



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

Δ' ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ «ΑΤΤΙΚΟΝ»

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΜΠΟΥΜΠΑΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΙΟΓΕΝΩΝ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ ΤΟΥ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟΥ

ΜΕ ΕΠΙΠΕΔΑ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΠΟΥ

ΠΡΟΣΕΡΧΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ

ΑΝΤΑΛΗΣ ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ

ΧΗΜΙΚΟΣ - MSc ΚΛΙΝΙΚΟΣ ΧΗΜΙΚΟΣ

ΑΘΗΝΑ

2019

ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟΣ ΟΡΚΟΣ ΚΕΙΜΕΝΟ

ΟΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΩΝ ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΩΝ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΦΕΡΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΟΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΟΡΚΩΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΣΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ, ΗΓΗΣΣΕΣΘΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΣΚΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΙΣΣΘΑΙ ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΣΙΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΙΣΘΑΙ ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΣ ΑΥΤΟΥ ΑΔΕΛΦΟΙΣ ΨΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝΘΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΣΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΗΝ ΧΡΗΣΙΩΣ ΜΑΘΗΤΑΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΣΥΓΓΡΑΦΗΣ ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΙΣΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ ΚΑΙ ΤΟΙΣ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΣΚΑΝΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣ ΣΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣ ΤΕ ΚΑΙ ΟΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ ΙΗΤΡΙΚΩ ΑΛΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΙΩΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗΝ ΕΙΡΕΙΝ ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΒΛΑΨΙΜΩΝ, ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΣΥΜΒΟΥΛΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΩ ΠΕΙΣΧΩΝ ΦΘΟΡΙΩΝ ΔΩΣΩ, ΑΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΩΝ ΤΩΝ ΕΜΩΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ, ΟΥ ΤΕΜΒΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘΙΩΝΤΑΣ ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙΝ ΠΡΗΚΟΙΣ ΤΗΣΔΕ ΕΙΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΙΑΣ ΑΝ ΕΣΙΩ, ΕΞΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΑΠ' ΩΦΕΛΕΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΙΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΘΒΟΡΗΣ ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΕΙΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ, Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑ Η ΙΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΚΑΤΑ ΒΙΩΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΚΑΛΕΕΣΘΑΙ ΕΣΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ, ΟΡΚΩΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΩΝΤΙ ΚΑΙ ΜΗ ΣΥΓΧΕΩΝΤΙ ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ, ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΩΣ ΕΣ ΤΟΝ ΑΙΩ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΘΟΡΚΕΟΝΤΙ, ΤΑΛΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟΣ ΟΡΚΟΣ ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ

ΟΡΚΙΖΟΜΑΙ ΣΤΟΝ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΤΟΝ ΙΑΤΡΟ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΑΣΚΛΗΠΙΟ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΠΑΝΑΚΕΙΑ ΚΑΙ ΣΤΟΥΣ ΤΟΥΣ ΘΕΟΥΣ ΚΑΙ ΤΙΣ ΘΕΕΣ, ΠΟΥ ΒΑΣΘ ΜΑΡΤΥΡΕΙΣ ΟΤΙ ΘΑ ΕΚΠΛΗΡΩΣΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟ ΜΟΥ ΑΥΤΟ ΚΑΙ ΤΟ ΣΥΜΒΟΛΑΙΟ ΑΥΤΟ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΗ ΔΥΝΑΜΗ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΡΙΣΗ ΜΟΥ ΟΤΙ ΘΑ ΘΕΩΡΩ ΘΕΙΟΝ ΤΟΝ ΠΟΥ ΜΟΥ ΔΙΔΑΣΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΑΥΤΗ-ΙΣΟΝ ΜΕ ΤΟΥΣ ΓΟΝΕΣ ΜΟΥ, ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΝ ΚΑΝΩ ΚΟΙΝΩΝΟ ΤΟΥ ΒΙΟΥ ΜΟΥ, ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΥ ΠΡΟΣΦΕΡΩ ΑΠΟ ΤΑ ΔΙΚΑ ΜΟΥ ΟΤΙ ΧΡΕΙΑΖΕΤΑΙ ΤΟΥΣ ΑΠΟΓΟΝΟΥΣ ΤΟΥ ΘΑ ΘΕΩΡΩ ΩΣ ΑΔΕΛΦΟΥΣ ΜΟΥ ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΥΣ ΔΙΔΑΣΩ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΑΥΤΗ, ΑΝ ΕΠΙΘΥΜΟΥΝ ΝΑ ΜΑΘΟΥΝ ΧΩΡΙΣ ΜΙΣΘΟ ΚΑΙ ΧΩΡΙΣ ΣΥΜΦΩΝΙΑ, ΟΤΙ ΘΑ ΜΕΤΑΔΩΣΩ ΤΟΥΣ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΟΥΣ ΚΑΝΟΝΕΣ, ΤΑ ΘΕΩΡΗΤΙΚΑ ΜΑΘΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΤΙΣ ΥΠΟΔΟΧΕΣ ΔΙΑΦΕΡΕΣ ΑΣΚΗΣΕΙΣ ΣΤΟΥΣ ΓΙΟΥΣ ΜΟΥ, ΣΤΟΥΣ ΠΙΟΥΣ ΤΟΥ ΔΙΔΑΣΚΑΛΟΥ ΜΟΥ, ΚΑΙ ΣΕ ΜΑΘΗΤΕΣ ΠΟΥ ΘΑ ΕΧΟΥΝ ΣΥΝΔΕΣΗ ΜΑΖΙ ΜΟΥ ΜΕ ΟΡΚΟ ΚΑΙ ΣΥΜΒΟΛΑΙΟ, ΚΑΤΑ ΤΗ ΣΥΝΗΘΕΙΑ ΤΩΝ ΙΑΤΡΩΝ, ΚΑΙ ΣΕ ΚΑΝΕΝΑ ΑΛΛΟ.

ΘΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΩ ΤΗ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΔΙΑΤΑ ΜΟΝΟ ΠΑ ΩΦΕΛΕΙΑ ΤΩΝ ΑΡΡΩΣΤΩΝ, ΟΣΟ ΕΣΤΙΝΑΙ ΜΕΘ ΤΗ ΔΥΝΑΜΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΡΙΣΗ ΜΟΥ, ΚΑΙ (ΥΠΟΧΟΜΑΙ ΟΤΙ) ΘΑ ΤΟΥΣ ΠΡΟΦΥΛΑΞΩ ΑΠΟ ΚΑΘΕ ΒΛΑΒΗ ΚΑΙ ΑΔΙΚΙΑ.

ΔΕΝ ΘΑ ΧΟΡΗΓΗΣΩ ΘΑΝΑΤΗΦΕΡΟ ΦΑΡΜΑΚΟ ΣΕ ΚΑΝΕΝΑ, ΟΣΟ ΚΑΙ ΑΝ ΠΑΡΑΚΛΗΘΩ, ΟΥΤΕ ΘΑ ΥΠΟΔΕΙΞΩ ΤΕΤΟΙΑ ΣΥΜΒΟΥΧΗ. ΕΠΙΣΗΣ ΔΕΝ ΘΑ ΔΟΣΩ ΣΕ-ΣΥΝΑΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΟ ΕΚΤΡΟΤΙΚΟ, ΑΓΝΗ ΚΑΙ ΚΑΘΑΡΗ ΘΑ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΤΗ ΖΩΗ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΜΟΥ, ΔΕΝ ΘΑ ΧΕΙΡΟΥΡΓΗΣΩ ΟΠΩΣΔΗΠΟΤΕ ΑΥΤΟΥΣ ΠΟΥ ΠΑΣΧΟΥΝ ΑΠΟ ΠΕΤΡΑ, ΑΛΛΑ ΘΑ ΑΡΗΣΩ ΤΗΝ ΠΡΑΞΗ ΑΥΤΗ ΣΤΟΥΣ ΕΣΑΣΚΗΜΕΝΟΥΣ. ΣΕ ΟΣΑ ΣΠΕΤΙΑ ΠΡΟΪΚΑΛΟΜΑΙ, ΘΑ ΠΛΑΙΝΩ ΓΙΑ ΤΟ ΚΑΛΟ ΤΩΝ ΑΡΡΩΣΤΩΝ, ΚΡΑΤΩΝΤΑΣ ΤΟΝ ΕΑΥΤΟ ΜΟΥ ΜΑΚΡΙΑ ΑΠΟ ΚΑΘΕ ΘΕΛΗΜΑΤΙΚΗ ΑΔΙΚΙΑ. Η ΚΑΛΗ ΔΙΑΦΦΟΡΑ ΚΑΙ ΠΡΟ ΠΑΝΤΩΝ ΜΑΚΡΙΑ ΑΠΟ ΚΑΘΕ ΑΠΡΟΩΣΙΑΚΗ ΠΡΑΞΗ ΣΕ ΣΩΜΑΤΑ ΓΥΝΑΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ Η ΔΟΥΛΩΝ.

ΟΣΑ ΔΕ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΘΑ ΔΩ Η ΘΑ ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΠΕΡΑ ΑΠΟ ΤΙΣ ΑΣΧΟΛΙΕΣ ΜΟΥ ΣΤΗΝ ΗΜΕΡΙΑΝΗ ΖΩΗ, ΟΣΑ ΔΕΝ ΠΡΕΠΕΙ ΠΟΤΕ ΝΑ ΚΟΙΝΩΛΟΓΟΥΝΤΑΙ ΣΤΟΥΣ ΕΙΣΩ, ΘΑ ΤΑ ΑΠΟΣΙΟΠΩ, ΥΠΟΛΟΓΙΖΟΝΤΑΣ ΟΤΙ ΑΥΤΑ ΕΙΝΑΙ ΞΕΡΑ ΜΥΣΤΙΚΑ, ΟΣΟ ΛΟΙΠΟΝ ΘΑ ΤΗΡΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟ ΜΟΥ ΑΥΤΟ, ΚΑΙ ΔΕΝ ΘΑ ΤΟΝ ΠΑΡΑΒΙΑΣΩ, ΕΙΣΘΕ ΝΑ ΠΕΤΥΧΑΙΝΩ ΣΤΗ ΖΩΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΜΟΥ, ΕΧΟΝΤΑΣ ΚΑΛΟ ΘΝΟΜΑ ΠΑΝΤΟΤΕ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΟΥΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥΣ ΕΑΝ ΟΜΩΣ ΤΟΝ ΠΑΡΑΒΩ ΚΑΙ ΓΙΝΩ ΕΠΙΟΡΚΟΣ, ΝΑ ΠΑΘΩ ΤΑ ΑΝΤΙΘΕΤΑ.

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Τσιόδρας Σωτήριος (Επιβλέπων)

Κρούπης Χρήστος

Νανάς Σεραφείμ

Μέλη Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής:

Μπούμπας Δημήτριος

Βασιλειάδης Ιωάννης

Πιτταράς Θεόδωρος

Ρούτση Χριστίνα

Έδρα Εκπόνησης: *Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο "ΑΤΤΙΚΟΝ"*

Έδρα Υποψηφίου Διδάκτορα: *Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο "ΑΤΤΙΚΟΝ"*

«Η έγκριση της Διδακτορικής Διατριβής υπό της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, δεν υποδηλοί αποδοχή των γνωμών του συγγραφέως».

(Νόμος 5343/32, άρθρ. 202 §2 και ν. 1268/82, αρθρ.50 §8)

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ ΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΕΤΡΟΣ ΣΦΗΚΑΚΗΣ

*Αφιερώνεται στη μητέρα μου
Ελένη Αρβανίτου - Ανταλή
με Απεριόριστη Αγάπη,
Ευγνωμοσύνη & Σεβασμό...!!!*

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα ερευνητική εργασία εκπονήθηκε στην Δ' Παθολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών «ΑΤΤΙΚΟΝ» στα πλαίσια της Διδακτορικής Διατριβής μου στον Τομέα Παθολογίας-Λοιμώξεων του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, κατά τη διάρκεια των ακαδημαϊκών ετών 2014-2018. Επιβλέπων Καθηγητής της Διδακτορικής Διατριβής ήταν ο Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας - Λοιμώξεων του Τμήματος Ιατρικής του Εθνικού & Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, Κος Σωτήριος Τσιόδρας.

Αρχικά θέλω να ευχαριστήσω ιδιαίτερος τον Διευθυντή της Δ' Παθολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών «ΑΤΤΙΚΟΝ» και Καθηγητή Παθολογίας, Κο Δημήτριο Μπούμπα για την έγκριση που μου έδωσε, έτσι ώστε να εκπονηθεί το κλινικό μέρος της διατριβής (λήψη ιατρικού ιστορικού και παρακολούθηση των ασθενών) υπό την ευθύνη της ως άνω Κλινικής.

Επιπλέον θέλω να ευχαριστήσω τον αείμνηστο Διευθυντή του Εργαστηρίου Διαγνωστικής Κυτταρολογίας του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών «ΑΤΤΙΚΟΝ» και Καθηγητή Κυτταρολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Κο Πέτρο Καρακίτσο για την έγκριση και την υποστήριξη που μου έδωσε σε εργαστηριακό επίπεδο καθότι το μεγαλύτερο τμήμα των εργαστηριακών αναλύσεων έλαβε χώρα στο παραπάνω Εργαστήριο.

Ακόμη θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επίκουρο Καθηγητή Κλινικής Βιοχημείας - Μοριακής Βιολογίας του Τμήματος Ιατρικής, Κο Χρήστο Κρούπη, του οποίου η συμβολή ήταν καθοριστική για την περάτωση της έρευνας καθότι αποδέχθηκε να αποτελέσει μέλος της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής της Διδακτορικής μου Διατριβής.

Στα πλαίσια της εργαστηριακής μου εκπαίδευσης, κατά τη διάρκεια των ετών 2015-2016 έλαβε χώρα συνεργασία με το Εθνικό Εργαστήριο Αναφοράς Γρίπης Νοτίου Ελλάδος του Ελληνικού Ινστιτούτου Παστέρ. Σε αυτό το σημείο θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Διευθυντή του Εργαστηρίου, Ερευνητή Α' Ιατρο-Μικροβιολόγο, Δρ. Ανδρέα Μεντή για την αποδοχή του σε αυτή τη συνεργασία. Ιδιαίτερες ευχαριστίες όμως θα ήθελα να εκφράσω στον βιολόγο Δρ. Αθανάσιο Κοσσυβάκη για την υποστήριξή του αλλά και για το φιλικό κλίμα που διαμόρφωσε έτσι ώστε να αισθανθώ από την πρώτη στιγμή μέλος μιας ομάδας.

Ακόμη θέλω να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Παθολογίας-Εντατικής Θεραπείας της Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ της Α΄ Κλινικής Εντατικής Θεραπείας του Νοσοκομείου "Ευαγγελισμός", Σεραφείμ Νανά που απεδέχθη να αποτελέσει μέλος της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής της Διδακτορικής μου Διατριβής αλλά και για την γενικότερη υποστήριξή του.

Θέλω επιπλέον να ευχαριστήσω όλους τους βιοχημικούς, βιολόγους και τεχνολόγους που αποτελούν μέλη όλων των εργαστηρίων που συνεργάστηκα δηλαδή των Εργαστηρίων της Δ΄ Παθολογικής Κλινικής, του Εργαστηρίου Διαγνωστικής Κυτταρολογίας και του Εθνικού Εργαστηρίου Αναφοράς Γρίπης Νοτίου Ελλάδος του Ελληνικού Ινστιτούτου Παστέρ για την υποστήριξη αλλά και την καθημερινή επαφή που είχαμε αυτά τα τέσσερα χρόνια. Όμως ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να εκφράσω στους ιατρούς παθολόγους της Δ΄ Παθολογικής Κλινικής αλλά και στους ιατρούς των λοιπών ειδικοτήτων του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών «ΑΤΤΙΚΟΝ» που συνεργάστηκα σε καθημερινή βάση, καθότι κοινός μας σκοπός ήταν πάντα η αποτελεσματικότητα στην έγκαιρη διάγνωση με σκοπό την επιτυχή θεραπεία των ασθενών που είχαν προσβληθεί από λοιμώξεις του αναπνευστικού.

