELBERGER, U. & GRAY, J. J. 2000a. Diversity within the VP4 gene of rotavirus P[8] strains: implications for reverse transcription-PCR genotyping. *J Clin Microbiol*, 38, 898-901.
- ITURRIZA-GOMARA, M., GREEN, J., BROWN, D. W., RAMSAY, M., DESSELBERGER, U. & GRAY, J. J. 2000b. Molecular epidemiology of human group A rotavirus infections in the United Kingdom between 1995 and 1998. *J Clin Microbiol*, 38, 4394-401.
- ITURRIZA-GOMARA, M., ISHERWOOD, B., DESSELBERGER, U. & GRAY, J. 2001. Reassortment in vivo: driving force for diversity of human rotavirus strains isolated in the United Kingdom between 1995 and 1999. *J Virol*, 75, 3696-705.
- JANSEN, A., STARK, K., KUNKEL, J., SCHREIER, E., IGNATIUS, R., LIESENFELD, O., WERBER, D., GOBEL, U. B., ZEITZ, M. & SCHNEIDER, T. 2008. Aetiology of community-acquired, acute gastroenteritis in hospitalised adults: a prospective cohort study. *BMC Infect Dis*, 8, 143.
- KAISER, P., BORTE, M., ZIMMER, K. P. & HUPPERTZ, H. I. 2012. Complications in hospitalized children with acute gastroenteritis caused by rotavirus: a retrospective analysis. *Eur J Pediatr*, 171, 337-45.
- KALJOT, K. T., SHAW, R. D., RUBIN, D. H. & GREENBERG, H. B. 1988. Infectious rotavirus enters cells by direct cell membrane penetration, not by endocytosis. *J Virol*, 62, 1136-44.
- KAPIKIAN, A. Z. 1993. Viral gastroenteritis. *JAMA*, 269, 627-30.
- KAPIKIAN, A. Z. & CHANOCK, R. M. 1996. *Fields Virology*. Philadelphia: Lippincott-Raven.
- KAPIKIAN, A. Z. & SHOPE, R. E. 1996. Rotaviruses, Reoviruses, Coltiviruses, and Orbiviruses.
- KAPIKIAN, A. Z., WYATT, R. G., DOLIN, R., THORNHILL, T. S., KALICA, A. R. & CHANOCK, R. M. 1972. Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J Virol*, 10, 1075-81.
- KAPIKIAN, A. Z., WYATT, R. G., LEVINE, M. M., YOLKEN, R. H., VANKIRK, D. H., DOLIN, R., GREENBERG, H. B. & CHANOCK, R. M. 1983. Oral administration of human rotavirus to volunteers: induction of illness and correlates of resistance. *J Infect Dis*, 147, 95-106.
- KEIDAN, I., SHIF, I., KEREN, G. & PASSWELL, J. H. 1992. Rotavirus encephalopathy: evidence of central nervous system involvement during rotavirus infection. *Pediatr Infect Dis J*, 11, 773-5.
- KILGORE, P. E., HOLMAN, R. C., CLARKE, M. J. & GLASS, R. I. 1995. Trends of diarrheal disease--associated mortality in US children, 1968 through 1991. *JAMA*, 274, 1143-8.
- KIM, C. R., OH, J. W., YUM, M. K., LEE, J. H. & KANG, J. O. 2009. Rotavirus infection in neonates at a university hospital in Korea. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 30, 893-5.
- KING, C. K., GLASS, R., BRESEE, J. S. & DUGGAN, C. 2003. Managing acute gastroenteritis among children: oral rehydration, maintenance, and nutritional therapy. *MMWR Recomm Rep*, 52, 1-16.
- KIRKWOOD, C., BOGDANOVIC-SAKRAN, N., CLARK, R., MASENDYCH, P., BISHOP, R. & BARNES, G. 2002. Report of the Australian Rotavirus Surveillance Program, 2001/2002. *Commun Dis Intell Q Rep*, 26, 537-40.
- KNIPE, D. M. & HOWLEY, P. M. 2013. *Fields Virology*, Lippincott Williams & Wilkins.
- KOOPMANS, M. & BROWN, D. 1999. Seasonality and diversity of Group A rotaviruses in Europe. *Acta Paediatr Suppl*, 88, 14-9.
- KOSEK, M., BERN, C. & GUERRANT, R. L. 2003. The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. *Bull World Health Organ*, 81, 197-204.
- KOSHIMURA, Y., NAKAGOMI, T. & NAKAGOMI, O. 2000. The relative frequencies of G serotypes of rotaviruses recovered from hospitalized children with diarrhea: A 10-

- year survey (1987-1996) in Japan with a review of globally collected data. *Microbiol Immunol*, 44, 499-510.
- KOTCH, J. B., ISBELL, P., WEBER, D. J., NGUYEN, V., SAVAGE, E., GUNN, E., SKINNER, M., FOWLKES, S., VIRK, J. & ALLEN, J. 2007. Hand-washing and diapering equipment reduces disease among children in out-of-home child care centers. *Pediatrics*, 120, e29-36.
- KOVACS-NOLAN, J., YOO, D. & MINE, Y. 2003. Fine mapping of sequential neutralization epitopes on the subunit protein VP8 of human rotavirus. *Biochem J*, 376, 269-75.
- LARRALDE, G., LI, B. G., KAPIKIAN, A. Z. & GORZIGLIA, M. 1991. Serotype-specific epitope(s) present on the VP8 subunit of rotavirus VP4 protein. *J Virol*, 65, 3213-8.
- LIGHT, J. S. & HODES, H. L. 1943. Studies on Epidemic Diarrhea of the New-born: Isolation of a Filtrable Agent Causing Diarrhea in Calves. *Am J Public Health Nations Health*, 33, 1451-4.
- LINHARES, A. C., MONCAO, H. C., GABBAY, Y. B., DE ARAUJO, V. L., SERRUYA, A. C. & LOUREIRO, E. C. 1983. Acute diarrhoea associated with rotavirus among children living in Belem, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 77, 384-90.