Οφείλω ωστόσο σε αυτό το σημείο να εκφράσω τις μέγιστες ευχαριστίες στον Επιβλέποντα Καθηγητή της Διδακτορικής μου Διατριβής τον Αναπληρωτή Καθηγητή Παθολογίας - Λοιμώξεων του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Κω Σωτήριο Τσιόδρα για την αποδοχή του να αναλάβει ως Επιβλέπων Καθηγητής στην ερευνητική μου εργασία. Χάρη στην αμέριστη υποστήριξή του σε καθημερινή βάση, στο καταπληκτικό κλίμα που διαμόρφωνε παρά τις δυσκολίες και τα εμπόδια που μπορεί να αντιμετωπίσαμε σε κάποιες φάσεις, μου έδωσε γνώση και δύναμη έτσι ώστε να ανταπεξέλθω και με το παραπάνω στις όποιες προκλήσεις. Χάρη στην άρτια επιστημονική του κατάρτιση θεωρώ ότι έμαθα να βελτιώνω τον εαυτό μου και να κунηγώ τη γνώση σε όλη μου τη ζωή από εδώ και στο εξής. Μου εμφύσησε την αγάπη για την Ιατρική και τον Άνθρωπο. Για μένα αποτελεί σημείο αναφοράς η συνεργασία αυτή γιατί είμαι βέβαιος ότι τέτοια εκπληκτική συνεργασία δεν θα μπορούσα να βιώσω σε αυτόν το βαθμό δίπλα σε άλλον Καθηγητή. Η φράση «Ιατρός και Άνθρωπος» είναι κομμένη και ραμμένη για τον Καθηγητή Ιατρικής Σωτήριο Τσιόδρα. Ευελπιστώ και είμαι σίγουρος για μια μόνιμη συνεργασία καθώς αισθάνομαι ευγνωμοσύνη για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και για το φιλικό περιβάλλον που διαμόρφωσε κατά τη διάρκεια εκπόνησης της έρευνάς μου.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της οικογένειάς μου δηλαδή τον πατέρα μου Αντώνιο Ανταλή και τη μητέρα μου Ελένη Αρβανίτου - Ανταλή για τη στήριξη τους όλα αυτά τα χρόνια σε ό,τι αφορά στην πραγματοποίηση των στόχων που είχα θέσει στη ζωή μου, αλλά και για την αγάπη τους. Ιδιαίτερος όμως θέλω να ευχαριστήσω τη μητέρα μου η οποία είναι ο άνθρωπος που από τότε που με έφερε στον κόσμο θυσιάζεται καθημερινά στην κυριολεξία έτσι ώστε να μην μου λείψει ποτέ τίποτα. Είναι ο άνθρωπος που μου δίνει δύναμη όλα αυτά τα χρόνια για να αντέχω σε όλα τα δύσκολα μονοπάτια της ζωής. Από τα σχολικά μου έτη μέχρι και τη διδακτορική μου διατριβή η μητέρα μου βρίσκεται πάντα δίπλα μου αγόγγυστα τιμώντας τον ιερό αυτό ρόλο της μητρότητας και με το παραπάνω. Είναι ο καταλύτης για όσους στόχους έχω καταφέρει να φέρω εις πέρας έως τώρα και για όσους θα ακολουθήσουν στη συνέχεια. Γι' αυτό και της αφιερώνω τη Διδακτορική μου Διατριβή με Άπειρη Αγάπη, Ευγνωμοσύνη και Σεβασμό. Είναι άλλωστε το ελάχιστο που θα μπορούσα να πράξω!

*Με τιμή,
Εμμανουήλ Α. Ανταλής*

Περιεχόμενα

1.	ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ.....	12
2.	ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	17
3.	ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ.....	19
4.	ΙΟΙ ΤΗΣ ΓΡΙΠΗΣ.....	22
4.1	Βασικές γνώσεις.....	22
4.2	Φυσική ανοσιακή απάντηση και κυτταροκίνες.....	26
5.	ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟΣ ΣΥΓΚΥΤΙΑΚΟΣ ΙΟΣ.....	40
5.1	Βασικές γνώσεις.....	40
5.2	Φυσική ανοσιακή απάντηση και κυτταροκίνες.....	42
6.	ΙΟΙ ΤΗΣ ΠΑΡΑΙΝΦΛΟΥΕΝΤΣΑΣ.....	51
6.1	Βασικές γνώσεις.....	51
6.2	Φυσική ανοσιακή απάντηση και κυτταροκίνες.....	54
7.	ΑΔΕΝΟΪΟΙ.....	57
7.1	Βασικές γνώσεις.....	57
7.2	Φυσική ανοσιακή απάντηση και κυτταροκίνες.....	59
8.	ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΙ ΜΕΤΑΠΝΕΥΜΟΝΟΪΟΙ.....	63
8.1	Βασικές γνώσεις.....	63
8.2	Φυσική ανοσιακή απάντηση και κυτταροκίνες.....	65
9.	ΒΟCΑVΙRUS.....	68
9.1	Βασικές γνώσεις.....	68
9.2	Φυσική ανοσιακή απάντηση και κυτταροκίνες.....	70
10.	ΡΙΝΟΪΟΙ.....	72
10.1	Βασικές γνώσεις.....	72
10.2	Φυσική ανοσιακή απάντηση και κυτταροκίνες.....	75
11.	ΚΟΡΟΝΑΪΟΙ.....	77
11.1	Βασικές γνώσεις.....	77
11.2	Φυσική ανοσιακή απάντηση και κυτταροκίνες.....	80
12.	ΕΝΤΕΡΟΪΟΙ.....	83
12.1	Βασικές γνώσεις.....	83
12.2	Φυσική ανοσιακή απάντηση και κυτταροκίνες.....	85
13.	ΠΡΩΤΟΚΟΛΟ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	88
13.1	Σκοπός.....	88
13.2	Μέθοδοι-διαδικασία.....	88
13.3	Στατιστική ανάλυση.....	89
13.4	Έγκριση επιστημονικού συμβουλίου.....	90
14.	ΠΡΩΤΗ ΜΕΛΕΤΗ (ΜΕΛΕΤΗ 1).....	91
14.1	Δημοσίευση.....	91

14.2	Εισαγωγή	91
14.3	Μέθοδοι και διαδικασίες	93
14.4	Αποτελέσματα	94
14.5	Συζήτηση-Συμπεράσματα.....	106
15.	ΜΕΛΕΤΗ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ ΤΗΣ Th17 ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ (ΜΕΛΕΤΗ 2).....	112
15.1	Δημοσίευση	112
15.2	Εισαγωγή	112
15.3	Μέθοδοι-Διαδικασίες.....	114
15.4	Αποτελέσματα	122
15.5	Συζήτηση-Συμπεράσματα.....	142
16.	ΠΕΡΙΛΗΨΗ	147
17.	ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ ΣΤΗΝ ΑΓΓΛΙΚΗ (SHORT SUMMARIES IN ENGLISH)	149
17.1	Short overall summary.....	149
17.2	Abstract of 1 st study.....	151
17.3	Abstract of 2 nd study	153
18.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ	155

1. ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Όνοματεπώνυμο : Εμμανουήλ Ανταλής
Όνομα Πατρός : Αντώνιος
Όνομα Μητρός : Ελένη
Εθνικότητα : Ελληνική
Ημερομηνία Γέννησης : 16-11-1985
Τόπος κατοικίας : Καλλιθέα Αττικής
Ηλεκτρονικό ταχυδρομείο : antalis.m@gmail.com
Οικογενειακή κατάσταση : Άγαμος

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

- Πτυχιούχος (2010) του τμήματος Χημείας του Εθνικού & Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών με βαθμό πτυχίου "ΛΙΑΝ ΚΑΛΩΣ" (6,54).
- Πτυχιούχος (2014) Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης Κλινικής Χημείας του Εθνικού & Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών με βαθμό πτυχίου "ΑΡΙΣΤΑ" (9,37).
- Υποψήφιος Διδάκτωρ Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών – Δ' Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική "ΠΓΝ Αττικών" (Από 2014 έως σήμερα).
- Κάτοχος απολυτηρίου με βαθμό **18,0** από το Αρσάκειο ενιαίο Λύκειο Ψυχικού.
- Εισαγωγή στο τμήμα Χημείας του ΕΚΠΑ ύστερα από επιτυχείς Πανελλήνιες Εξετάσεις το 2003 με σειρά εισαγωγής την 8^η θέση.

ΓΛΩΣΣΕΣ

- Ελληνικά, Αγγλικά

ΧΡΗΣΗ Η/Υ

- Βασικές έννοιες Πληροφορικής , Windows 8.1, Word, Excel, Isis Draw, Access, PowerPoint, Internet, Προγραμματισμός με Γλώσσα C, Πρόγραμμα Στατιστικής Επεξεργασίας Δεδομένων IBM SPSS Statistics.

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ

- Πρακτική εκπαίδευση στο Εργαστήριο Δεικτών Καρκίνου του Βιοχημικού Τμήματος του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών «Ο Ευαγγελισμός» κατά το εξάμηνο 1/2 – 1/7/2010 στα πλαίσια εκπόνησης της Πτυχιακής μου Εργασίας στον τομέα της Κλινικής Χημείας η οποία εγκρίθηκε με Άριστα "10" την 17/9/2010.
Τίτλος της πτυχιακής εργασίας είναι ο εξής:
«ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΝΕΑΣ ΑΝΟΣΟΧΗΜΙΚΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ(CMIA) ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΔΕΙΚΤΩΝ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΣΤΟ ΒΙΟΧΗΜΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ CEA, CA19-9, PSA ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΗ ΑΝΟΣΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟ (ΜΕΙΑ)»
- Εκτέλεση βιοχημικών αναλύσεων και πλήρης πρακτική εξάσκηση στους ανοσοχημικούς αναλυτές Architect 2000 SR (Abott) και Axsym (Abott) στη μέθοδο CMIA (Chemiluminescence Microparticle Immunoassay) και ΜΕΙΑ (Microparticle Enzyme Immunoassay) αντίστοιχα.
- Πρακτική εκπαίδευση στο Εργαστήριο Κυτταρομετρίας Ροής του Ανοσολογικού Τμήματος του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών «Ο Ευαγγελισμός» κατά το χρονικό διάστημα 30/10/2012 – 15/12/2013 στα πλαίσια εκπόνησης της Μεταπτυχιακής μου Εργασίας στον τομέα της Κλινικής Χημείας η οποία εγκρίθηκε με Άριστα "10" την 5/5/2014.

- Τίτλος της μεταπτυχιακής εργασίας είναι ο εξής:
«ΜΕΛΕΤΗ ΑΣΥΝΗΘΩΝ ΥΠΟΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΩΝ Τ-ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ»
- Πρακτική άσκηση στο Εργαστήριο Ιολογικού Ελέγχου του Τμήματος Αιμοδοσίας του Γενικού Νοσοκομείου Πειραιώς «Τζάνειο» κατά το χρονικό διάστημα 6/7 – 15/9/2012.
- Εργαστηριακή εκπαίδευση στο Εθνικό Εργαστήριο Αναφοράς Γρίπης Νοτίου Ελλάδος του Ελληνικού Ινστιτούτου Παστέρ στις μοριακές μεθόδους ανάλυσης με PCR κατά το χρονικό διάστημα 2015-2016.
- Λήψη ιατρικού ιστορικού ασθενών με πιθανή ιογενή λοίμωξη του αναπνευστικού, δειγματοληψία ρινοφαρυγγικού επιχρίσματος και ανάλυσή του με σκοπό την ανίχνευση αντιγόνου του ιού με τεχνικές ανοσοπροσδιορισμού στα πλαίσια της διδακτορικής μου διατριβής κατά τα έτη 2014-2018 στη Δ' Παθολογική Κλινική του Π.Γ.Ν «ΑΤΤΙΚΟΝ».
- Μελέτη και χρήση Ελληνικής, Αμερικάνικης & Αγγλικής βιβλιογραφίας.
- Πανεπιστημιακές εργασίες στα πλαίσια μαθημάτων του τμήματος Χημείας:
 - 1) Ανόργανες ενώσεις άνθρακα (C).
 - 2) Ηλεκτροχημική μέθοδος παραγωγής καρβονικών εστέρων ενολών ύστερα από εκλεκτική αντίδραση βρωμο αρυλο κετονών με τον χλωρο μηρυγκικό μεθυλεστέρα.
 - 3) Φάγος λ (Εργασία Μοριακής Βιολογίας).
 - 4) Γενετική Σχιζοφρένειας (Εργασία Γενετικής Ανθρώπου).
- Μέλος της Ένωσης Ελλήνων Χημικών (ΕΕΧ).
- Μέλος της Ελληνικής Εταιρείας Κλινικής Χημείας – Κλινικής Βιοχημείας (ΕΕΚΧ – ΚΒ).

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

- Παράδοση ιδιαιτέρων μαθημάτων Χημείας, Φυσικής, Βιολογίας & Μαθηματικών σε μαθητές Γυμνασίου και Λυκείου κατά τη διάρκεια της φοιτητικής μου διαδρομής.
- Βοηθός διδασκόντων εργαστηριακών τεχνικών στο Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας 2012-2013.
- Επιστημονικός Συνεργάτης στον τομέα της Παθολογίας Λοιμώξεων στη Δ' Παθολογική Κλινική του Π.Γ.Ν «ΑΤΤΙΚΟΝ» 2014-2018.
- Εκπλήρωση στρατιωτικών υποχρεώσεων 2010-2011.

ΣΥΝΕΔΡΙΑ

- Παρουσίαση αποσπάσματος της διδακτορικής μου διατριβής σε μορφή poster στο Συνέδριο Λοιμώξεων «Infectious Diseases Week 2015», San Diego CA – USA, 6-11 Οκτωβρίου 2015.
- Αναπαραγωγή αποσπάσματος της πτυχιακής μου εργασίας στο 9^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Χημείας, Αθήνα, 7-9 Οκτωβρίου 2010.
- Προφορική παρουσίαση περιστατικού και επιδημιολογικών δεδομένων με τίτλο «Θανατηφόρος Ανθρώπινη Αναπλάσμωση στην Ελλάδα» στο Συνέδριο «Σύγχρονα Θέματα Παθολογίας», Ορθοπαιδικό Κέντρο Έρευνας και Εκπαίδευσης «Π.Ν Σουκάκος», Π.Γ.Ν «ΑΤΤΙΚΟΝ», 1-3 Δεκεμβρίου 2016.
- Παρακολούθηση 2^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Φοιτητών Χημείας “Χημεία & Ποιότητα Ζωής”, Αθήνα, 18-20 Μαρτίου 2005.
- Παρακολούθηση 62^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Ελληνικής Εταιρείας Βιοχημείας & Μοριακής Βιολογίας, Αθήνα, 9-11 Δεκεμβρίου 2011.
- Παρακολούθηση 10^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Κλινικής Χημείας, Αθήνα, 19 – 20 Οκτωβρίου 2012.
- Παρακολούθηση Σεμιναρίου Κυτταρομετρίας Ροής “Ανάλυση Δεδομένων & Ερμηνεία”, Αθήνα, 2 Φεβρουαρίου 2013.

- Παρακολούθηση 1ης Ημερίδας Μεταπτυχιακών και Μεταδιδασκτόρων «ΒΡΑΔΙΑ ΕΡΕΥΝΗΤΗ», Ινστιτούτο Pasteur, Αθήνα, 24 Σεπτεμβρίου 2015.
- Παρακολούθηση 12^{ου} Μετεκπαιδευτικού Σεμιναρίου Λοιμώξεων με θέμα «Ορθολογική Χρήση Αντιβιοτικών στις Συνήθεις Λοιμώξεις», Αθήνα 4-5 Δεκεμβρίου 2015.
- Παρακολούθηση Επιστημονικής Ημερίδας με θέμα: «Διασυνδεδετική Νευρολογία: Εκεί όπου η Νευρολογία συναντά τις άλλες Ιατρικές Ειδικότητες», Αμφιθέατρο Π.Γ.Ν «ΑΤΤΙΚΟΝ», 30 Ιανουαρίου 2016.
- Παρακολούθηση 16^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Λοιμώξεων, Αθήνα 4-6 Μαρτίου 2016.
- Παρακολούθηση 13^{ου} Μετεκπαιδευτικού Σεμιναρίου Λοιμώξεων με θέμα «Επίκαιρα Θέματα», Αθήνα 18-19 Νοεμβρίου 2016.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

Journal Publications

1. **Aseptic abscess syndrome associated with traveler's diarrhea after a trip to Malaysia.**
Panos Z, Giannopoulos G, Papangeli E, **Antalis E**, Pavli A, Spathis A, Poulakou G, Dimitriadis G, Panayiotides I, Boumpas D, Tsiodras S.
ID Cases 2016 Sep 15;6:23-25.
2. **Antiviral susceptibility profile of influenza A viruses; keep an eye on immunocompromised patients under prolonged treatment.**
Kossyvakis A, Mentis AA, Tryfinopoulou K, Pogka V, Kalliaropoulos A, **Antalis E**, Lytras T, Meijer A, Tsiodras S, Karakitsos P, Mentis AF.
Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2017 Feb; 36 (2):361-371.
3. **Fatal human anaplasmosis associated with macrophage activation syndrome in Greece and the Public Health response.**
Tsiodras S, Spanakis N, Spanakos G, Pervanidou D, Georgakopoulou T, Campos E, Petra T, Kanellopoulos P, Georgiadis G, **Antalis E**, Kontos V, Giannopoulos LA, Tselentis Y, Papa A, Tsakris A, Saroglou G.
J Infect Public Health. 2017 Nov - Dec;10 (6):819-823.
4. **Mixed Viral Infections of the Respiratory Tract; an Epidemiological Study During Consecutive Winter Seasons.**
Antalis E, Oikonomopoulou Z, Kottaridi C, Kossyvakis A, Spathis A, Magkana M, Katsouli A, Tsagris V, Papaevangelou V, Mentis A, Tsiodras S.
J Med Virol. 2017 Dec 15.
5. **Th17 Serum Cytokines in Relation to Laboratory Confirmed Respiratory Viral Infection; a pilot study.**
Antalis E, Spathis A, Kottaridi C, Kossyvakis A, Pastellas K, Tsakalos K, Mentis A, Kroupis C, Tsiodras S.
J Med Virol. 2019 Feb 4.

Conference Proceedings

- 1. Comparative study of serum level determination of three tumour markers (CA 15-3, CA 125, CA 19-9) between the AXSYM and the ARCHITECT i2000SR immunochemical analysers.**
Kyriou L, Boni T, Vergenaki E, **Antalis E**, Psachoulia C, Pantziou C, Moustafellou A, Bekyros E, Gerovaggeli E, Vaslamatzis M, Jullien G.
Panhellenic conference of Clinical Chemistry, Athens, Greece; 10/2010 (Abstract)
- 2. Clinical & Molecular Epidemiology of Respiratory Viruses in a Tertiary Care Center During the 2009-2014 Consecutive Winter Seasons.**
Antalis E, Kottaridi C, Kossyvakis A, Magkana M, Spathis A, Z. Oikonomopoulou Z, Katsouli A, Perlepe C, Poulakou G, Mentis A, Papaevangelou V, Tsagris V, Kroupis C, Karakitsos P, Tsiodras S.
Infectious Diseases Week 2015, San Diego CA, USA; 10/2015 (Poster & Abstract)
- 3. Risk factors for late presentation over the last 6 years in Athens, Greece (2009-2015).**
Spanos A, Kavatha D, Protopapas K, Siakalis G, Argyropoulou M, Moschopoulos C, **Antalis E**, Fragkou, P, Melachrinopoulos N, Tsiodras S, Antoniadou A, Papadopoulos A.
International Congress of Drug Therapy in HIV Infection, Glasgow, UK; 10/2016 (Poster & Abstract)
- 4. Antibody binding Vs non-antibody binding regions: comparison of mutation rate in A(H3N2) viruses.**
Kossyvakis A, Pogka V, Kalliaropoulos A, Karagiannis I, **Antalis E**, Tsiodras S, Lytras T, Mentis A. F.
21st European Society for Clinical Virology (ESCV) Annual Meeting, Athens, Greece 9/2018 (Poster & Abstract)
- 5. Th17 cytokine profile in a study of the molecular epidemiology of respiratory viruses.**
Antalis E, Spathis A, Kottaridi C, Kossyvakis A, Mentis A, Kroupis C, Tsiodras S.
21st European Society for Clinical Virology (ESCV) Annual Meeting, Athens, Greece 9/2018 (Poster & Abstract)

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η γνώση της επιδημιολογίας των ιογενών λοιμώξεων του αναπνευστικού συστήματος είναι σημαντική για την ανάπτυξη προληπτικών μέτρων αντιμετώπισης τους. Η ανάπτυξη μοριακών μεθόδων για την ταυτοποίηση των αναπνευστικών ιών έχει οδηγήσει την τελευταία δεκαετία στην καλύτερη κατανόηση της κλινικής πορείας μιας λοίμωξης από συγκεκριμένο αναπνευστικό ιό. Μέχρι την εισαγωγή των νεότερων μοριακών τεχνικών στην κλινική πράξη είχε ευρέως υποεκτιμηθεί ο ρόλος των ιογενών λοιμώξεων σε λοιμώξεις του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος. Τελευταία αναγνωρίζεται πλειάδα ιών οι οποίοι μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές λοιμώξεις του αναπνευστικού [1, 2] (Πίνακας 1).

<i>Influenza A, B, and C viruses</i>	<i>Varicella-zoster virus</i>
<i>Respiratory syncytial virus</i>	<i>Hantavirus</i>
<i>Rhinovirus</i>	<i>Parechoviruses</i>
<i>Human metapneumovirus</i>	<i>Epstein-Barr virus</i>
<i>Parainfluenza viruses types 1, 2, 3, and 4</i>	<i>Human herpesvirus 6 and 7</i>
<i>Human bocavirus*</i>	<i>Herpes simplex virus</i>
<i>Coronavirus types 229E, OC43, NL63, HKU1, SARS</i>	<i>Mimivirus</i>
<i>Adenovirus</i>	<i>Cytomegalovirus†</i>
<i>Enteroviruses</i>	<i>Measles†</i>

Πίνακας 1. Ιοί οι οποίοι μπορεί να προκαλέσουν σοβαρές λοιμώξεις του αναπνευστικού και ιογενείς πνευμονίες. * κυρίως σε παιδιά † κυρίως σε αναπτυσσόμενες χώρες [2]

Περαιτέρω μέσω των νέων διαγνωστικών εργαλείων κατανοείται όλο και περισσότερο η πολυπλοκότητα της ανοσιακής απόκρισης σε ιογενείς λοιμώξεις του αναπνευστικού καθώς και η συσχέτιση της ανοσιακής απόκρισης του οργανισμού με τον συγκεκριμένο αναπνευστικό ιό από τον οποίο έχει προκύψει η αναπνευστική λοίμωξη [3]. Ο έλεγχος της απόκρισης του οργανισμού στις ιογενείς λοιμώξεις

του αναπνευστικού πραγματοποιείται με σημαντική συνέργεια και αλληλεπίδραση μεταξύ της φυσικής (innate) και της επίκτητης ανοσίας [4].

Στο Γενικό Μέρος της παρούσης διατριβής κατωτέρω θα αναφερθούν συνοπτικά δεδομένα για τις κυτταροκίνες καθώς και κύρια παραδείγματα από την επιδημιολογία και την ανοσιακή απάντηση του οργανισμού μετά από κύριες ιογενείς λοιμώξεις του αναπνευστικού.

Στο Ειδικό Μέρος θα παρουσιαστούν δεδομένα από μελέτη της επιδημιολογίας των ιών του αναπνευστικού με την χρήση νεότερων διαγνωστικών μεθόδων σε τριτοβάθμιο ακαδημαϊκό κέντρο καθώς και πιλοτική μελέτη της ανοσιακής απόκρισης σε επίπεδο Th17 κυτταροκινών.

3. ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ

Οι κυτταροκίνες αποτελούν μικρού μοριακού βάρους (5-20 kDa) διαλυτές πρωτεΐνες, πεπτίδια ή γλυκοπρωτεΐνες, που εκκρίνονται από τα κύτταρα τα οποία συμμετέχουν στους μηχανισμούς της ανοσιακής απόκρισης του οργανισμού και έχουν σημαντική λειτουργία στην μετάδοση σήματος μεταξύ των κυττάρων (cell signaling). Περιλαμβάνουν χημειοκίνες, ιντερφερόνες, ιντερλευκίνες, λεμφοκίνες και τον παράγοντα νέκρωσης των όγκων (tumor necrosis factor). Παράγονται από μία πλειάδα κυττάρων όπως τα μακροφάγα, τα Β λεμφοκύτταρα, τα Τ λεμφοκύτταρα, τα μαστοκύτταρα καθώς και τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τους ινοβλάστες [5]. Χαρακτηριστικές ιδιότητες των κυτταροκινών είναι: α) ο πλειοτροπισμός δηλαδή η επίδραση μιας δεδομένης κυτταροκίνης σε περισσότερα από ένα κύτταρα, β) ο πλεονασμός δηλαδή η επαγωγή της ίδιας λειτουργίας από διαφορετικές κυτταροκίνες, γ) η ειδικότητα του υποδοχέα κάθε κυτταροκίνης για διαφορετικά μόρια μετάδοσης σήματος παρά τις κοινές αλυσούς, δ) η συνέργεια, και ε) ο ανταγωνισμός για τις δράσεις τους [6]. Στον πίνακα 2 φαίνονται οι κύριες κατηγορίες κυτταροκινών ανάλογα με την δράση τους [6, 7]

Κατηγορία	Κύριες λειτουργίες	Κυτταροκίνες
Th1 κυτταροκίνες	Th1 απόκριση, κλωνική ανάπτυξη των CTL	IL-12, IL-18, IFN- γ
Th2 κυτταροκίνες	Th2 απόκριση, παραγωγή αντισωμάτων	IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, IL-33
Th17 κυτταροκίνες	Th17 απόκριση, αυτοανοσία	IL-17, IL-21, IL-22, IL-23, IFN- γ
Προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες	Αύξηση φλεγμονής, φυσική ανοσιακή απόκριση	IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α
Παράγοντες ανάπτυξης λεμφοκυττάρων	Κλωνική ανάπτυξη, πύλωση Th1, Th2, Th17	IL-2, IL-4, IL-7, IL-15, IL-17
Αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες	Μείωση φλεγμονής	IL-10, IL-13, IFN α/β , TGF- β
Αιμοποιητικές κυτταροκίνες	Αιμοποίηση, Προ- και αντιφλεγμονώδης δράση	IL-3, IL-7, G-CSF, GM-CSF
Ιντερφερόνες τύπου I	Αντι-ικική, MHC I, αντιφλεγμονώδης, αντιαγγειογενετική δράση	IFN- α , IFN- β
Ιντερφερόνες τύπου II	Ενεργοποίηση μακροφάγων, MHC II	IFN- γ

CTL: Κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα, IL: Ιντερλευκίνη, Th: T βοηθητικά, IFN: Ιντερφερόνη, MHC: Μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας, TNF: Παράγοντας νέκρωσης όγκου, GM-CSF: Παράγοντας διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων, G-CSF: Αυξητικός παράγοντας αποικιών κοκκιοκυττάρων

Πίνακας 2. Ταξινόμηση των κυτταροκινών σύμφωνα με την δράση τους [6].

Πιο συγκεκριμένα και σύμφωνα με πρόσφατη έγκυρη Ελληνική ανασκόπηση για τον ρόλο των κυτταροκινών στην λοίμωξη από τον ιό της ηπατίτιδας C οι κύριες κυτταροκίνες έχουν τις εξής δράσεις [6]:

- Οι Th1 κυτταροκίνες θεωρούνται ανοσορυθμιστικές και παράγονται από τα T βοηθητικά 1 ενεργοποιημένα λεμφοκύτταρα (T helper 1, Th1)
- Οι Th2 κυτταροκίνες παράγονται από τα T βοηθητικά 2 ενεργοποιημένα λεμφοκύτταρα (T helper 2, Th2) αναστέλλουν τις Th1 κυτταροκίνες, την αντιγονοπαρουσιαστική ικανότητα των μακροφάγων, ενώ επάγουν τον πολλαπλασιασμό των B κυττάρων και την παραγωγή αντισωμάτων.
- Οι Th17 κυτταροκίνες παράγονται από τα T βοηθητικά 17 (T helper 17, Th17) κύτταρα και είναι σημαντικές για τη διαφοροποίησή τους. Τα Th17 κύτταρα, χαρακτηρίζονται από την ικανότητα να εκκρίνουν τις κυτταροκίνες IL-17A (γνωστή ως IL-17), IL-17F, IL-21, IL-22 και IL-23 [8-10]. Η IL-17 έχει πέντε υποδοχείς, τον IL-17RA, τον IL-17RB, τον IL-17RC, τον IL-17RD και τον IL-17RE. Έχει τη δυνατότητα να ενεργεί σε ένα ευρύ φάσμα κυτταρικών στόχων. Οι IL-17 και IL-17F εκκρίνονται από τα ενεργοποιημένα CD4+ και CD8+ T-λεμφοκύτταρα, τα CD3+CD4-CD8- T κύτταρα, τα γδ T κύτταρα και τα πολυμορφοπύρρηνα. Αρχικά λειτουργούν ως προφλεγμονώδεις ρυθμιστές, επάγοντας την τοπική παραγωγή της IL-6, της προσταγλανδίνης E2 και του NO, και κυρίως «επανδρώνοντας» με μονοκύτταρα και ουδετερόφιλα την περιοχή της φλεγμονής [11, 12]. Η IL-17 σύμφωνα με πρόσφατα δεδομένα θεωρείται ισχυρός ρυθμιστής της αυτοάνοσης παθογένεσης διαφόρων φλεγμονωδών νοσημάτων [11, 12].

Συγκεκριμένες δράσεις και συμμετοχή των κυτταροκινών στην ανοσιακή απάντηση σε λοιμώξεις από αναπνευστικούς ιούς θα αναφερθούν κατωτέρω στο γενικό μέρος στην επιμέρους αναφορά σε κάθε αναπνευστικό ιό.

4. ΙΟΙ ΤΗΣ ΓΡΙΠΗΣ

4.1 Βασικές γνώσεις

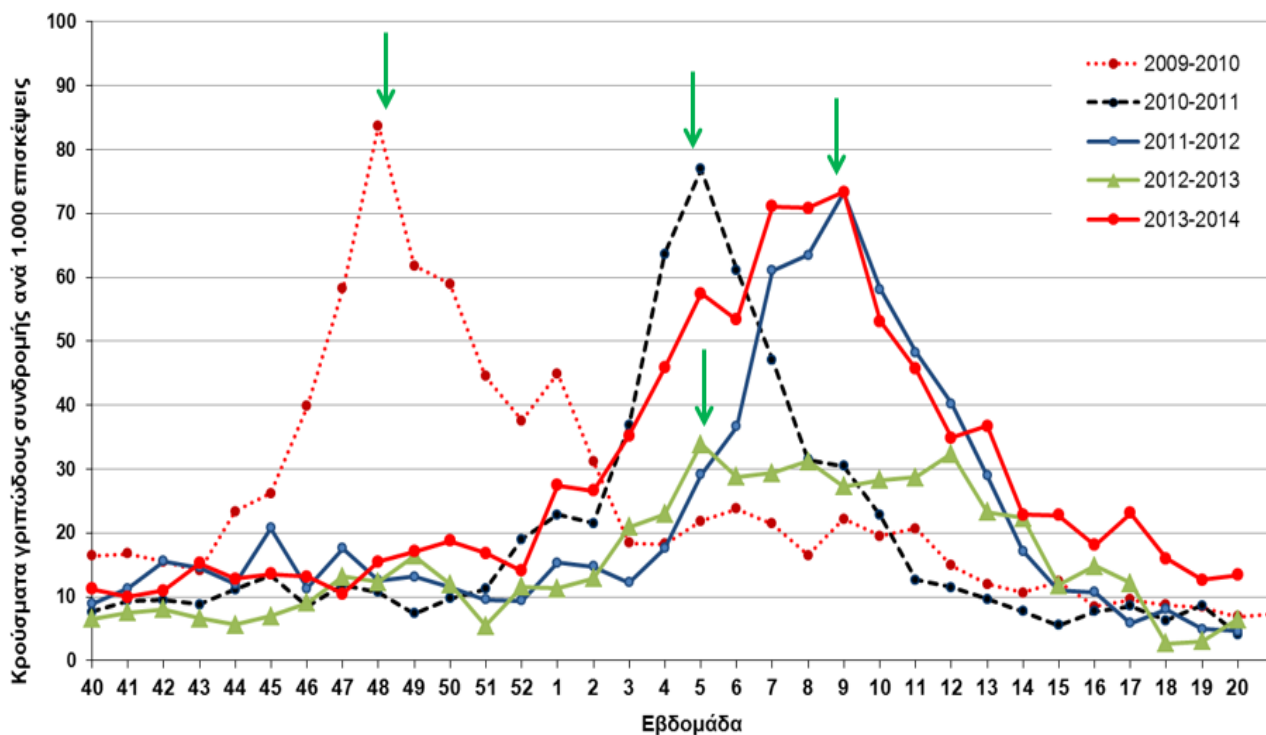
Ο ιός της γρίπης ανήκει στην οικογένεια Orthomyxoviridae, που χωρίζεται σε τρεις τύπους: γρίπη Α, Β και C. Μόνο η γρίπη Α και Β έχουν σημασία για την ιατρική επιστήμη. Ο τύπος Α μπορεί να μολύνει τα πτηνά, τους χοίρους και τους ανθρώπους, ενώ ο τύπος Β είναι υπεύθυνος μόνο για λοιμώξεις στον άνθρωπο.

Οι ιοί της γρίπης είναι υψηλής μεταδοτικότητας ιοί και είναι ευρέως διαδεδομένα παθογόνα που θέτουν σε κίνδυνο την υγεία του ανθρώπινου πληθυσμού σε ετήσια βάση κατά την διάρκεια του εποχικού κύματος γρίπης. Χαρακτηριστικά εμφανίζονται κάθε χρόνο την χειμερινή περίοδο εκτός από περιπτώσεις πανδημίας. Την περίοδο 2009-2010 που πρωτοεμφανίστηκε το στέλεχος A(H1N1)pdm09 η περίοδος κορύφωσης του κύματος γρίπης ήταν πολύ νωρίτερα από το αναμενόμενο για την Ελλάδα (Γράφημα/Εικόνα 1, δεδομένα για τα έτη 2009-2014, από το επιδημιολογικό σύστημα επιτήρησης της γρίπης, που λειτουργεί στο Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων, ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ., Υπουργείο Υγείας, Αθήνα).