- LIU, M., MATTION, N. M. & ESTES, M. K. 1992. Rotavirus VP3 expressed in insect cells possesses guanylyltransferase activity. *Virology*, 188, 77-84.
- LOPEZ, S. & ARIAS, C. F. 2004. Multistep entry of rotavirus into cells: a Versaillesque dance. *Trends Microbiol*, 12, 271-8.
- LU, X., MCDONALD, S. M., TORTORICI, M. A., TAO, Y. J., VASQUEZ-DEL CARPIO, R., NIBERT, M. L., PATTON, J. T. & HARRISON, S. C. 2008. Mechanism for coordinated RNA packaging and genome replication by rotavirus polymerase VP1. *Structure*, 16, 1678-88.
- LUNDGREN, O. & SVENSSON, L. 2001. Pathogenesis of rotavirus diarrhea. *Microbes Infect*, 3, 1145-56.
- MAILLE, L., BEBY-DEFAUX, A., BOURGOIN, A., KOULMANN, L., EUCHER, V., CARDONA, J., ORIOU, D. & AGIUS, G. 2000. [Nosocomial infections due to rotavirus and respiratory syncytial virus in pediatric wards: a 2-year study]. *Ann Biol Clin (Paris)*, 58, 601-6.
- MALEK, M. A., CURNS, A. T., HOLMAN, R. C., FISCHER, T. K., BRESEE, J. S., GLASS, R. I., STEINER, C. A. & PARASHAR, U. D. 2006. Diarrhea- and rotavirus-associated hospitalizations among children less than 5 years of age: United States, 1997 and 2000. *Pediatrics*, 117, 1887-92.
- MALHERBE, H. H. & STRICKLAND-CHOLMLEY, M. 1967. Simian virus SA11 and the related O agent. *Arch Gesamte Virusforsch*, 22, 235-45.
- MALIK, J., BHAN, M. K. & RAY, P. 2008. Natural immunity to rotavirus infection in children. *Indian J Biochem Biophys*, 45, 219-28.
- MANGER, M. S., TANEJA, S., STRAND, T. A., UELAND, P. M., REFSUM, H., SCHNEEDE, J., NYGARD, O., SOMMERFELT, H. & BHANDARI, N. 2011. Poor folate status predicts persistent diarrhea in 6- to 30-month-old north Indian children. *J Nutr*, 141, 2226-32.
- MATA, L., SIMHON, A., URRUTIA, J. J. & KRONMAL, R. A. 1983. Natural history of rotavirus infection in the children of Santa Maria Cauque. *Prog Food Nutr Sci*, 7, 167-77.
- MATTHIJNSSENS, J., CIARLET, M., HEIMAN, E., ARIJS, I., DELBEKE, T., MCDONALD, S. M., PALOMBO, E. A., ITURRIZA-GOMARA, M., MAES, P., PATTON, J. T., RAHMAN, M. & VAN RANST, M. 2008. Full genome-based classification of rotaviruses reveals a common origin between human Wa-Like and porcine rotavirus strains and human DS-1-like and bovine rotavirus strains. *J Virol*, 82, 3204-19.
- MATTHIJNSSENS, J., CIARLET, M., MCDONALD, S. M., ATTOUI, H., BANYAI, K., BRISTER, J. R., BUESA, J., ESONA, M. D., ESTES, M. K., GENTSCH, J. R., ITURRIZA-GOMARA, M., JOHNE, R., KIRKWOOD, C. D., MARTELLA, V., MERTENS, P. P., NAKAGOMI, O., PARRENO, V., RAHMAN, M., RUGGERI, F. M., SAIF, L. J., SANTOS, N., STEYER, A., TANIGUCHI, K., PATTON, J. T., DESSELBERGER, U. & VAN RANST, M. 2011. Uniformity

- of rotavirus strain nomenclature proposed by the Rotavirus Classification Working Group (RCWG). *Arch Virol*, 156, 1397-413.
- MATTHIJNSSENS, J., MINO, S., PAPP, H., POTGIETER, C., NOVO, L., HEYLEN, E., ZELLER, M., GARAICOECHEA, L., BADARACCO, A., LENGUEL, G., KISFALI, P., CULLINANE, A., COLLINS, P. J., CIARLET, M., O'SHEA, H., PARRENO, V., BANYAI, K., BARRANDEGUY, M. & VAN RANST, M. 2012a. Complete molecular genome analyses of equine rotavirus A strains from different continents reveal several novel genotypes and a largely conserved genotype constellation. *J Gen Virol*, 93, 866-75.
- MATTHIJNSSENS, J., OTTO, P. H., CIARLET, M., DESSELBERGER, U., VAN RANST, M. & JOHNE, R. 2012b. VP6-sequence-based cutoff values as a criterion for rotavirus species demarcation. *Arch Virol*, 157, 1177-82.
- MAUNULA, L. & VON BONSDORFF, C. H. 2002. Frequent reassortments may explain the genetic heterogeneity of rotaviruses: analysis of Finnish rotavirus strains. *J Virol*, 76, 11793-800.
- MCCLAIN, B., SETTEMBRE, E., TEMPLE, B. R., BELLAMY, A. R. & HARRISON, S. C. 2010. X-ray crystal structure of the rotavirus inner capsid particle at 3.8 Å resolution. *J Mol Biol*, 397, 587-99.
- MCLEAN, B. & HOLMES, I. H. 1980. Transfer of antirotaviral antibodies from mothers to their infants. *J Clin Microbiol*, 12, 320-5.
- MEBUS, C. A., UNDERDAHL, N. R., RHODES, M. B. & TWIEHAUS, M. J. 1969. Further studies on neonatal calf diarrhea virus. *Proc Annu Meet U S Anim Health Assoc*, 73, 97-9.
- MENG, Z. D., BIRCH, C., HEATH, R. & GUST, I. 1987. Physicochemical stability and inactivation of human and simian rotaviruses. *Appl Environ Microbiol*, 53, 727-30.