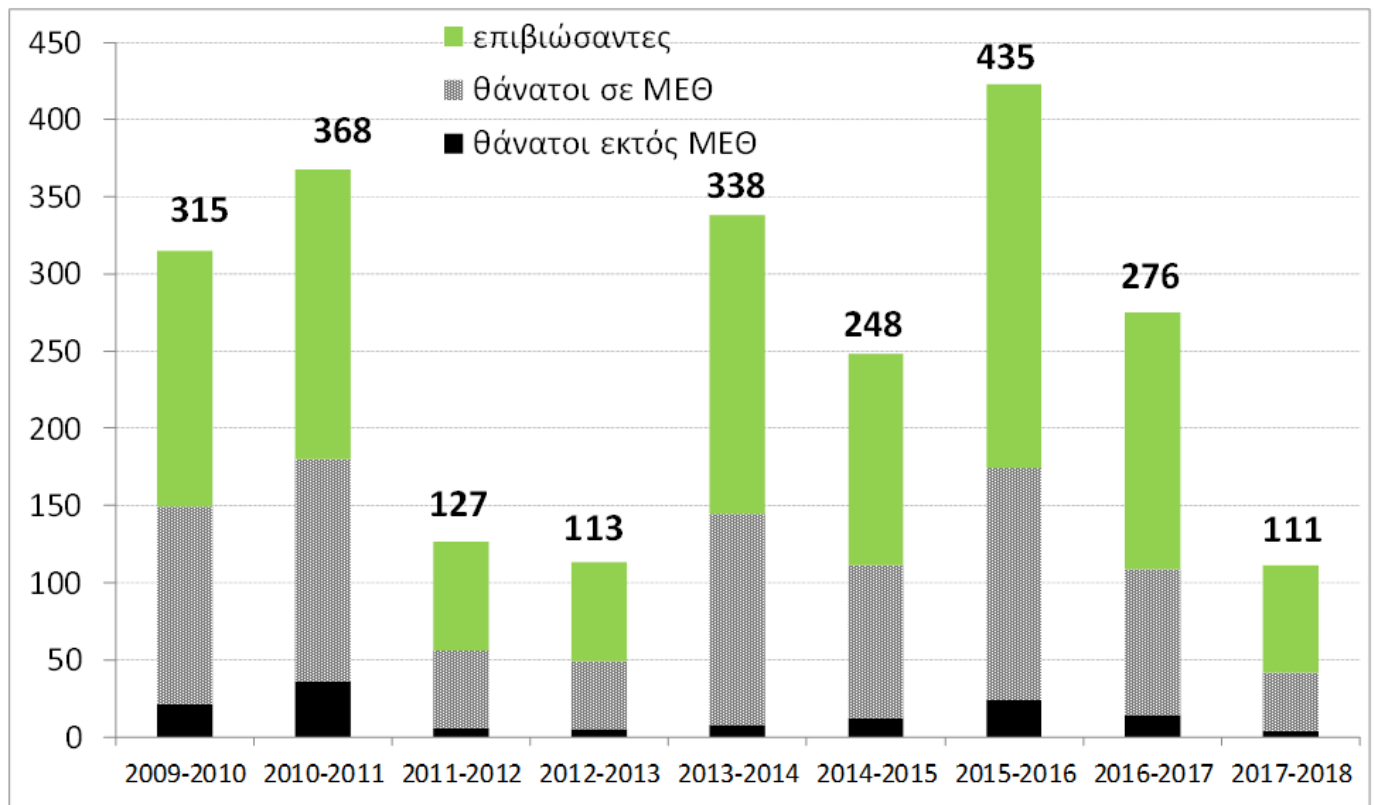
Οι ιοί της γρίπης προκαλούν από ελαφρές έως και σοβαρές λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος. Η σοβαρότητα της λοίμωξης από γρίπη μπορεί να κυμαίνεται από ασυμπτωματική νόσο έως και σοβαρότατη πρωτογενή ιική πνευμονία και θάνατο (Εικόνα 2, σύμφωνα με δεδομένα από το Ευρωπαϊκό Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων, ECDC).

Κάθε χρόνο περίπου 500 εκατομμύρια άνθρωποι μολύνονται και περίπου 500.000 άνθρωποι πεθαίνουν σε παγκόσμιο επίπεδο λόγω λοίμωξης από τον ιό της γρίπης τύπου Α [13]. Στην Ευρώπη το Ευρωπαϊκό Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (ECDC) εκτιμά πως στην Ευρωπαϊκή Ένωση νοσεί από γρίπη περίπου το 3-5% του πληθυσμού ετησίως, ενώ η γρίπη σχετίζεται με 40.000 θανάτους ετησίως. Κάθε έτος και σε διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές μπορεί να επικρατεί διαφορετικό στέλεχος γρίπης [14]. Χαρακτηριστικά την περίοδο 2017-18 στην Ευρωπαϊκή Ένωση επικράτησαν στελέχη ιού Β [14] ενώ στην Αμερική στελέχη του Α ιού και πιο συγκεκριμένα το στέλεχος Α H3N2 που σχετίστηκε και με ιδιαίτερα σοβαρή νόσο[15].

Στην Ελλάδα σύμφωνα με στοιχεία του ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ. κάθε χρόνο τα τελευταία 9 έτη, νοσηλεύονται περισσότεροι από 100 πολίτες σε Μονάδες Εντατικής Θεραπείας με γρίπη και επιπλοκές και καταγράφεται και σημαντικός αριθμός θανάτων (Γράφημα/Εικόνα 2).



Γράφημα/Εικόνα 1. Εκτίμηση κρουσμάτων γριπώδους συνδρομής ανά 1.000 επισκέψεις & εβδομάδα, Ελλάδα (2009-2014). Πηγή: σύστημα sentinel ΚΕΕΛΠΝΟ. Με τα πράσινα βέλη αναδεικνύεται η κορύφωση (peak) του κύματος της γρίπης. Χαρακτηριστική είναι η πρόιμη εμφάνιση της κορύφωσης του κύματος γρίπης την 1^η περίοδο κυκλοφορίας του πανδημικού στελέχους A H1N1pdm09



Γράφημα/Εικόνα 2. Καταγεγραμμένος αριθμός (με έντονη μαύρη γραμματοσειρά άνωθεν των στηλών του γραφήματος) νοσηλευόμενων ασθενών με γρίπη σε Μονάδες Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ) και αντίστοιχοι θάνατοι ασθενών με νοσηλεία με γρίπη εντός και εκτός ΜΕΘ, Ελλάδα (2009-2014). Η εικόνα κατασκευάστηκε με δεδομένα από τις επιδημιολογικές εκθέσεις γρίπης του γραφείου αναπνευστικών νοσημάτων του ΚΕΕΛΠΝΟ (<http://www.keelpno.gr>).

Στην επιφάνεια του φακέλου του ιού της γρίπης (viral envelope) αναγνωρίζονται, δύο τύποι πρωτεϊνικών προσεκβολών (spikes): η μία ονομάζεται αιμοσυγκολλητίνη (πρωτεΐνη Η) και η άλλη είναι νευραμινιδάση (πρωτεΐνη Ν) και οι δύο συμβάλλουν στην μολυσματικότητα του ιού. Η αιμοσυγκολλητίνη συμμετέχει σε διαδικασίες σύντηξης και προσκόλλησης στα κύτταρα του αναπνευστικού επιθηλίου ενώ η νευραμινιδάση μεσολαβεί στην απελευθέρωση του πρόσφατα συναρμολογημένου ιού από την κυτταρική επιφάνεια με αποκοπή υπολειμμάτων σιαλικού οξέος. Λόγω της μοναδική δομής που έχει ο ιός, διαθέτει κάποιους ειδικούς μηχανισμούς αναδιάταξης αυτών των πρωτεϊνικών τμημάτων ή και ολοκλήρων γονιδίων που ονομάζονται antigenic drift και antigenic shift και είναι γνωστές εδώ και δεκαετίες [16, 17de Jong, 1999 #24421]. Οι γονιδιακές αυτές αλλαγές αφορούν είτε: α) σημειακές μεταλλάξεις (point mutations) σε αντιγονικά σημαντικές θέσεις του ιικού γονιδιώματος οι οποίες προκαλούνται από την πίεση επιλογής από

την ανοσιακή απάντηση του ξενιστή (antigenic drift), είτε β) από την αντικατάσταση ολόκληρων γονιδίων από τον ένα υπότυπο γρίπης σε άλλο (antigenic shift). Η ταχεία ανάπτυξη μεταλλάξεων και γονδιακών αλλαγών του ιού οι οποίες είναι το αίτιο της συνεχούς έρευνας για την ανάπτυξη κατάλληλων εμβολίων για την πρόληψη της εμφάνισης της νόσου σε ετήσια βάση [18]. Η διαδικασία του antigenic shift παρατηρείται μόνο σε στελέχη γρίπης τύπου Α γιατί αυτό το στέλεχος έχει την ικανότητα να μολύνει πολλαπλά διαφορετικά είδη θηλαστικών και θεωρείται υπεύθυνη για την δημιουργία πανδημικών στελεχών. Πιο συγκεκριμένα 2 διαφορετικά στελέχη ιού (από διαφορετικούς ξενιστές π.χ. στέλεχος ανθρώπου – στέλεχος χοίρου) μολύνουν το ίδιο κύτταρο και κατά την διάρκεια συναρμολόγησης του ιικού σωματιδίου (virion) ανασυνδυάζουν μεγάλα τμήματα του γονιδιώματος με τελική κατάληξη την δημιουργία ενός νέου στελέχους γρίπης για το οποίο δεν υπάρχει ανοσία στον άνθρωπο. Το τελευταίο χαρακτηριστικό παράδειγμα ήταν η γρίπη Α H1N1pdm09 που εμφανίστηκε το 2009 στο Μεξικό, στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής και από εκεί επεκτάθηκε σε όλον τον σύγχρονο κόσμο [19-23].

Η έκταση της προσβολής σε ένα πληθυσμό εξαρτάται από την ευαισθησία (susceptibility) του πληθυσμού, το μέγεθος της αντιγονικής μεταβολής του ιού και το επίπεδο της ανοσίας αγέλης στον πληθυσμό (herd immunity). Η μετάδοση του ιού όπως και για τους υπόλοιπους αναπνευστικούς ιούς γίνεται κυρίως μέσω μεγάλων αναπνευστικών σταγονιδίων (large particle droplets) που εκπέμπονται κυρίως με τον βήχα και τον παρμό και σε συνδυασμό με στενή επαφή / συγχρωτισμό του προσβεβλημένου ατόμου με το ευπαθές άτομο [24, 25]. Η περίοδος επώασης είναι περίπου 2 ημέρες [26, 27], ενώ οι ασθενείς μπορεί να είναι μεταδοτικοί για αρκετές ημέρες [27] ιδιαίτερα τα μικρά παιδιά και οι ανοσοκατεσταλμένοι [28-32].

Σε πληθυσμούς ανοσοκατεσταλμένων διαπιστώνεται και υψηλότερη πιθανότητα αντοχής στα ειδικά αντιγριπικά φάρμακα τους αναστολείς νευραμινιδάσης [32-35]. Παρόμοια ευρήματα είχαμε και σε Ελληνική μελέτη από το Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ στην οποία είχα την τιμή να συμμετέχω κατά την διάρκεια εκπόνησης του παρόντος διδακτορικού και στα πλαίσια της εκπαίδευσης στην πραγματοποίηση τεχνικών πολυπλεκτικής αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) [36].

Η γρίπη εκδηλώνεται με ταχεία εμφάνιση πυρετού, κεφαλαλγίας, μυαλγίας και κακουχίας [37]. Το φάσμα εκδηλώσεων της νόσου κυμαίνεται από μια εικόνα παρόμοια με αυτή του κοινού κρυολογήματος

έως σοβαρή νόσο με ανάπτυξη πνευμονίας. Σε υγιείς ενήλικες είναι αυτό-περιοριζόμενη νόσος ενώ σε ασθενείς υψηλού κινδύνου (ασθενείς με χρόνιες συν-νοσηρότητες όπως καρδιαγγειακή νόσος, χρόνια πνευμονοπάθεια, ανοσοκατεσταλμένοι ασθενείς) μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρές επιπλοκές και θάνατο.

Η πιο συχνή επιπλοκή της γρίπης είναι η πρωτοπαθής ιογενής πνευμονία και η δευτεροπαθής βακτηριακή πνευμονία. Την υποπτευόμαστε επί μη υποχωρήσεως ή επιδείνωσης των συμπτωμάτων. Σε ασθενείς με πρωτοπαθή πνευμονία υπάρχει υψηλός πυρετός, δύσπνοια και κυάνωση [38]. Σε δευτεροπαθή βακτηριακή λοίμωξη συνήθως υπάρχει επιδείνωση της κλινικής εικόνας μετά από αρχική βελτίωση με εμφάνιση παραγωγικού βήχα, πυώδους απόχρεμψης και εστιακών πυκνώσεων στον απεικονιστικό έλεγχο. Το πιο συχνό παθογόνο είναι ο Στρεπτόκοκκος της πνευμονίας (*Streptococcus pneumoniae*) και ακολουθεί ο χρυσίζων σταφυλόκοκκος (*Staphylococcus aureus*) [39, 40]. Επιπρόσθετα η γρίπη ευθύνεται για εξάρσεις αναπνευστικής νόσου σε ασθενείς που πάσχουν από άσθμα ή από χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια [41-43], την επιδείνωση καρδιακής νόσου ακόμη και την εμφάνιση οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου σε πολύ πρόσφατες παρατηρήσεις [44, 45]. Άλλες επιπλοκές περιλαμβάνουν εκδηλώσεις από το κεντρικό νευρικό σύστημα όπως εγκεφαλίτιδα [46], εγκάρσια μυελίτιδα, άσηπτη μηνιγγίτιδα και συνδρόμου Guillain-Barre [47-50] και άλλες εκδηλώσεις από το καρδιαγγειακό όπως μυοκαρδίτιδα και περικαρδίτιδα [51-54].

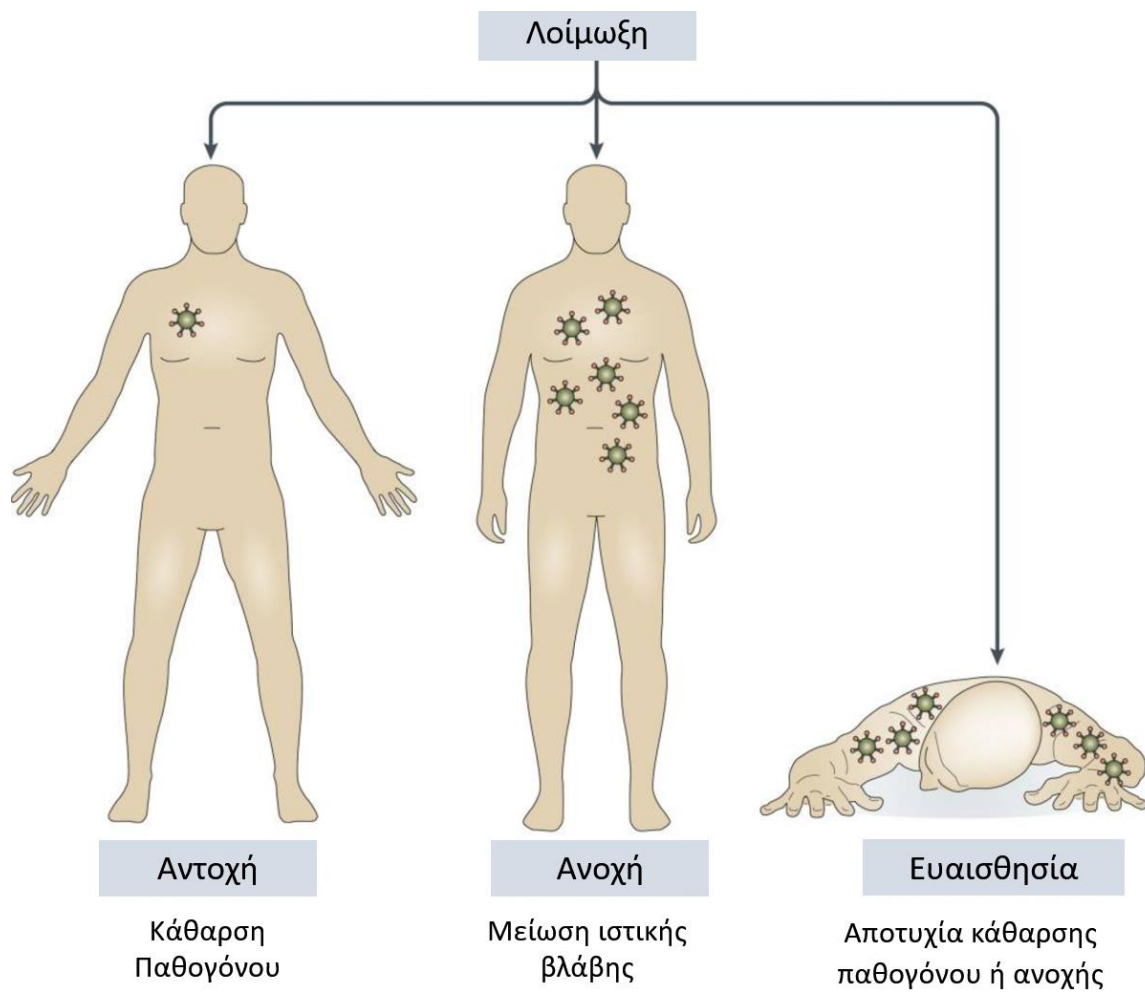
Η διάγνωση της γρίπης γίνεται συνήθως με την κλινική εικόνα της γριπώδους συνδρομής (βήχας και εμπύρετο) την χειμερινή περίοδο. Τα τελευταία έτη έχουν καθιερωθεί στην κλινική πράξη ταχείες διαγνωστικές δοκιμασίες (Point-of-care tests ή POC) ενώ φαίνεται να υπερέχουν τα POC που βασίζονται σε τεχνικές PCR [55, 56].

Θεραπευτικά χρησιμοποιούνται κυρίως οι αναστολείς νευραμινιδάσης οσελταμιβίρη, ζαναμιβίρη και περαμιβίρη (όπου είναι διαθέσιμη) [57] λόγω της ανάπτυξης αντοχής στις αδαμαντάνες αμανταδίνη και ριμανταδίνη[58].

4.2 Φυσική ανοσιακή απάντηση και κυτταροκίνες

Η φυσική ανοσιακή απάντηση στον ιό της γρίπης έχει πρόσφατα ανασκοπηθεί [59]. Ο οργανισμός μετά την λοίμωξη μέσω της φυσικής ανοσίας θα φτάσει σε μία από 3 καταστάσεις: α) αντοχή (Resistance) δηλαδή κάθαρση παθογόνου, β) ανοχή (tolerance) δηλαδή μια μειωμένη συμβίωση με στόχο τον περιορισμό

της ιστικής βλάβης και γ) την ευαισθησία (susceptibility) στο παθογόνο η οποία είναι η κατάληξη της αποτυχίας των 2 προηγούμενων μηχανισμών. (Γράφημα/Εικόνα 3).



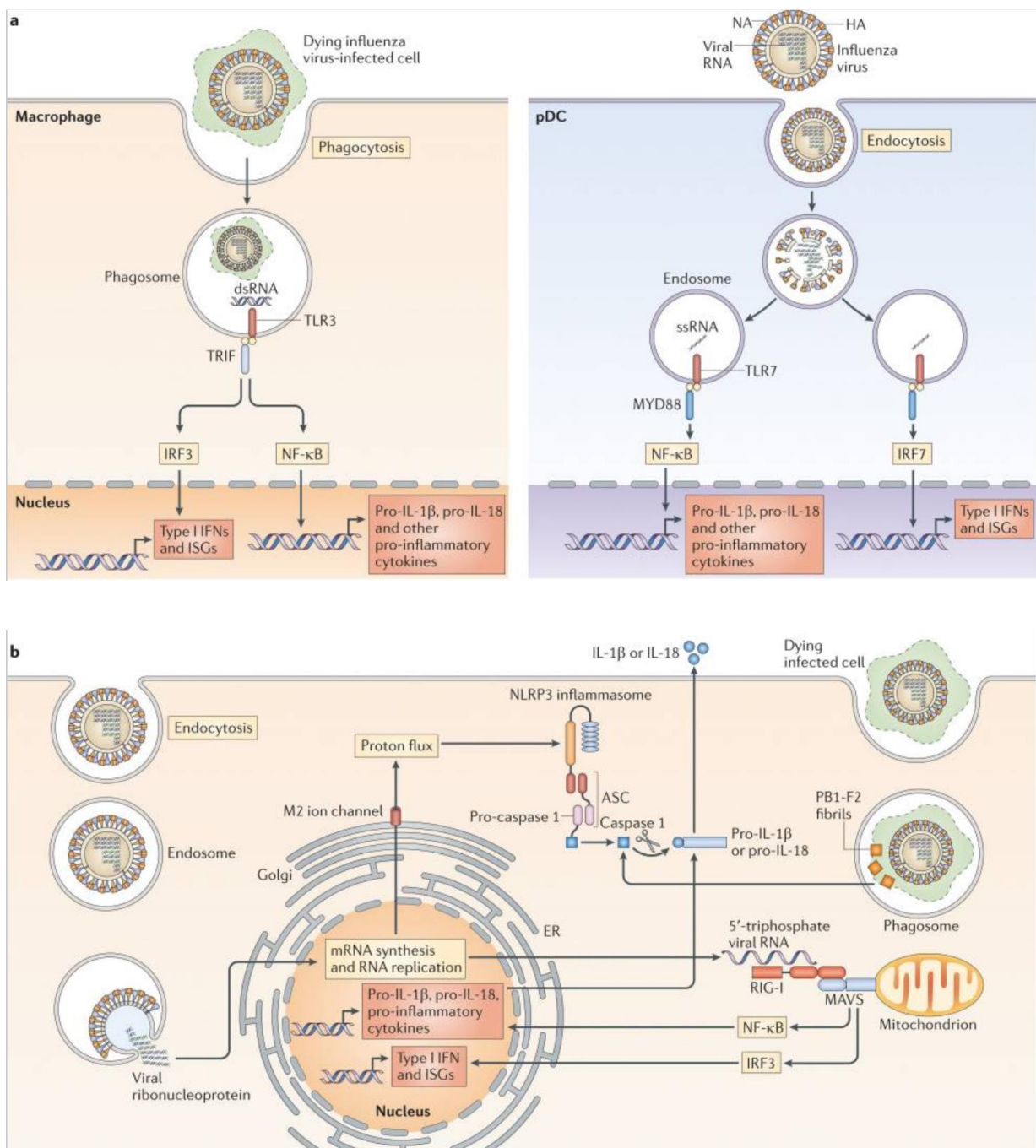
Γράφημα/Εικόνα 3. Αντι-ικική αντοχή (*Resistance*) και ανοχή (*tolerance*) από Iwasaki A et al[59].

Μετά την μόλυνση ενός κυττάρου πολλαπλοί μηχανισμοί της φυσικής ανοσίας εμπλέκονται στην ανοσιακή απόκριση (Γράφημα/Εικόνα 4α και 4 β) [59]. Το RNA του ιού της γρίπης μετά την μόλυνση ενός ανθρώπινου κυττάρου αναγνωρίζεται από ειδικούς υποδοχείς (pattern recognition receptors) και κινητοποιείται η φυσική ανοσιακή απάντηση και η έκκριση χημειοκινών και κυτταροκινών [4, 59, 60]. Σε μια αλληλουχία γεγονότων, γειτονικά ανοσιακά κύτταρα ενεργοποιούν τον ειδικό παράγοντα transforming growth factor- β από την λανθάνουσα μορφή και οδηγούν σε περαιτέρω έκκριση χημειοκινών και ιντελευκινών από παρεγχυματικά και φλεγμονώδη κύτταρα [59]. Στην αρχική φάση της ανοσιακής απάντησης είναι κρίσιμης σημασίας ο ρόλος των προφλεγμονωδών κυτταροκινών μελών της υπέρ-οικογένειας της ιντερλευκίνης 1 (IL-1 superfamily) δηλαδή κυτταροκίνες όπως η IL-1 β και IL-18 από

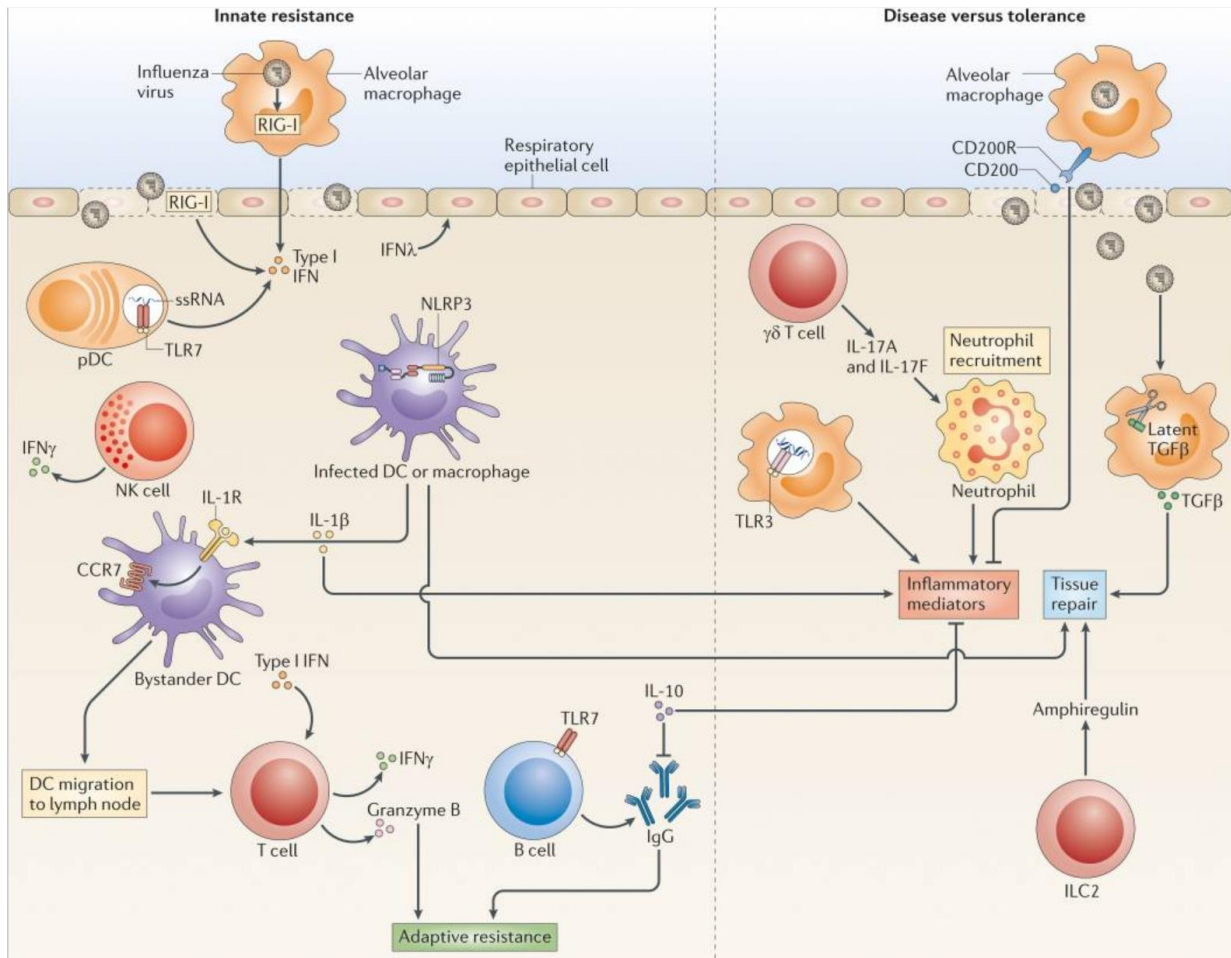
μολυσμένα μακροφάγα και δενδριτικά κύτταρα (dendritic cells - DCs). Η ενεργοποίηση ρυθμιστικών γονιδίων της φλεγμονής, της ανοσιακής απάντησης και της απόπτωσης όπως του NLRP3 φλεγμονοσώματος [pyrin domain containing protein 3 (NLRP3) inflammasome] προκαλεί την παραγωγή κυτταροκινών. Επιπρόσθετα τύπου I και III ιντερφερόνες (type I and type III interferons) εκκρίνονται τόσο από μολυσμένα όσο και από πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα (plasmacytoid dendritic cells) για να παρεμποδίσουν τον πολλαπλασιασμό του ιού. Ταυτόχρονα Β λεμφοκύτταρα εκκρίνουν αντισώματα ως μεσολαβητές της επίκτητης ανοσιακής απάντησης (adaptive immune response) [59]. Το τελικό αποτέλεσμα είναι είτε «αντοχή του ξενιστή» (host resistance) ή «ανοχή» (tolerance) η οποία προάγει την επούλωση των ιστών (tissue repair) (Γράφημα/Εικόνα 4α και 4β και Γράφημα/Εικόνα 5) [59].

Αναλυτική περιγραφή των κυτταρικών αλληλεπιδράσεων και των μηχανισμών των εμπλεκόμενων στη φυσική ανοσία έναντι της λοίμωξης με την γρίπη και την ανάπτυξη αντοχής ή ανοχής σύμφωνα με τους Iwasaki A et al. Επιδεικνύεται στο Γράφημα/Εικόνα 5.

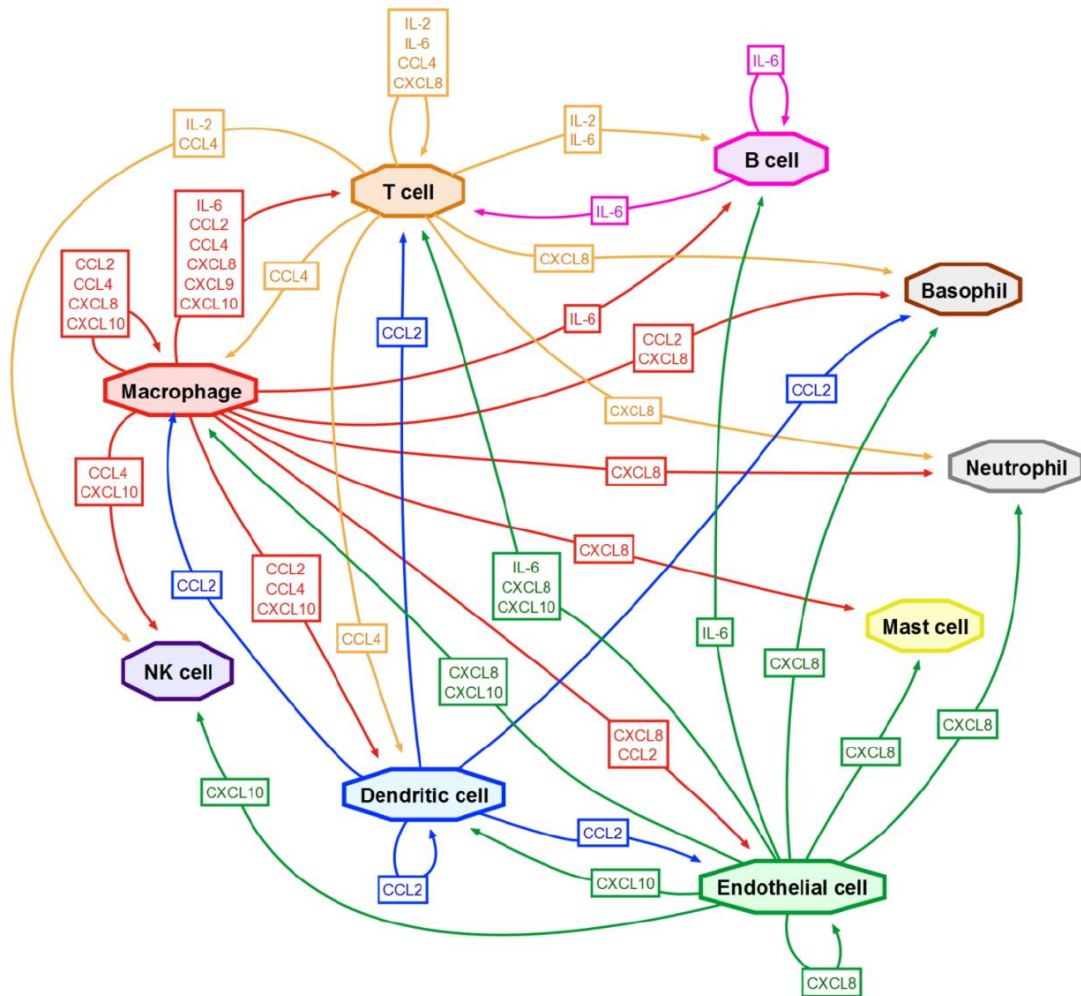
Ο καταρράκτης των φλεγμονωδών κυτταροκινών είναι υπεύθυνος για τα ποικίλα κλινικά συμπτώματα της γριπώδους συνδρομής. Εκτός από το κλινικό σύνδρομο η διάρκεια και η έκταση της φλεγμονώδους απάντησης μπορεί να οδηγήσει σε περαιτέρω παθολογία στο τοπικό ιστικό επίπεδο. Αναλυτική περιγραφή των εμπλεκόμενων κυτταροκινών στην ανοσιακή απάντηση στην γρίπη έχει πολύ πρόσφατα δημοσιευθεί [61]. Ένα πολύπλοκο δίκτυο κυτταρικών αλληλεπιδράσεων και έκκρισης κυτταροκινών που εκκρίνονται στην ανοσιακή απάντηση έναντι της λοίμωξης από τον ιό της γρίπης και έχουν συσχετισθεί με την βαρύτητα της νόσου και θανατηφόρα έκβαση τόσο σε ανθρώπους όσο και στα πτηνά επιδεικνύεται στο Γράφημα/Εικόνα 6, σύμφωνα με τους Betakova T et al [61].