- MOORE, S. R., LIMA, N. L., SOARES, A. M., ORIA, R. B., PINKERTON, R. C., BARRETT, L. J., GUERRANT, R. L. & LIMA, A. A. 2010. Prolonged episodes of acute diarrhea reduce growth and increase risk of persistent diarrhea in children. *Gastroenterology*, 139, 1156-64.
- MORALES, E., GARCIA-ESTEBAN, R., GUXENS, M., GUERRA, S., MENDEZ, M., MOLTO-PUIGMARTI, C., LOPEZ-SABATER, M. C. & SUNYER, J. 2012. Effects of prolonged breastfeeding and colostrum fatty acids on allergic manifestations and infections in infancy. *Clin Exp Allergy*, 42, 918-28.
- MORITA, Y., TANIGUCHI, K., URASAWA, T. & URASAWA, S. 1988. Analysis of serotype-specific neutralization epitopes on VP7 of human rotavirus by the use of neutralizing monoclonal antibodies and antigenic variants. *J Gen Virol*, 69 (Pt 2), 451-8.
- MORRIS, A. P., SCOTT, J. K., BALL, J. M., ZENG, C. Q., O'NEAL, W. K. & ESTES, M. K. 1999. NSP4 elicits age-dependent diarrhea and Ca(2+)-mediated I(-) influx into intestinal crypts of CF mice. *Am J Physiol*, 277, G431-44.
- MORROW, A. L., RUIZ-PALACIOS, G. M., JIANG, X. & NEWBURG, D. S. 2005. Human-milk glycans that inhibit pathogen binding protect breast-feeding infants against infectious diarrhea. *J Nutr*, 135, 1304-7.
- MOSSEL, E. C. & RAMIG, R. F. 2002. Rotavirus genome segment 7 (NSP3) is a determinant of extraintestinal spread in the neonatal mouse. *J Virol*, 76, 6502-9.
- MPHAHLELE, M. J. & STEELE, A. D. 1995. Relative frequency of human rotavirus VP4 (P) genotypes recovered over a ten-year period from South African children with diarrhea. *J Med Virol*, 47, 1-5.
- MUSHER, D. M. & MUSHER, B. L. 2004. Contagious acute gastrointestinal infections. *N Engl J Med*, 351, 2417-27.
- NAGER, A. L. & WANG, V. J. 2002. Comparison of nasogastric and intravenous methods of rehydration in pediatric patients with acute dehydration. *Pediatrics*, 109, 566-72.
- NAKAGOMI, T. & NAKAGOMI, O. 2005. Rotavirus antigenemia in children with encephalopathy accompanied by rotavirus gastroenteritis. *Arch Virol*, 150, 1927-31.

- NORDGREN, J., SHARMA, S., BUCARDO, F., NASIR, W., GUNAYDIN, G., OUERMI, D., NITIEMA, L. W., BECKER-DREPS, S., SIMPORE, J., HAMMARSTROM, L., LARSON, G. & SVENSSON, L. 2014. Both Lewis and secretor status mediate susceptibility to rotavirus infections in a rotavirus genotype-dependent manner. *Clin Infect Dis*, 59, 1567-73.
- O'MAHONY, J., FOLEY, B., MORGAN, S., MORGAN, J. G. & HILL, C. 1999. VP4 and VP7 genotyping of rotavirus samples recovered from infected children in Ireland over a 3-year period. *J Clin Microbiol*, 37, 1699-703.
- OCHOA, T. J., ECKER, L., BARLETTA, F., MISPIRETA, M. L., GIL, A. I., CONTRERAS, C., MOLINA, M., AMEMIYA, I., VERASTEGUI, H., HALL, E. R., CLEARY, T. G. & LANATA, C. F. 2009. Age-related susceptibility to infection with diarrheagenic *Escherichia coli* among infants from Periurban areas in Lima, Peru. *Clin Infect Dis*, 49, 1694-702.
- OFFIT, P. A. 2001. Correlates of protection against rotavirus infection and disease. *Novartis Found Symp*, 238, 106-13; discussion 114-24.
- OGILVIE, I., KHOURY, H., GOETGHEBEUR, M. M., EL KHOURY, A. C. & GIAQUINTO, C. 2012. Burden of community-acquired and nosocomial rotavirus gastroenteritis in the pediatric population of Western Europe: a scoping review. *BMC Infect Dis*, 12, 62.
- PADILLA-NORIEGA, L., FIORE, L., RENNELS, M. B., LOSONSKY, G. A., MACKOW, E. R. & GREENBERG, H. B. 1992. Humoral immune responses to VP4 and its cleavage products VP5* and VP8* in infants vaccinated with rhesus rotavirus. *J Clin Microbiol*, 30, 1392-7.
- PADILLA-NORIEGA, L., MENDEZ-TOSS, M., MENCHACA, G., CONTRERAS, J. F., ROMERO-GUIDO, P., PUERTO, F. I., GUISCARE, H., MOTA, F., HERRERA, I., CEDILLO, R., MUNOZ, O., CALVA, J., GUERRERO, M. L., COULSON, B. S., GREENBERG, H. B., LOPEZ, S. & ARIAS, C. F. 1998. Antigenic and genomic diversity of human rotavirus VP4 in two consecutive epidemic seasons in Mexico. *J Clin Microbiol*, 36, 1688-92.
- PARASHAR, U. D., ALEXANDER, J. P. & GLASS, R. I. 2006a. Prevention of rotavirus gastroenteritis among infants and children. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep*, 55, 1-13.
- PARASHAR, U. D., BRESEE, J. S., GENTSCH, J. R. & GLASS, R. I. 1998a. Rotavirus. *Emerg Infect Dis*, 4, 561-70.
- PARASHAR, U. D., GIBSON, C. J., BRESEE, J. S. & GLASS, R. I. 2006b. Rotavirus and severe childhood diarrhea. *Emerg Infect Dis*, 12, 304-6.
- PARASHAR, U. D., HOLMAN, R. C., CLARKE, M. J., BRESEE, J. S. & GLASS, R. I. 1998b. Hospitalizations associated with rotavirus diarrhea in the United States, 1993 through 1995: surveillance based on the new ICD-9-CM rotavirus-specific diagnostic code. *J Infect Dis*, 177, 13-7.