Γράφημα/Εικόνα 4α & 4β. Φυσική ανοσιακή απάντηση στην λοίμωξη από τον ιό της γρίπης, από Iwasaki A et al[59].



Γράφημα/Εικόνα 5. Αναλυτική περιγραφή των κυτταρικών αλληλεπιδράσεων και των μηχανισμών των εμπλεκόμενων στη φυσική ανοσία έναντι της λοίμωξης από τον ιό της γρίπης και την ανάπτυξη ανοχής ή ανοχής, από Iwasaki A et al [59].



Γράφημα/Εικόνα 6. Αναλυτική περιγραφή των κυτταρικών αλληλεπιδράσεων και των κυτταροκινών που εκκρίνονται στην ανοσιακή απάντηση έναντι της λοίμωξης από τον ιό της γρίπης και έχουν συσχετισθεί με την βαρύτητα της νόσου και τη θανατηφόρα έκβαση τόσο σε ανθρώπους όσο και σε ιούς της γρίπης των πτηνών, από *Betakova T et al [61]*.

Ο ρόλος της κάθε κυτταροκίνης σε σχέση με τον κυτταρικό πληθυσμό από τον οποίο αυτή παράγεται, τους κυτταρικούς στόχους, τις βιολογικές επιδράσεις και τυχόν αρνητικές επιδράσεις κατά την ανοσιακή απάντηση στην λοίμωξη από τον ιό της γρίπης αναδεικνύεται στον πίνακα 3 (βάσει προσφάτου ανασκοπήσεως από την διεθνή βιβλιογραφία [61]).

Κυτταροκίνη	Κύτταρο/α προέλευσης	Κύτταρο/α στόχος & δράσεις	Αρνητικός ρόλος σε λοίμωξη από ιό γρίπης
IL-2	T λεμφοκύτταρα	<ul style="list-style-type: none"> • Επάγει αύξηση ειδικών για το αντιγόνο κλώνων T-κυττάρων • Ενισχύει την παραγωγή κυτταροκινών από T και NK κύτταρα • Ενισχύει την χυμική ανοσία από B κύτταρα 	<ul style="list-style-type: none"> • A H1N1pdm09 – σχέση με βαρύτητα νόσου [62]& εγκεφαλοπάθεια [63] • A H7N9 – συσχέτιση με βαρύτητα νόσου [62, 64]
IL-6	Μακροφάγα, ενδοθηλιακά κύτταρα, T/B κύτταρα	<ul style="list-style-type: none"> • Πολλαπλασιασμός κυττάρων που παράγουν αντισώματα • Ανάπτυξη ή αναστολή ειδικών πληθυσμών δραστικών T κυττάρων (effector T cells) • Σύνθεση πρωτεϊνών οξείας φάσης 	<ul style="list-style-type: none"> • A H1N1pdm09 – συσχέτιση με βαρύτητα νόσου [65-67] & εγκεφαλοπάθεια [63] • Ανάπτυξη παθολογίας [66] • Συσχέτιση με πυρετό, ταχύπνοια, υποξαιμία [65, 68, 69] • A H7N9 - συσχέτιση με βαρύτητα νόσου [62, 64]
IL-10	Μακροφάγα, μαστοκύτταρα, T/B κύτταρα (ρυθμιστής)	<ul style="list-style-type: none"> • Περιορίζει την έκφραση των MHC II & των συνδιεγερτικών μορίων στα μακροφάγα και στα δενδριτικά κύτταρα • Διέγερση μαστοκυττάρων & T κυττάρων • Προάγει την ωρίμανση των B κυττάρων 	<ul style="list-style-type: none"> • A H1N1pdm09 – συσχέτιση με βαρύτητα νόσου [65-67] & εγκεφαλοπάθεια [63]

IL-13	CD4+ T cells (Th2), NKT κύτταρα, μαστοκύτταρα, group 2 φυσικά λεμφοειδή κύτταρα	<ul style="list-style-type: none"> • Αλλαγή ισοτύπων & παραγωγή IgE από B κύτταρα • ↑ παραγωγής βλέννας από επιθηλιακά κύτταρα & σύνθεσης κολλαγόνου από ινοβλάστες • Εναλλακτική ενεργοποίηση μακροφάγων 	<ul style="list-style-type: none"> • A H1N1pdm09 – συσχέτιση με εγκεφαλοπάθεια [63]
IL-15	Μακροφάγα, δενδριτικά κύτταρα, άλλοι κυτταρικοί πληθυσμοί	<ul style="list-style-type: none"> • Αλλαγή ισοτύπων & παραγωγή IgE από B κύτταρα • ↑ παραγωγής βλέννας από επιθηλιακά κύτταρα & σύνθεσης κολλαγόνου από ινοβλάστες • Εναλλακτική ενεργοποίηση μακροφάγων 	<ul style="list-style-type: none"> • A H1N1pdm09 – συσχέτιση με βαρύτητα νόσου [66] • Συσχέτιση με οξεία βλάβη στον πνεύμονα σε γρίπη τύπου A [70]
IL-16	CD4+ & CD8+ κύτταρα, επιθηλιακά κύτταρα	<ul style="list-style-type: none"> • Ρυθμιστής της ενεργοποίησης των T κυττάρων • Διεγείρει την μετανάστευση των CD4+ κυττάρων, μονοκυττάρων & ηωσινοφίλων 	<ul style="list-style-type: none"> • A H7N9 – συσχέτιση με βαρύτητα νόσου [71-76]
IL-17	T κύτταρα	<ul style="list-style-type: none"> • Ισχυρός ενεργοποιητής των ουδετεροφίλων • Επάγει την φλεγμονώδη απάντηση των ουδετεροφίλων και των μονοκυττάρων 	<ul style="list-style-type: none"> • A H7N9 – συσχέτιση με βαρύτητα νόσου [62, 64]

SCF (MGF)	Πολυδύναμα μεσεγχυματικά κύτταρα (stem cells)	<ul style="list-style-type: none"> • Διεγείρει την επιβίωση & πολλαπλασιασμό των προγόνων κυττάρων της μυελοειδούς, ερυθράς, και λεμφικής σειράς σε κυτταρικές καλλιέργειες μυελού των οστών • Επάγει την διαφοροποίηση των μαστοκυττάρων 	<ul style="list-style-type: none"> • Α H7N9 – συσχέτιση με βαρύτητα νόσου [62, 64]
IFN-α/β	Πλασμακυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα, μακροφάγα, ενδοθηλιακά κύτταρα, NK κύτταρα, B/T κύτταρα, ινοβλάστες	<ul style="list-style-type: none"> • Επάγει μια «αντι-ικη κατάσταση» στο κύτταρα • ↑ έκφραση τάξεως I MHC • Ρύθμιση αντι-ικών αποκρίσεων από T- κύτταρα • Ενεργοποίηση NK/B κυττάρων • Διέγερση μακροφάγων 	<ul style="list-style-type: none"> • Α H1N1pdm09 – συσχέτιση με βαρύτητα νόσου [67] • Καταστολή της Th17 απόκρισης [77] • ↓ των CCL2 & IL-17 , ↑ ευαισθησία σε 2-γενείς βακτηριακές λοιμώξεις[78-80]
IFN-γ	T κύτταρα (Th1, CD8+ T κύτταρα), NK κύτταρα	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ έκφραση τάξεως I & II MHC μορίων • Ενίσχυση της επεξεργασίας αντιγόνου (antigen processing) & παρουσίασης στα T κύτταρα • Κλασική ενεργοποίηση μακροφάγων (ενίσχυση μικροβιοκτόνων λειτουργιών) 	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ των CD8+ T κυττάρων στον πνεύμονα [81] • ↓ των κυττάρων μνήμης[82] • Αναστολή της έκφρασης του υποδοχέα MARCO των κυψελιδικών μακροφάγων [83]

		<ul style="list-style-type: none"> • Προαγωγή των κυτταροτοξικών κυττάρων και της Th1 διαφοροποίησης 	
IFN-λ	Δενδριτικά κύτταρα	<ul style="list-style-type: none"> • Επάγει την «αντι-ική» κατάσταση (antiviral state) 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ ευαισθησίας σε δευτερογενείς βακτηριακές λοιμώξεις του κατώτερου αναπνευστικού [84]
TNF-α	μακροφάγα, CD4+ T κύτταρα, NK κύτταρα, ουδετερόφιλα, μαστοκύτταρα, ηωσινόφιλα, νευρώνες	<ul style="list-style-type: none"> • Ρύθμιση του πολλαπλασιασμού των κυττάρων, διαφοροποίηση, απόπτωση, μεταβολισμός λιπιδίων & διαδικασία πήξης • Διέγερση ενδοθηλιακών κυττάρων, T κυττάρων & ουδετεροφύλων • Διαφοροποίηση μακροφάγων • Ρύθμιση δράσεως των B κυττάρων 	<ul style="list-style-type: none"> • A H1N1pdm09 – συσχέτιση με εγκεφαλοπάθεια [63]
CCL2 (MCP-1)	Μονοκύτταρα, μακροφάγα, δενδριτικά κύτταρα	<ul style="list-style-type: none"> • Ανάπτυξη πολωμένης (polarized) Th2 απόκρισης • Προσέλκυση μικτών πληθυσμών λευκοκυττάρων • Χημειοταξία για δενδριτικά κύτταρα, μονοκύτταρα & βασεόφιλα 	<ul style="list-style-type: none"> • A H1N1pdm09 – συσχέτιση με βαρύτητα νόσου [65, 66] • A H3N2 & AH5N1 – συσχέτιση με παθογένεια & θνητότητα [3, 85-89]

CCL4 (MIP-1β)	μακροφάγα, CD8+ T κύτταρα	<ul style="list-style-type: none"> • «Στρατολόγηση» (recruitment) T κυττάρων, δένδριτικών κυττάρων, μονοκυττάρων & NK 	<ul style="list-style-type: none"> • A H1N1pdm09 – συσχέτιση με βαρύτητα νόσου [66] • A H3N2 & AH5N1 – συσχέτιση με παθογένεια & σοβαρότητα νόσου [85-88]
CCL7 (MCP-3)	Μακροφάγα, κακοήθεις κυτταρικές σειρές	<ul style="list-style-type: none"> • Προσέλκυση μικτών πληθυσμών λευκοκυττάρων • Ρυθμιστής της οξείας ουδετεροφιλικής φλεγμονής στον πνεύμονα 	<ul style="list-style-type: none"> • A H1N1pdm09 – συσχέτιση με βαρύτητα νόσου [67]
CXCL8 (IL-8)	Μακροφάγα, επιθηλιακά κύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα	<ul style="list-style-type: none"> • Μεσολαβητής (mediator) για την φλεγμονώδη απόκριση • Προσέλκυση/χημειοταξία ουδετεροφίλων, βασεοφίλων & T-κυττάρων • Ρυθμιστής της λειτουργίας των μακροφάγων, των ενδοθηλιακών κυττάρων και των μαστοκυττάρων 	<ul style="list-style-type: none"> • A H1N1pdm09 – συσχέτιση με βαρύτητα νόσου [66] & εγκεφαλοπάθεια [63] • A H5N1 – συσχέτιση με παθογένεια & θνητότητα [3, 85-89]
CXCL9 (MIG)	Κυψελιδικά μακροφάγα	<ul style="list-style-type: none"> • Επαγομένη από IFN χημειοταξία T-κυττάρων • Δράση στην ανάπτυξη, κίνηση και ενεργοποίηση κυττάρων που συμμετέχουν στην φλεγμονώδη απόκριση 	<ul style="list-style-type: none"> • A H1N1pdm09 – συσχέτιση με βαρύτητα νόσου [66] • AH3N2 – συσχέτιση με παθογένεια [85-88] • A H5N1 – συσχέτιση με παθογένεια[85-88] & θνητότητα [3, 85, 86, 89]

<p>CXCL10 (IP-10)</p>	<p>Κυψελιδικά μακροφάγα, μονοκύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα, ινοβλάστες, άλλοι κυτταρικοί πληθυσμοί</p>	<ul style="list-style-type: none"> • «Επιστράτευση» (recruitment) effector T-κυττάρων • Χημειοταξία για T-κύτταρα, μακροφάγα & δενδριτικά κύτταρα • Διέγερση μονοκυττάρων, NK κυττάρων, μετανάστευσης T-κυττάρων & τροποποίηση/ρύθμιση έκφρασης προσκολλητικών μορίων (adhesion molecules) 	<ul style="list-style-type: none"> • A H1N1pdm09 – συσχέτιση με βαρύτητα νόσου [65-67] & ανάπτυξη παθολογο-ανατομικών αλλοιώσεων [63, 66] • AH3N2 – συσχέτιση με παθογένεια [85-88] • A H5N1 – συσχέτιση με παθογένεια[85-88] & θνητότητα [3, 85, 86, 89]
<p>CXCL11</p>	<p>Επιθηλιακά κύτταρα, περιφερικά λευκοκύτταρα</p>	<ul style="list-style-type: none"> • «Επιστράτευση» (recruitment) T-κυττάρων, NK κυττάρων & μακροφάγων στην θέση της φλεγμονής 	<ul style="list-style-type: none"> • A H7N9 – συσχέτιση με βαρύτητα νόσου [71-76]

Πίνακας 3. Ο ρόλος της κάθε κυτταροκίνης σε σχέση με τον κυτταρικό πληθυσμό από τον οποίο αυτή παράγεται, τους κυτταρικούς στόχους, τις βιολογικές επιδράσεις και τυχούσες αρνητικές επιδράσεις κατά την ανοσιακή απάντηση έναντι της λοίμωξης από τον ιό της γρίπης (τροποποιημένο βάσει πρόσφατης ανασκόπησης από την διεθνή βιβλιογραφία από Betakona T et al [61]).

Παρά το ότι δεν έχουν συσχετισθεί ξεκάθαρα με την ανοσιακή απόκριση σε ιογενείς λοιμώξεις τα Th17 κύτταρα (Th17 cells) ίσως διαδραματίζουν ένα σημαντικό ρόλο στην διατήρηση του βλεννογονικού φραγμού και συμμετέχουν στην κάθαρση του παθογόνου (pathogen clearance) στις βλεννογονικές επιφάνειες. Υπάρχει περιορισμένη διαθέσιμη πληροφορία για τον ρόλο της ανοσιακής απάντησης σε επίπεδο της οδού της ιντερλευκίνης 17 (interleukin-17 pathway) στην απόκριση του ανθρώπινου ξενιστή σε μια λοίμωξη από αναπνευστικό ιό. Σε πειραματικά δεδομένα οι Th17 κυτταροκίνες θεωρείται ότι σχετίζονται με τροποποίηση της φλεγμονής και ίσως βοηθούν στην κάθαρση από τον οργανισμό του ιού της γρίπης [90]. Άλλοι ερευνητές έχουν προτείνει πως το μονοπάτι της Th17 αυξάνει την σοβαρότητα της νόσου σε πειραματικά μοντέλα γρίπης [91]. Επίσης περιορισμένα δεδομένα έχουν συσχετίσει μια υπερβολική συστηματική απόκριση των Th1 και Th17 αποκρίσεων σε σοβαρή νόσο με αναπνευστική συμμετοχή σε ασθενείς που έπασχαν από γρίπη με το πανδημικό στέλεχος A H1N1pdm09 strain [92].

Ένας από τους κύριους στόχους της παρούσας διατριβής ήταν η μελέτη του ρόλου της Th17 ανοσιακής απάντησης σε περιστατικά με επιβεβαιωμένη ιογενή λοίμωξη του αναπνευστικού και ιδιαίτερα γρίπη καθώς και η σύγκριση της ανοσιακής απάντησης σε επίπεδο Th17 κυτταροκινών μεταξύ γρίπης και άλλων ιών που προσβάλλουν το αναπνευστικό σύστημα.

5. ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟΣ ΣΥΓΚΥΤΙΑΚΟΣ ΙΟΣ

5.1 Βασικές γνώσεις

Ο αναπνευστικός συγκυτιακός ιός (RSV) είναι μέλος της οικογένειας Paramyxoviridae μαζί με την Parainfluenza και τους ιούς της ιλαράς και της παρωτίτιδας. Δύο υπότυποι του ιού αναγνωρίζονται ο Α και ο Β με τον ιό Α να θεωρείται πως προκαλεί σοβαρότερη νόσο. Είναι κύρια αιτία λοιμώξεων του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος (LRTIs) σε βρέφη και μικρά παιδιά ιδιαίτερα κατά την χειμερινή περίοδο [93, 94]. Κάθε χρόνο, 4-5 εκατομμύρια παιδιά ηλικίας κάτω των 4 ετών εμφανίζουν λοίμωξη με RSV και περισσότερα από 125.000 νοσηλεύονται ετησίως στις Ηνωμένες Πολιτείες λόγω αυτής της λοίμωξης. Εκδηλώνεται κυρίως ως βρογχολίτιδα ή ιογενής πνευμονία [95, 96].