- PARASHAR, U. D., HUMMELMAN, E. G., BRESEE, J. S., MILLER, M. A. & GLASS, R. I. 2003. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis*, 9, 565-72.
- PATEL, M. M., LOPEZ-COLLADA, V. R., BULHOES, M. M., DE OLIVEIRA, L. H., BAUTISTA MARQUEZ, A., FLANNERY, B., ESPARZA-AGUILAR, M., MONTENEGRO RENOINER, E. I., LUNA-CRUZ, M. E., SATO, H. K., HERNANDEZ-HERNANDEZ LDEL, C., TOLEDO-CORTINA, G., CERON-RODRIGUEZ, M., OSNAYA-ROMERO, N., MARTINEZ-ALCAZAR, M., AGUINAGA-VILLASENOR, R. G., PLASCENCIA-HERNANDEZ, A., FOJACO-GONZALEZ, F., HERNANDEZ-PEREDO REZK, G., GUTIERREZ-RAMIREZ, S. F., DORAME-CASTILLO, R., TINAJERO-PIZANO, R., MERCADO-VILLEGAS, B., BARBOSA, M. R., MALUF, E. M., FERREIRA, L. B., DE CARVALHO, F. M., DOS SANTOS, A. R., CESAR, E. D., DE OLIVEIRA, M. E., SILVA, C. L., DE LOS ANGELES CORTES, M., RUIZ MATUS, C., TATE, J., GARGIULLO, P. & PARASHAR, U. D. 2011. Intussusception risk and health benefits of rotavirus vaccination in Mexico and Brazil. *N Engl J Med*, 364, 2283-92.

- PATHELA, P., ZAHID HASAN, K., ROY, E., HUQ, F., KASEM SIDDIQUE, A. & BRADLEY SACK, R. 2006. Diarrheal illness in a cohort of children 0-2 years of age in rural Bangladesh: I. Incidence and risk factors. *Acta Paediatr*, 95, 430-7.
- PAULKE-KORINEK, M., RENDI-WAGNER, P., KUNDI, M., KRONIK, R. & KOLLARITSCH, H. 2010. Universal mass vaccination against rotavirus gastroenteritis: impact on hospitalization rates in austrian children. *Pediatr Infect Dis J*, 29, 319-23.
- PAYNE, D. C., STAAT, M. A., EDWARDS, K. M., SZILAGYI, P. G., GENTSCH, J. R., STOCKMAN, L. J., CURNS, A. T., GRIFFIN, M., WEINBERG, G. A., HALL, C. B., FAIRBROTHER, G., ALEXANDER, J. & PARASHAR, U. D. 2008. Active, population-based surveillance for severe rotavirus gastroenteritis in children in the United States. *Pediatrics*, 122, 1235-43.
- PAYNE, D. C., VINJE, J., SZILAGYI, P. G., EDWARDS, K. M., STAAT, M. A., WEINBERG, G. A., HALL, C. B., CHAPPELL, J., BERNSTEIN, D. I., CURNS, A. T., WIKSWO, M., SHIRLEY, S. H., HALL, A. J., LOPMAN, B. & PARASHAR, U. D. 2013. Norovirus and medically attended gastroenteritis in U.S. children. *N Engl J Med*, 368, 1121-30.
- PITZER, V. E., VIBOUD, C., LOPMAN, B. A., PATEL, M. M., PARASHAR, U. D. & GRENFELL, B. T. 2011. Influence of birth rates and transmission rates on the global seasonality of rotavirus incidence. *J R Soc Interface*, 8, 1584-93.
- PITZER, V. E., VIBOUD, C., SIMONSEN, L., STEINER, C., PANOZZO, C. A., ALONSO, W. J., MILLER, M. A., GLASS, R. I., GLASSER, J. W., PARASHAR, U. D. & GRENFELL, B. T. 2009. Demographic variability, vaccination, and the spatiotemporal dynamics of rotavirus epidemics. *Science*, 325, 290-4.
- RAES, M., STRENS, D., VERGISON, A., VERGHOTE, M. & STANDAERT, B. 2011. Reduction in pediatric rotavirus-related hospitalizations after universal rotavirus vaccination in Belgium. *Pediatr Infect Dis J*, 30, e120-5.
- RAHMAN, M., DE LEENER, K., GOEGBUER, T., WOLLANTS, E., VAN DER DONCK, I., VAN HOOVELS, L. & VAN RANST, M. 2003. Genetic characterization of a novel, naturally occurring recombinant human G6P[6] rotavirus. *J Clin Microbiol*, 41, 2088-95.
- RAHMAN, M., SULTANA, R., PODDER, G., FARUQUE, A. S., MATTHIJNSSENS, J., ZAMAN, K., BREIMAN, R. F., SACK, D. A., VAN RANST, M. & AZIM, T. 2005. Typing of human rotaviruses: nucleotide mismatches between the VP7 gene and primer are associated with genotyping failure. *Viral J*, 2, 24.
- RAMACHANDRAN, M., DAS, B. K., VIJ, A., KUMAR, R., BHAMBAL, S. S., KESARI, N., RAWAT, H., BAHL, L., THAKUR, S., WOODS, P. A., GLASS, R. I., BHAN, M. K. & GENTSCH, J. R. 1996. Unusual diversity of human rotavirus G and P genotypes in India. *J Clin Microbiol*, 34, 436-9.
- RAMANI, S., PAUL, A., SARAVANABAVAN, A., MENON, V. K., ARUMUGAM, R., SOWMYANARAYANAN, T. V., SAMUEL, P. & KANG, G. 2010. Rotavirus antigenemia in Indian children with rotavirus gastroenteritis and asymptomatic infections. *Clin Infect Dis*, 51, 1284-9.
- RAMIG, R. F. 1997. Genetics of the rotaviruses. *Annu Rev Microbiol*, 51, 225-55.
- RAMIG, R. F. 2004. Pathogenesis of intestinal and systemic rotavirus infection. *J Virol*, 78, 10213-20.
- RANDALL, R. E. & GOODBOURN, S. 2008. Interferons and viruses: an interplay between induction, signalling, antiviral responses and virus countermeasures. *J Gen Virol*, 89, 1-47.
- RATNER, A. J., NEU, N., JAKOB, K., GRUMET, S., ADACHI, N., DELLA-LATTA, P., MARVEL, E. & SAIMAN, L. 2001. Nosocomial rotavirus in a pediatric hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 22, 299-301.
- RIMOLDI, S. G., STEFANI, F., PAGANI, C., CHENAL, L. L., ZANCHETTA, N., DI BARTOLO, I., LOMBARDI, A., RUGGERI, F. M., DI LILLO, D., ZUCCOTTI, G. V. & GISMONDO, M. R.

2011. Epidemiological and clinical characteristics of pediatric gastroenteritis associated with new viral agents. *Arch Virol*, 156, 1583-9.
- RIVERA, F. P., OCHOA, T. J., MAVES, R. C., BERNAL, M., MEDINA, A. M., MEZA, R., BARLETTA, F., MERCADO, E., ECKER, L., GIL, A. I., HALL, E. R., HUICHO, L. & LANATA, C. F. 2010. Genotypic and phenotypic characterization of enterotoxigenic *Escherichia coli* strains isolated from Peruvian children. *J Clin Microbiol*, 48, 3198-203.
- ROCZO-FARKAS, S., KIRKWOOD, C. D., COWLEY, D., BARNES, G. L., BISHOP, R. F., BOGDANOVIC-SAKRAN, N., BONIFACE, K., DONATO, C. M. & BINES, J. E. 2018. The Impact of Rotavirus Vaccines on Genotype Diversity: A Comprehensive Analysis of 2 Decades of Australian Surveillance Data. *J Infect Dis*, 218, 546-554.
- ROGERS, M., WEINSTOCK, D. M., EAGAN, J., KIEHN, T., ARMSTRONG, D. & SEPKOWITZ, K. A. 2000. Rotavirus outbreak on a pediatric oncology floor: possible association with toys. *Am J Infect Control*, 28, 378-80.
- ROTBART, H. A., LEVIN, M. J., YOLKEN, R. H., MANCHESTER, D. K. & JANTZEN, J. 1983. An outbreak of rotavirus-associated neonatal necrotizing enterocolitis. *J Pediatr*, 103, 454-9.
- RUGGERI, F. M. & GREENBERG, H. B. 1991. Antibodies to the trypsin cleavage peptide VP8 neutralize rotavirus by inhibiting binding of virions to target cells in culture. *J Virol*, 65, 2211-9.
- RUIZ-PALACIOS, G. M., PEREZ-SCHAELE, I., VELAZQUEZ, F. R., ABATE, H., BREUER, T., CLEMENS, S. C., CHEUVART, B., ESPINOZA, F., GILLARD, P., INNIS, B. L., CERVANTES, Y., LINHARES, A. C., LOPEZ, P., MACIAS-PARRA, M., ORTEGA-BARRIA, E., RICHARDSON, V., RIVERA-MEDINA, D. M., RIVERA, L., SALINAS, B., PAVIA-RUZ, N., SALMERON, J., RUTTIMANN, R., TINOCO, J. C., RUBIO, P., NUNEZ, E., GUERRERO, M. L., YARZABAL, J. P., DAMASO, S., TORNIEPORTH, N., SAEZ-LLORENS, X., VERGARA, R. F., VESIKARI, T., BOUCKENOOGHE, A., CLEMENS, R., DE VOS, B. & O'RYAN, M. 2006. Safety and efficacy of an attenuated vaccine against severe rotavirus gastroenteritis. *N Engl J Med*, 354, 11-22.
- RUIZ, M. C., ABAD, M. J., CHARPILLENNE, A., COHEN, J. & MICHELANGELI, F. 1997. Cell lines susceptible to infection are permeabilized by cleaved and solubilized outer layer proteins of rotavirus. *J Gen Virol*, 78 (Pt 11), 2883-93.
- SALINAS, B., PEREZ SCHAELE, I., LINHARES, A. C., RUIZ PALACIOS, G. M., GUERRERO, M. L., YARZABAL, J. P., CERVANTES, Y., COSTA CLEMENS, S., DAMASO, S., HARDT, K. & DE VOS, B. 2005. Evaluation of safety, immunogenicity and efficacy of an attenuated rotavirus vaccine, RIX4414: A randomized, placebo-controlled trial in Latin American infants. *Pediatr Infect Dis J*, 24, 807-16.
- SALMI, T. T., ARSTILA, P. & KOIVIKKO, A. 1978. Central nervous system involvement in patients with rotavirus gastroenteritis. *Scand J Infect Dis*, 10, 29-31.
- SANDHU, B. K. 2001. Practical guidelines for the management of gastroenteritis in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 33 Suppl 2, S36-9.
- SANDORA, T. J., TAVERAS, E. M., SHIH, M. C., RESNICK, E. A., LEE, G. M., ROSS-DEGNAN, D. & GOLDMANN, D. A. 2005. A randomized, controlled trial of a multifaceted intervention including alcohol-based hand sanitizer and hand-hygiene education to reduce illness transmission in the home. *Pediatrics*, 116, 587-94.
- SANTOS, N. & HOSHINO, Y. 2005. Global distribution of rotavirus serotypes/genotypes and its implication for the development and implementation of an effective rotavirus vaccine. *Rev Med Virol*, 15, 29-56.
- SANTOS, N., VOLOTAO, E. M., SOARES, C. C., ALBUQUERQUE, M. C., DA SILVA, F. M., CHIZHIKOV, V. & HOSHINO, Y. 2003. VP7 gene polymorphism of serotype G9 rotavirus strains and its impact on G genotype determination by PCR. *Virus Res*, 93, 127-38.