Ωστόσο, αναγνωρίζεται ολοένα και περισσότερο ότι ο αναπνευστικός συγκυτιακός ιός μπορεί επίσης να προκαλέσει σοβαρή νόσο στους ηλικιωμένους και τους ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς που αντιπροσωπεύουν το ένα τέταρτο των θανάτων που οφείλονται σε λοίμωξη με διαφορετικό από τη γρίπη ιό κατά τη χειμερινή περίοδο [43, 97]. Η RSV λοίμωξη μπορεί επιπρόσθετα να ευθύνεται για υποτροπιάζουσες λοιμώξεις της ανώτερης αναπνευστικής οδού, συνήθως σε υγιείς ενήλικες χωρίς άλλες συν-νοσηρότητες [98]. Η λοίμωξη με τον RSV μπορεί επίσης να σχετίζεται με σημαντική θνησιμότητα. Περίπου 2700 παιδιατρικοί και ενήλικοι θάνατοι μπορούν να αποδοθούν σε πνευμονία οφειλόμενη στον RSV σε ετήσια βάση στις ΗΠΑ σύμφωνα με το Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (CDC) [99].

Ο ιός μεταδίδεται με άμεση επαφή και με αεροσταγονίδια [100] μετά από ένα χρόνο επώασης που συνήθως κυμαίνεται από 4 έως και 6 ημέρες. Ο μέσος χρόνος απέκκρισης του ιού από το αναπνευστικό είναι 3 με 8 ημέρες αλλά μπορεί να φτάσει έως και 1 μήνα σε νεογνά και βρέφη. Η διαδικασία εξέλιξης του ιού με antigenic shift παρόμοια με την γρίπη είναι υπεύθυνη για επανα-λοιμώξεις.

Ο ιός προσβάλλει το αναπνευστικό σύστημα και ιδιαίτερα το βρογχικό επιθήλιο με λοίμωξη των τύπου 1 και 2 πνευμονοκυττάρων [101, 102]. Η λοίμωξη χαρακτηρίζεται από αποφρακτική νόσο λόγω της απόπτωσης του βρογχικού επιθηλίου, υπερπλασία του εναπομείναντος επιθηλίου και μονοκυτταρική φλεγμονή των βρογχικών αρτηριολίων [102].

Τα βρέφη και τα παιδιά με πρωτολοίμωξη με RSV εμφανίζουν συνήθως λοίμωξη της κατώτερης αναπνευστικής οδού όπως πνευμονία (το συχνότερο αίτιο πνευμονίας σε παιδιά ηλικίας κάτω των 5 ετών), βρογχολίτιδα, βρογχόσπασμο και οξεία αναπνευστική ανεπάρκεια [103-105]. Η άπνοια μπορεί να είναι το κύριο σύμπτωμα που παρουσιάζει έως και το 20% των βρεφών που έρχονται στο νοσοκομείο πάσχοντας από RSV λοίμωξη [106-111]. Παράγοντες που έχουν αναγνωριστεί να συμβάλλουν σε επεισόδια άπνοιας περιλαμβάνουν το σύνδρομο προωρότητας και η επακόλουθη σοβαρότητα της υποξαιμίας [107-110]. Η λοίμωξη της κατώτερης αναπνευστικής οδού συμβαίνει συχνότερα στην πρωτοπαθή νόσο, αν και η δευτερογενής νόσος μπορεί επίσης να προκαλέσει τα ίδια συμπτώματα σε περίπου το ήμισυ των ασθενών [103, 104]. Εκτός από τον RSV εικόνα ασθματικής κρίσης και βρογχολίτιδας μπορεί να παρατηρηθεί με άλλους ιούς όπως οι ρινοϊοί (Rhinovirus), οι ιοί της Parainfluenza, οι ιοί Human Metapneumovirus, οι ιοί της γρίπης Influenza, οι Coronavirus και ο Human Bocavirus [112-120]. Συνήθως οι ασθενείς έχουν πρόδρομα συμπτώματα ρινικής συμφόρησης και έκκρισης μαζί με ήπιο βήχα, αλλά όταν παρουσιάζονται στο νοσοκομείο έχουν πυρετό (τυπικά $38,3\text{ }^{\circ}\text{C}$), βήχα και αναπνευστική δυσχέρεια. [121]. Η συμμετοχή των παραρρινίων κόλπων και του ωτός με την εμφάνιση μέσης ωτίτιδας καθώς και χαμηλά επίπεδα πυρετού μπορεί να είναι ενδεικτικά σημεία λοίμωξης με RSV [122, 123]. Είναι απαραίτητο να αποκλεισθεί η σοβαρή νόσος όταν υπάρχουν ενδεικτικά συμπτώματα όπως λήθαργος ή ανησυχία, άπνοια, αναπνευστική δυσχέρεια, κυάνωση και σημεία αφυδάτωσης [123]. Χρόνιες υποκείμενες νόσοι όπως η συγγενής καρδιοπάθεια, πνευμονοπάθειες, νευρολογικά νοσήματα και οι ανοσοανεπάρκειες προδιαθέτουν σε σοβαρή RSV σχετιζόμενη νόσο [124-128]. Ταυτόχρονη βακτηριακή λοίμωξη δεν είναι συνήθης, αν και ο κίνδυνος για μηνιγγίτιδα και βακτηριαιμία σε παιδιά που πάσχουν από RSV είναι περίπου 1-2% και για τις λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος είναι 1-5% [129-137].

Τυπικά η νόσος αυτοπεριορίζεται σε ασθενείς που δεν πάσχουν από υποκείμενη ανοσοκαταστολή. Επιπλοκές μπορεί να συμβούν ειδικά σε βρέφη με τις προαναφερθείσες καταστάσεις που συνήθως εμφανίζουν άπνοια, αναπνευστική ανεπάρκεια και δευτερογενή βακτηριακή λοίμωξη [138-143]. Η μακροπρόθεσμη πρόγνωση δεν είναι καλά γνωστή, αλλά υπάρχουν μελέτες που δείχνουν ότι υπάρχει σχέση μεταξύ της λοίμωξης κατά τη βρεφική ηλικία και της ανάπτυξης άσθματος και βρογχοσυσπαστικής νόσου που εμφανίζεται αργότερα στη ζωή, αν και η θεραπεία με palivizumab φαίνεται να μειώνει τη συχνότητα

εμφάνιση της νόσου των αντιδραστικών αεραγωγών (Reactive Airways Disease) [144-153]. Δεν είναι γνωστό αν αυτή η συσχέτιση με τον RSV είναι αιτιώδης ή απλά προγνωστική [154].

Πέραν της συσχέτισεως της νόσου με την παιδική ηλικία την τελευταία δεκαετία έχει ευρέως αναγνωρισθεί η εμφάνιση του ιού σε ενήλικες και ηλικιωμένους με συν-νοσηρότητες και με την εμφάνιση αναπνευστικών επιπλοκών [43, 155-158]. Το φορτίο της νόσου είναι παρόμοιο με αυτό της μη πανδημικής εποχικής γρίπης [158].

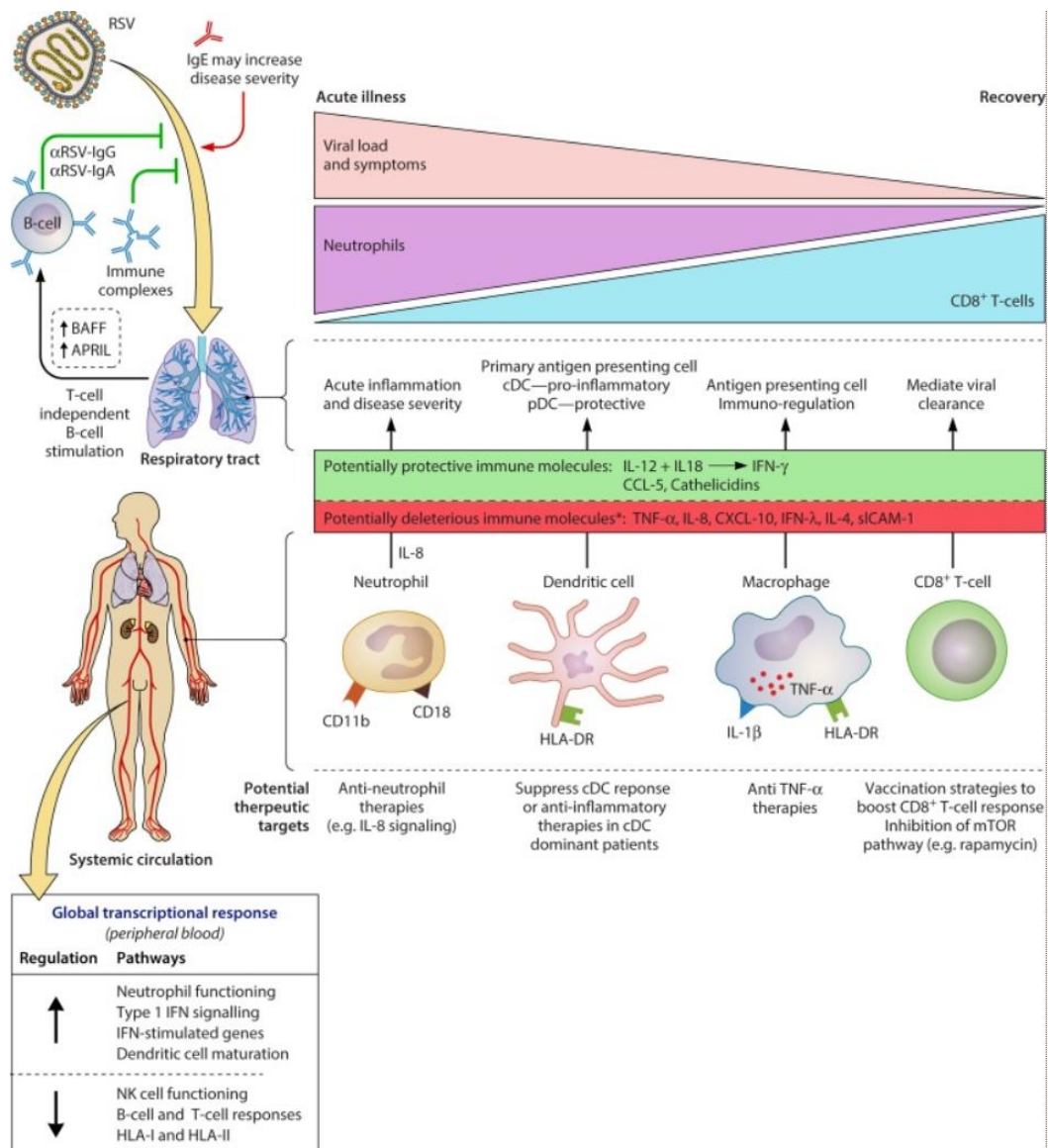
Ταχείες διαγνωστικές δοκιμασίες όπως για την γρίπη εφαρμόζονται ευρέως στην κλινική πρακτική όμως οι τεχνικές PCR έχουν υψηλότερη ευαισθησία και ειδικότητα [159-167].

Η θεραπεία είναι υποστηρικτική στις περισσότερες περιπτώσεις της νόσου. Η ριμπαβιρίνη χρησιμοποιείται σε περιστατικά με υποκείμενα νοσήματα (π.χ. μεταμόσχευση πνεύμονα) και σοβαρή νόσο με αμφίβολο όφελος και πιθανή τοξικότητα. Προληπτικά σε πληθυσμούς υψηλού κινδύνου νεογνών (π.χ. αυτά με συγγενή καρδιοπάθεια, προωρότητα, βρογχοπνευμονική δυσπλασία) χρησιμοποιούνται ειδική άνοση σφαιρίνη (RSV-IGIV) και ανθρωποποιημένα μονοκλωνικά αντισώματα όπως το palivizumab [168-172]. Το μονοκλωνικό αντίσωμα Palivizumab συμβάλλει και στην μείωση των υποτροπών άσθματος σε παιδιά που είχαν προηγούμενο επεισόδιο λοίμωξης με RSV [144].

5.2 Φυσική ανοσιακή απάντηση και κυτταροκίνες

Η ανοσιακή απάντηση στον ιό RSV έχει πρόσφατα ανασκοπηθεί [173] (Γράφημα/Εικόνα 7).

Στην αρχική ανοσιακή απόκριση στους ανθρώπους με την μεσολάβηση της ιντερλευκίνης-8 (IL-8) υπάρχει ισχυρή συμμετοχή των ουδετερόφιλων η οποία συσχετίζεται θετικά με τη σοβαρότητα της νόσου [173]. Τα δενδριτικά κύτταρα μεταναστεύουν στους πνεύμονες ως το κύριο αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο. Μια αρχική συστηματική λεμφοπενία που αφορά τα T-λεμφοκύτταρα ακολουθείται από μια ανοσιακή απόκριση στο επίπεδο του πνεύμονα στην οποία συμμετέχουν τα CD8 + T-λεμφοκύτταρα τα οποία καθαίνουν τον ιό [173]. Η χυμική ανοσία στην επανα-μόλυνση με τον ιό είναι ατελής, αλλά τα υπάρχοντα αντισώματα RSV IgG και IgA έχουν προστατευτική δράση.



Γράφημα/Εικόνα 7. Ανοσιακή απάντηση του ανθρώπου στην RSV λοίμωξη [173]

Παράγοντες που προέρχονται από το επιθήλιο της αναπνευστικής οδού διεγείρουν τα Β λεμφοκύτταρα στην παραγωγή προστατευτικού αντισώματος. Η ιντερφερόνη γάμμα (IFN-γ) διαδραματίζει έναν ισχυρό προστατευτικό ρόλο και μια Th2-επικρατούσα ανοσιακή απόκριση μπορεί να είναι επιβλαβής. Άλλες κυτταροκίνες (ιδιαίτερος IL-17A), χημειοκίνες (ιδιαίτερα CCL-5 και CCL-3) και τοπικοί φυσικοί ανοσολογικοί παράγοντες (συμπεριλαμβανομένων των cathelicidins και της IFN-λ) συνεισφέρουν στην παθογένεση της νόσου. Συνοπτικά, η ουδετεροφιλική φλεγμονή ενοχοποιείται ως μία επιβλαβής ανοσιακή απόκριση, ενώ τα CD8 + T κύτταρα και η IFN-γ έχουν προστατευτικό ρόλο [173].

Η προηγούμενη λοίμωξη με RSV δεν παρέχει ανοσία ακόμη εάν υπάρχουν αυξημένοι ειδικοί τίτλοι αντισωμάτων, αν και τα συμπτώματα σε επανα-λοιμώξεις τείνουν να είναι ηπιότερα [103, 174].

Η Th1 απόκριση χαρακτηρίζεται από την παραγωγή IFN- γ , IL-1, IL-2, IL-12, IL-18, και TNF- α . Η IL-12 επάγει την παραγωγή IFN- γ και την διαφοροποίηση των Th1 κυττάρων. Δείκτες της Th1 απόκρισης (IFN- γ , soluble tumor necrosis factor receptor II, and soluble interleukin-2 receptor [sCD25]) είναι αυξημένοι στην συστηματική κυκλοφορία κατά την διάρκεια λοίμωξης του κατώτερου αναπνευστικού από RSV και τα επίπεδα IFN- γ έχουν προστατευτική δράση [175-177]. Παιδιά ηλικίας μικρότερης των 6 ετών με βρογχιολίτιδα από RSV έχουν χαμηλότερη απόκριση σε επίπεδο IFN- γ που πιθανά συνεισφέρει στην αυξημένη επίπτωση της νόσου σε νεαρότερες ηλικίες [178, 179]. Χαμηλός δείκτης IFN γ /IL-10 συσχετίζεται με την εμφάνιση υποξαιμίας και συριγμού [176]. Κατά την διάρκεια της οξείας λοίμωξης του κατώτερου αναπνευστικού από RSV, είναι χαμηλότερη η έκφραση messenger RNA (mRNA) της IFN- γ σε υποξαιμικούς ασθενείς [180]. Επιπρόσθετα σε ασθενείς με σοβαρή RSV λοίμωξη είναι χαμηλότερα τα κυκλοφορούντα επίπεδα της IL-12 σε σχέση με ασθενείς με ήπια νόσο ή υγιείς μάρτυρες (controls) [181, 182]. Τα επίπεδα της IFN- γ και άλλων Th1 κυτταροκινών (IL-1, IL-2, IL-12, IL-18 και TNF- α) είναι επίσης αυξημένα στον ρινικό βλεννογόνο και στον πνεύμονα [173, 183-185]. Αυξημένα επίπεδα της IL-1 α στον ρινικό βλεννογόνο σχετίζονται με την ανάγκη για μηχανικό αερισμό σε παιδιά με λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού από RSV [186, 187]. Αντίθετα, αυξημένα επίπεδα της IL-18 στον ρινικό βλεννογόνο σχετίζονται με μη-υποξαιμική λοίμωξη, ευρήματα συμβατά με τον ρόλο της IL-18 στην διέγερση της παραγωγής IFN- γ [188, 189].