- SCHNADOWER, D., TARR, P. I., GORELICK, M. H., O'CONNELL, K., ROSKIND, C. G., POWELL, E. C., RAO, J., BHATT, S. & FREEDMAN, S. B. 2013. Validation of the modified Vesikari score in children with gastroenteritis in 5 US emergency departments. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 57, 514-9.
- SEDERDAHL, B. K., YI, J., JERRIS, R. C., GILLESPIE, S. E., WESTBLADE, L. F., KRAFT, C. S., SHANE, A. L. & ANDERSON, E. J. 2018. Trends in rotavirus from 2001 to 2015 in two paediatric hospitals in Atlanta, Georgia. *Epidemiol Infect*, 146, 465-467.
- SERMET-GAUDELUS, I., DE LA ROCQUE, F., SALOMON, J. L., LACHASSINE, E., LERUEZ-VILLE, M., BAUJAT, G., TRIOCHE, P., VALDES, L., PAREZ, N. & AUJARD, Y. 2004. [Rotavirus nosocomial infection in pediatric units. A multicentric observation study]. *Pathol Biol (Paris)*, 52, 4-10.
- SETTEMBRE, E. C., CHEN, J. Z., DORMITZER, P. R., GRIGORIEFF, N. & HARRISON, S. C. 2011. Atomic model of an infectious rotavirus particle. *EMBO J*, 30, 408-16.
- SHAH, M. P., DAHL, R. M., PARASHAR, U. D. & LOPMAN, B. A. 2018. Annual changes in rotavirus hospitalization rates before and after rotavirus vaccine implementation in the United States. *PLoS One*, 13, e0191429.
- SHAI, S., PEREZ-BECKER, R., VON KONIG, C. H., VON KRIES, R., HEININGER, U., FORSTER, J., HUPPERTZ, H. I., ROOS, R., GOBEL, U. & NIEHUES, T. 2013. Rotavirus disease in Germany--a prospective survey of very severe cases. *Pediatr Infect Dis J*, 32, e62-7.
- SHIM, J. O., SON, D. W., SHIM, S. Y., RYOO, E., KIM, W. & JUNG, Y. C. 2012. Clinical characteristics and genotypes of rotaviruses in a neonatal intensive care unit. *Pediatr Neonatol*, 53, 18-23.
- SHKALIM, V., AMIR, A., SAMRA, Z. & AMIR, J. 2012. Characteristics of non-typhi Salmonella gastroenteritis associated with bacteremia in infants and young children. *Infection*, 40, 285-9.
- SILVESTRI, L. S., TARAPOREWALA, Z. F. & PATTON, J. T. 2004. Rotavirus replication: plus-sense templates for double-stranded RNA synthesis are made in viroplasms. *J Virol*, 78, 7763-74.
- SOENARTO, Y., SEBODO, T., RIDHO, R., ALRASJID, H., ROHDE, J. E., BUGG, H. C., BARNES, G. L. & BISHOP, R. F. 1981. Acute diarrhea and rotavirus infection in newborn babies and children in Yogyakarta, Indonesia, from June 1978 to June 1979. *J Clin Microbiol*, 14, 123-9.
- SORIANO-GABARRO, M., MRUKOWICZ, J., VESIKARI, T. & VERSTRAETEN, T. 2006. Burden of rotavirus disease in European Union countries. *Pediatr Infect Dis J*, 25, S7-S11.
- STEINER, M. J., DEWALT, D. A. & BYERLEY, J. S. 2004. Is this child dehydrated? *JAMA*, 291, 2746-54.
- STRAND, T. A., SHARMA, P. R., GJESSING, H. K., ULAK, M., CHANDYO, R. K., ADHIKARI, R. K. & SOMMERFELT, H. 2012. Risk factors for extended duration of acute diarrhea in young children. *PLoS One*, 7, e36436.
- SUGATA, K., TANIGUCHI, K., YUI, A., NAKAI, H., ASANO, Y., HASHIMOTO, S., IHIRA, M., YAGASAKI, H., TAKAHASHI, Y., KOJIMA, S., MATSUMOTO, K., KATO, K. & YOSHIKAWA, T. 2012. Analysis of rotavirus antigenemia in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Transpl Infect Dis*, 14, 49-56.
- SUTRA, S., KOSUWON, P., CHIRAWATKUL, A. & THEPSUTHAMMARAT, K. 2012. Burden of acute, persistent and chronic diarrhea, Thailand, 2010. *J Med Assoc Thai*, 95 Suppl 7, S97-107.
- SUZUKI, Y., GOJOBORI, T. & NAKAGOMI, O. 1998. Intragenic recombinations in rotaviruses. *FEBS Lett*, 427, 183-7.
- TAI, I. C., HUANG, Y. C., LIEN, R. I., HUANG, C. G., TSAO, K. C. & LIN, T. Y. 2012. Clinical manifestations of a cluster of rotavirus infection in young infants hospitalized in neonatal care units. *J Microbiol Immunol Infect*, 45, 15-21.

- TANG, B., GILBERT, J. M., MATSUI, S. M. & GREENBERG, H. B. 1997. Comparison of the rotavirus gene 6 from different species by sequence analysis and localization of subgroup-specific epitopes using site-directed mutagenesis. *Virology*, 237, 89-96.
- TAPISIZ, A., BEDIR DEMIRDAG, T., CURA YAYLA, B. C., GUNES, C., UGRAS DIKMEN, A., TEZER, H., BARAN AKSAKAL, N., BOZDAYI, G. & OZKAN, S. 2019. Rotavirus infections in children in Turkey: A systematic review. *Rev Med Virol*, 29, e2020.
- TATE, J. E., BURTON, A. H., BOSCHI-PINTO, C. & PARASHAR, U. D. 2016. Global, Regional, and National Estimates of Rotavirus Mortality in Children <5 Years of Age, 2000-2013. *Clin Infect Dis*, 62 Suppl 2, S96-S105.
- TATE, J. E., BURTON, A. H., BOSCHI-PINTO, C., STEELE, A. D., DUQUE, J. & PARASHAR, U. D. 2012. 2008 estimate of worldwide rotavirus-associated mortality in children younger than 5 years before the introduction of universal rotavirus vaccination programmes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*, 12, 136-41.
- TATE, J. E., PANOZZO, C. A., PAYNE, D. C., PATEL, M. M., CORTESE, M. M., FOWLKES, A. L. & PARASHAR, U. D. 2009. Decline and change in seasonality of US rotavirus activity after the introduction of rotavirus vaccine. *Pediatrics*, 124, 465-71.
- THURET, A., PATURAL, H., BERTHELOT, P., BENZAIT, F., MARTIN, I., JUSOT, J. F., TEYSSIER, G., FABRY, J. & POZZETTO, B. 2004. [Prospective follow-up of hospital-acquired diarrhoea in 28 paediatric wards of the south-east part of France during a winter season]. *Pathol Biol (Paris)*, 52, 131-7.
- TIAN, P., ESTES, M. K., HU, Y., BALL, J. M., ZENG, C. Q. & SCHILLING, W. P. 1995. The rotavirus nonstructural glycoprotein NSP4 mobilizes Ca²⁺ from the endoplasmic reticulum. *J Virol*, 69, 5763-72.
- TOWNLEY, R. R. & BARNES, G. L. 1973. Intestinal biopsy in childhood. *Arch Dis Child*, 48, 480-2.
- TRABELSI, A., PEENZE, I., PAGER, C., JEDDI, M. & STEELE, D. 2000. Distribution of rotavirus VP7 serotypes and VP4 genotypes circulating in Sousse, Tunisia, from 1995 to 1999: emergence of natural human reassortants. *J Clin Microbiol*, 38, 3415-9.
- TRASK, S. D., MCDONALD, S. M. & PATTON, J. T. 2012. Structural insights into the coupling of virion assembly and rotavirus replication. *Nat Rev Microbiol*, 10, 165-77.
- UMAMAHESWARI, B., BISWAL, N., ADHISIVAM, B., PARIJA, S. C. & SRINIVASAN, S. 2010. Persistent diarrhea: risk factors and outcome. *Indian J Pediatr*, 77, 885-8.
- UNICOMB, L. E., PODDER, G., GENTSCH, J. R., WOODS, P. A., HASAN, K. Z., FARUQUE, A. S., ALBERT, M. J. & GLASS, R. I. 1999. Evidence of high-frequency genomic reassortment of group A rotavirus strains in Bangladesh: emergence of type G9 in 1995. *J Clin Microbiol*, 37, 1885-91.
- USHIJIMA, H., BOSU, K., ABE, T. & SHINOZAKI, T. 1986. Suspected rotavirus encephalitis. *Arch Dis Child*, 61, 692-4.
- VALENTINI, D., VITTUCCI, A. C., GRANDIN, A., TOZZI, A. E., RUSSO, C., ONORI, M., MENICHELLA, D., BARTULI, A. & VILLANI, A. 2013. Coinfection in acute gastroenteritis predicts a more severe clinical course in children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 32, 909-15.
- VASCOTTO, F., CAMPAGNA, M., VISINTIN, M., CATTANEO, A. & BURRONE, O. R. 2004. Effects of intrabodies specific for rotavirus NSP5 during the virus replicative cycle. *J Gen Virol*, 85, 3285-90.
- VELAZQUEZ, F. R., MATSON, D. O., CALVA, J. J., GUERRERO, L., MORROW, A. L., CARTER-CAMPBELL, S., GLASS, R. I., ESTES, M. K., PICKERING, L. K. & RUIZ-PALACIOS, G. M. 1996. Rotavirus infection in infants as protection against subsequent infections. *N Engl J Med*, 335, 1022-8.
- VELAZQUEZ, F. R., MATSON, D. O., GUERRERO, M. L., SHULTS, J., CALVA, J. J., MORROW, A. L., GLASS, R. I., PICKERING, L. K. & RUIZ-PALACIOS, G. M. 2000. Serum antibody as a

- marker of protection against natural rotavirus infection and disease. *J Infect Dis*, 182, 1602-9.
- VERROTTI, A., TOCCO, A. M., COPPOLA, G. G., ALTABELLI, E. & CHIARELLI, F. 2009. Afebrile benign convulsions with mild gastroenteritis: a new entity? *Acta Neurol Scand*, 120, 73-9.
- VESIKARI, T., CLARK, H. F., OFFIT, P. A., DALLAS, M. J., DISTEFANO, D. J., GOVEIA, M. G., WARD, R. L., SCHODEL, F., KARVONEN, A., DRUMMOND, J. E., DINUBILE, M. J. & HEATON, P. M. 2006a. Effects of the potency and composition of the multivalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine on efficacy, safety and immunogenicity in healthy infants. *Vaccine*, 24, 4821-9.
- VESIKARI, T., KARVONEN, A., FERRANTE, S. A. & CIARLET, M. 2010. Efficacy of the pentavalent rotavirus vaccine, RotaTeq(R), in Finnish infants up to 3 years of age: the Finnish Extension Study. *Eur J Pediatr*, 169, 1379-86.
- VESIKARI, T., KARVONEN, A., KORHONEN, T., ESPO, M., LEBACQ, E., FORSTER, J., ZEPP, F., DELEM, A. & DE VOS, B. 2004a. Safety and immunogenicity of RIX4414 live attenuated human rotavirus vaccine in adults, toddlers and previously uninfected infants. *Vaccine*, 22, 2836-42.
- VESIKARI, T., KARVONEN, A., PRYMULA, R., SCHUSTER, V., TEJEDOR, J. C., COHEN, R., MEURICE, F., HAN, H. H., DAMASO, S. & BOUCKENOOGHE, A. 2007. Efficacy of human rotavirus vaccine against rotavirus gastroenteritis during the first 2 years of life in European infants: randomised, double-blind controlled study. *Lancet*, 370, 1757-63.
- VESIKARI, T., KARVONEN, A., PUUSTINEN, L., ZENG, S. Q., SZAKAL, E. D., DELEM, A. & DE VOS, B. 2004b. Efficacy of RIX4414 live attenuated human rotavirus vaccine in Finnish infants. *Pediatr Infect Dis J*, 23, 937-43.
- VESIKARI, T., MATSON, D. O., DENNEHY, P., VAN DAMME, P., SANTOSHAM, M., RODRIGUEZ, Z., DALLAS, M. J., HEYSE, J. F., GOVEIA, M. G., BLACK, S. B., SHINEFIELD, H. R., CHRISTIE, C. D., YLITALO, S., ITZLER, R. F., COIA, M. L., ONORATO, M. T., ADEYI, B. A., MARSHALL, G. S., GOTHEFORS, L., CAMPENS, D., KARVONEN, A., WATT, J. P., O'BRIEN, K. L., DINUBILE, M. J., CLARK, H. F., BOSLEGO, J. W., OFFIT, P. A. & HEATON, P. M. 2006b. Safety and efficacy of a pentavalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine. *N Engl J Med*, 354, 23-33.
- WAISBOURD-ZINMAN, O., BEN-ZION, S., SOLTER, E., CHODICK, G., ASHKENAZI, S. & LIVNI, G. 2011. The percentage of nosocomial-related out of total hospitalizations for rotavirus gastroenteritis and its association with hand hygiene compliance. *Am J Infect Control*, 39, 166-8.
- WAISBOURD-ZINMAN, O., BEN-ZION, S., SOLTER, E., SCHERF, E., SAMRA, Z. & ASHKENAZI, S. 2009. Hospitalizations for nosocomial rotavirus gastroenteritis in a tertiary pediatric center: a 4-year prospective study. *Am J Infect Control*, 37, 465-9.
- WARD, R. L., BERNSTEIN, D. I., YOUNG, E. C., SHERWOOD, J. R., KNOWLTON, D. R. & SCHIFF, G. M. 1986. Human rotavirus studies in volunteers: determination of infectious dose and serological response to infection. *J Infect Dis*, 154, 871-80.
- WENNERAS, C. & ERLING, V. 2004. Prevalence of enterotoxigenic Escherichia coli-associated diarrhoea and carrier state in the developing world. *J Health Popul Nutr*, 22, 370-82.
- WHITE, L. J., BUTTERY, J., COOPER, B., NOKES, D. J. & MEDLEY, G. F. 2008. Rotavirus within day care centres in Oxfordshire, UK: characterization of partial immunity. *J R Soc Interface*, 5, 1481-90.
- WIDDOWSON, M. A., VAN DOORNUM, G. J., VAN DER POEL, W. H., DE BOER, A. S., VAN DE HEIDE, R., MAHDI, U., HAANEN, P., KOOL, J. L. & KOOPMANS, M. 2002. An outbreak of diarrhea in a neonatal medium care unit caused by a novel strain of rotavirus:

- investigation using both epidemiologic and microbiological methods. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 23, 665-70.
- WIEGERING, V., KAISER, J., TAPPE, D., WEISSBRICH, B., MORBACH, H. & GIRSCHICK, H. J. 2011. Gastroenteritis in childhood: a retrospective study of 650 hospitalized pediatric patients. *Int J Infect Dis*, 15, e401-7.
- WILDI-RUNGE, S., ALLEMANN, S., SCHAAD, U. B. & HEININGER, U. 2009. A 4-year study on clinical characteristics of children hospitalized with rotavirus gastroenteritis. *Eur J Pediatr*, 168, 1343-8.
- WONG, C. J., PRICE, Z. & BRUCKNER, D. A. 1984. Aseptic meningitis in an infant with rotavirus gastroenteritis. *Pediatr Infect Dis*, 3, 244-6.
- WOODS, P. A., GENTSCH, J., GOUVEA, V., MATA, L., SANTOSHAM, M., BAI, Z. S., URASAWA, S. & GLASS, R. I. 1992. Distribution of serotypes of human rotavirus in different populations. *J Clin Microbiol*, 30, 781-5.
- WYATT, R. G., YOLKEN, R. H., URRUTIA, J. J., MATA, L., GREENBERG, H. B., CHANOCK, R. M. & KAPIKIAN, A. Z. 1979. Diarrhea associated with rotavirus in rural Guatemala: a longitudinal study of 24 infants and young children. *Am J Trop Med Hyg*, 28, 325-8.
- YIH, W. K., LIEU, T. A., KULLDORFF, M., MARTIN, D., MCMAHILL-WALRAVEN, C. N., PLATT, R., SELVAM, N., SELVAN, M., LEE, G. M. & NGUYEN, M. 2014. Intussusception risk after rotavirus vaccination in U.S. infants. *N Engl J Med*, 370, 503-12.
- ZAHORSKY, J. 1929. Hyperemesis hiemsis or the winter vomiting disease. *Arch. Pediatr.*, 45, 391-5.
- ZAO, C. L., YU, W. N., KAO, C. L., TANIGUCHI, K., LEE, C. Y. & LEE, C. N. 1999. Sequence analysis of VP1 and VP7 genes suggests occurrence of a reassortant of G2 rotavirus responsible for an epidemic of gastroenteritis. *J Gen Virol*, 80 (Pt 6), 1407-15.
- ZELLER, M., RAHMAN, M., HEYLEN, E., DE COSTER, S., DE VOS, S., ARIJS, I., NOVO, L., VERSTAPPEN, N., VAN RANST, M. & MATTHIJNSSENS, J. 2010. Rotavirus incidence and genotype distribution before and after national rotavirus vaccine introduction in Belgium. *Vaccine*, 28, 7507-13.
- ZHANG, M., ZENG, C. Q., MORRIS, A. P. & ESTES, M. K. 2000. A functional NSP4 enterotoxin peptide secreted from rotavirus-infected cells. *J Virol*, 74, 11663-70.
- ZISSIS, G., LAMBERT, J. P., MARBEHANT, P., MARISSENS, D., LOBMANN, M., CHARLIER, P., DELEM, A. & ZYGRAICH, N. 1983. Protection studies in colostrum-deprived piglets of a bovine rotavirus vaccine candidate using human rotavirus strains for challenge. *J Infect Dis*, 148, 1061-8.