Η Th2 απόκριση χαρακτηρίζεται από την παραγωγή IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, και IL-13. Επάγει την παραγωγή αντισωμάτων (κυρίως IgE) και ηωσινοφιλικές απαντήσεις. Αυτή η απόκριση πέραν του ρόλου της στην εμφάνιση ατοπίας και στην προστασία έναντι παρασιτικών λοιμώξεων έχει αντενεργική δράση και περιορίζει την Th1 απόκριση και την εξ- αυτής φλεγμονώδη αντίδραση. Τα συστηματικά επίπεδα IL-4, IL-6, IL-10 και IL-13 είναι αυξημένα σε παιδιά με λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος (LRTI) από RSV [175, 178, 184, 190, 191]. Τα επίπεδα IL-6 και IL-10 στην συστηματική κυκλοφορία συσχετίζονται με τη βαρύτητα της νόσου σε λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού από RSV,

συμπεριλαμβανομένης της υπο-οξυγοναιμίας [176, 192, 193]. Τα επίπεδα των IL-4, IL-5 και CCL-5 στην συστηματική κυκλοφορία είναι υψηλότερα κατά τη λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού από RSV, σε σύγκριση με τη λοίμωξη από τον ιό της γρίπης Α [194]. Παρόμοια αυξημένες συγκεντρώσεις IL-4, IL-6, IL-9, IL-10 και IL-13 έχουν βρεθεί σε ρινικές εκκρίσεις [184, 195-197] και στον πνεύμονα [198-200] παιδιών με λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού από RSV. Τα επίπεδα IL-10 στην αναπνευστική οδό έχουν αρνητική συσχέτιση με την διάρκεια της απαιτούμενης οξυγονοθεραπείας και την βαρύτητα των συμπτωμάτων και φαίνεται να έχουν ένα προστατευτικό ρόλο στην λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού από RSV [201-203]. Η σχέση αυτή αναστρέφεται σε πολύ νεαρά νεογνά ηλικίας κάτω των 3 μηνών [193]. Τα επίπεδα IL-6 είναι πολύ αυξημένα σε υγρό BAL από νεογνά διασωληνωμένα λόγω σοβαρής RSV βρογχολίτιδας [198, 204] και είναι λιγότερο αυξημένα στο αναπνευστικό σύστημα σε παιδιά με ηπιότερη νόσο [184, 188, 203]. Δεν υπάρχουν σαφή δεδομένα που να σχετίζουν τα επίπεδα IL-6 στις ρινικές εκκρίσεις με την βαρύτητα της νόσου με κάποιες δημοσιεύσεις να αναδεικνύουν υψηλά ρινικά επίπεδα σε νεογνά που χρήζουν διασωλήνωσης και έχουν υποξαιμία [185, 187, 205, 206] και σε ενήλικες που εισάγονται στο νοσοκομείο σε σχέση με αυτούς που δεν χρειάζονται εισαγωγή [207]. Σε πειράματα με μολυσμένους ενήλικες, η συγκέντρωση της ρινικής IL-6 συσχετίζεται θετικά με το ιικό φορτίο και τη βαρύτητα των συμπτωμάτων [208]. Αντίθετα σε άλλη εργασία κοορτής παιδιών με βρογχολίτιδα από RSV, υψηλότερες ρινικές συγκεντρώσεις IL-6 συσχετίζονταν με βραχύτερη ανάγκη οξυγονοθεραπείας [201].

Η ισορροπία στην Th1/Th2 απόκριση έχει σημαντικό ρόλο στην RSV σχετιζόμενη αναπνευστική βλάβη. Ένας υψηλός ρινικός και συστηματικός λόγος IL-4 / IFN- γ , ένας δείκτης ενδεικτικός σφάλματος (bias) της Th2 απόκρισης, σχετίζεται με σοβαρή (υποξαιμική) βρογχολίτιδα από RSV [191, 209, 210]. Ανεξάρτητα από την αναλογία, οι συγκεντρώσεις της IFN- γ είναι χαμηλότερες και οι συγκεντρώσεις IL-4 υψηλότερες σε βρέφη με σοβαρή βρογχολίτιδα. Σε σύγκριση με τη μόλυνση με ανθρώπινο μεταπνευμονοϊό (hMPV), τα βρέφη με RSV λοίμωξη έχουν παρόμοια επίπεδα ρινοφαρυγγικής IFN- γ αλλά υψηλότερα επίπεδα IL-4, ενδεικτικά μιας Th2-απόκρισης διαφορετικής από αυτήν που παρατηρείται στην λοίμωξη από hMPV [211]. Επίσης, σε σοβαρή βρογχολίτιδα από RSV, οι αριθμοί των κυκλοφορούντων CXCR3 + T κυττάρων (Th1) μειώνονται σημαντικά κατά τη διάρκεια της οξείας λοίμωξης σε σύγκριση με την ανάρρωση, αλλά τα CCR4 + T κύτταρα (Th2) δεν μειώνονται [212]. Μια υπερβολική Th2 απόκριση ή

ανεπαρκής Th1 μπορεί να σχετίζεται με την ανάπτυξη βρογχιολίτιδας σε σύγκριση με μια ηπιότερη λοίμωξη του ανωτέρου αναπνευστικού από RSV: οι αναλογίες της ρινικής IL-4 / IFN- γ και IL-10 / IL-12 είναι υψηλότερες στα βρέφη με βρογχιολίτιδα [213]. Σε μια κοόρτη παιδιών με υποξαιμική λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού από RSV, η σύγκριση κυτταροκινών στην συστηματική κυκλοφορία και στην αναπνευστική οδό έδειξε κυριαρχία Th2 κυτταροκινών στο ρινοφαρυγγικό υγρό (και υψηλότερη πνευμονική / συστηματική αναλογία IL-4 / IL-12, IL-10 / IL-2, IL-10 / IFN- γ , IL-6 / IFN- γ και IL-6 / IL-2) [184]. Αυτή η υπεροχή της Th2 απόκρισης να σχετίζεται με πιο σοβαρές εκδηλώσεις της RSV λοίμωξης, είτε αυτή είναι μια «υπερβολική» και μη κατάλληλη αντίδραση στην οξεία λοίμωξη από τον ιό είτε αυτή που απαιτείται για να περιορίσει μια δυνητικά επιβλαβή Th-1 απόκριση σε σοβαρή λοίμωξη από RSV. Εν τούτοις η όλη βιβλιογραφία δεν συμφωνεί στις παρατηρήσεις αυτές με κάποια αντικρουόμενα ευρήματα [182, 214, 215]. Σε in vivo μελέτες υπάρχουν μικρότεροι αριθμοί RSV-ειδικών T κυττάρων σε ηλικιωμένους και σε in vitro πειράματα τόσο μεμονωμένα (isolated) T κύτταρα όσο και μονοκύτταρα περιφερικού αίματος από υγιείς ηλικιωμένους ασθενείς παράγουν λιγότερη IFN- γ όταν διεγείρονται με την πρωτεΐνη F του RSV ή τον ίδιο τον ιό αντίστοιχα [216-218]. Σε ηλικιωμένους ασθενείς πιθανά μια ελαττωμένη Th1 απόκριση μπορεί να ευθύνεται για την υψηλότερη επίπτωση σοβαρής RSV νόσου [216-218].

Η IL-8 δρα χημειοτακτικά για τα ουδετερόφιλα και οι τιμές της αυξάνονται κατά την διάρκεια λοίμωξης του κατώτερου αναπνευστικού από RSV ενώ οι τιμές στην συστηματική κυκλοφορία πέφτουν σε φυσιολογικά επίπεδα κατά την διάρκεια της ανάρρωσης [179, 184, 185, 190, 192, 200, 219-221]. Υψηλότερα επίπεδα IL-8 στην συστηματική κυκλοφορία και στο αναπνευστικό σύστημα συσχετίζονται θετικά με υποξυγοναιμία και την ανάγκη για διασωλήνωση σε νεογνά [179, 184, 205, 206, 222-224]. Σε σύγκριση με λοίμωξη από ρινοϊό η λοίμωξη από RSV σχετίζεται με υψηλότερα επίπεδα IL-8 στο ρινικό βλεννογόνο [225]. Κατά τη σύγκριση των τελειόμηνων με πρόωρα βρέφη με παρόμοιας σοβαρότητας λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού από RSV, τα επίπεδα IL-8 στις ρινικές εκκρίσεις και ο αριθμός των λευκοκυττάρων είναι υψηλότερα στα τελειόμηνα βρέφη, υποδηλώνοντας μια πιο έντονη φλεγμονώδη αντίδραση [226].

Σχετικά με την IL-17 σε συγκρίσεις νεογνών με λοίμωξη του κατωτέρω αναπνευστικού (βρογχολίτιδα) από RSV με νεογνά με non-RSV λοίμωξη, ο αριθμός των Th17 κυκλοφορούντων κυττάρων και τα επίπεδα IL-17 είναι πιο αυξημένα στα πρώτα [227]. Σε αυτά τα βρέφη, οι ρινικές συγκεντρώσεις της προφλεγμονώδους IL-17A είναι υψηλότερες σε αυτά που χρειάζονται μηχανικό αερισμό [187]. Στους διασωληνωμένους ασθενείς οι τραχειακές συγκεντρώσεις της IL-17A θετικά συσχετίζονται με τον αριθμό των ουδετεροφίλων [228, 229]. Σε νεογνά με ήπια βρογχολίτιδα, οι ρινικές συγκεντρώσεις IL-17A είναι αρχικά χαμηλότερες, αυξάνουν κατά την διάρκεια ανάρρωσης ενδεικτικά ενός διπλού ρόλου για την IL-17A: αρχικά επιβλαβούς στην οξεία φάση λόγω της προσέλκυσης των ουδετεροφίλων αλλά δυνητικά συμμετέχουσας κυτταροκίνης στην λύση των ηπιότερων λοιμώξεων [187].

Η IFN-α παράγεται συστηματικά και στην αναπνευστική οδό σε απόκριση της λοίμωξης από RSV [230]. Οι ρινοφαρυγγικοί τίτλοι IFN-α κορυφώνονται την 1^η ημέρα της νόσου, παραμένουν αυξημένοι για περίπου 6 ημέρες και στη συνέχεια μειώνονται παράλληλα με τα επίπεδα αντιγόνου RSV στις ρινοφαρυγγικές εκκρίσεις [230]. Στο περιφερικό αίμα, τα επίπεδα της IFN-α κορυφώνονται κατά την 2^η ημέρα. Τα βρέφη ηλικίας μικρότερης των 3 μηνών παράγουν τα χαμηλότερα επίπεδα IFN-α τόσο στο ρινοφάρυγγα όσο και στο περιφερικό αίμα [230]. Ο RSV φαίνεται να είναι ένας συγκριτικά ασθενής επαγωγέας της IFN τύπου I, αφού τα ρινοφαρυγγικά επίπεδα IFN-α είναι υψηλότερα σε βρέφη με λοίμωξη από τον ιό της γρίπης, τον αδενοϊό και τον ιό παραγρίπης [230].

Συνολικά ο ρόλος των κυτταροκινών, χημειοκινών και άλλων μορίων που συμμετέχουν στην ανοσιακή απάντηση της λοίμωξης από RSV επιδεικνύεται στον πίνακα 4 [173].

<i>Ανοσιακό μόριο (α)</i>	<i>Παραγωγή</i>			<i>Σχόλια</i>
	<i>Αναπνευστικό</i>		<i>Συστηματική κυκλοφορία</i>	
	<i>Ρινικός βλεννογόνος</i>	<i>Πνεύμονας</i>		
<i>Th1 κυτταροκίνες</i>				
IFN-γ	+	+	+	Προστατευτικός ρόλος
IL-12	+	+	+	Προστατευτικός ρόλος
IL-1α	+		+	Επιβλαβής
<i>Th2 κυτταροκίνες</i>				
IL-4	+	+	+	Επιβλαβής
IL-6	+	+	+	Ποικίλλουσα συσχέτιση με βαρύτητα νόσου
IL-9	+	+		Μη αναφερόμενη συσχέτιση με βαρύτητα νόσου
IL-10	+	+	+	Ποικίλλουσα συσχέτιση με βαρύτητα νόσου
IL-13	+	+	+	Μη αναφερόμενη συσχέτιση με βαρύτητα νόσου

<i>Άλλες κυτταροκίνες</i>				
IL-8	+	+	+	Επιβλαβής, χημειοταξία ουδετεροφίλων
IL-17A	+	+		Ποικίλλουσα συσχέτιση με βαρύτητα νόσου
IL-33	+			Μη αναφερόμενη συσχέτιση με βαρύτητα νόσου
<i>Χημειοκίνες</i>				
CCL-2 (MCP-1)	+	+		Επιβλαβής
CCL-3 (MIP-1α)	+	+		Επιβλαβής
CCL-4 (MIP-1β)	+			Ποικίλλουσα συσχέτιση με βαρύτητα νόσου
CCL-5 (RANTES)	+	+		Προστατευτικός ρόλος
CXCL-10 (IP-10)	+		+	Επιβλαβής
Ηωταξίνη	+	+		Επιβλαβής
<i>Άλλες</i>				
IFN-λ	+			Επιβλαβής παρά την διέγερση έκφρασης ISG
IFN-α	+		+	Μη αναφερόμενη συσχέτιση με βαρύτητα νόσου

G-CSF	+		+	Υψηλότερα επίπεδα σε νεογνά που χρήζουν μηχανικής αναπνοής
Soluble ICAM-1	+		+	Επίπεδα στις ρινικές εκκρίσεις εμφανίζουν θετική συσχέτιση με βαρύτητα νόσου
Substance P	+	+		Χαμηλότερα επίπεδα συσχετίζονται με αυξημένη βαρύτητα νόσου
MBL			-	Μη αναφερόμενη συσχέτιση με βαρύτητα νόσου
Cathelicidin LL-37	+			Προστατευτικός ρόλος

Πίνακας 4. Κυτταροκίνες, χημειοκίνες και άλλα μόρια που συμμετέχουν στην ανοσιακή απόκριση στην λοίμωξη από RSV, από Russel et al[173].

Συντομώσεις: CCL, C-C motif chemokine ligand; CXCL, C-X-C motif chemokine ligand; G-CSF, granulocyte colony-stimulating factor; ICAM, intercellular adhesion molecule; IFN, interferon; IL, interleukin; IP-10, IFN- γ -inducible protein-10; ISG, interferon-stimulated gene; MBL, mannose binding lectin; MCP-1, monocyte chemoattractant protein-1; MIP, macrophage inflammatory protein; MMP, matrix metalloproteinase; PGP, proline-glycine-proline (the product of MMP hydrolysis of collagen); RANTES, regulated on activation, normal T expressed and secreted; sTRAIL, soluble TNF-related apoptosis-inducing ligand; TIMP, tissue inhibitor of metalloproteinase; TNF, tumor necrosis factor.

+, αυξημένη παραγωγή; -, μειωμένη παραγωγή.

6. ΙΟΙ ΤΗΣ ΠΑΡΑΙΝΦΛΟΥΕΝΤΑΣ

6.1 Βασικές γνώσεις

Οι ιοί παραγρίπης (PIV) είναι παραμυξοϊοί της τάξης *Mononegavirales*, η οικογένεια *Paramyxoviridae* και η υποοικογένεια *Paramyxovirinae*. Οι ανθρώπινοι PIV (HPIV) σήμερα χωρίζονται σε 5 ορότυπους-HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3, HPIV-4a και HPIV-4b- και σε 2 διαφορετικά γένη: *Respirovirus* (HPIV-1 και HPIV-3) και *Rubulavirus* (HPIV-2 και HPIV-4). Η γλυκοπρωτεΐνη σύντηξης (fusion glycoprotein) (F) και οι πρωτεΐνες αιμαγλουτινίνη και νευραμινιδάση [hemagglutinin-neuraminidase (HN) proteins] συμμετέχουν στην λοιμογονικότητα του ιού και αποτελούν τις κύριες εστίες δέσμευσης εξουδετερωτικών αντισωμάτων [231-233]. Αντίθετα με τις πρωτεΐνες της γρίπης αυτές των HPIV επιδεικνύουν αντιγονική σταθερότητα. Εν τούτοις, έχουν παρόμοια με την γρίπη, περιγραφεί περιπτώσεις μεταλλάξεων και αντιγονικών αλλαγών (antigenic drift) στο γονιδίωμα του ιού [234]. Οι ιοί HPIV αρχικά προσβάλλουν αρχικά το ρινικό και στοματοφαρυγγικό επιθήλιο και ακολουθεί επέκταση της λοίμωξης στο βρογχικό και κυψελιδικό επιθήλιο (με μικρή άμεση βλάβη), με τον βαθμό της διασποράς να καθορίζει την βαρύτητα της νόσου [235-238]. Η περίοδος επώασης είναι μεταξύ 2 και 6 ημερών ενώ η ανίχνευση του ιού είναι δυνατή από την ημέρα 1 έως και την 6^η ημέρα της νόσου [237, 239].

Οι ιοί HPIV επηρεάζουν κυρίως τα μικρά παιδιά, στα οποία το φάσμα προσβολής περιλαμβάνει λοιμώξεις του ανώτερου και του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος. Είναι υπεύθυνοι για το 30% -40% όλων των λοιμώξεων του αναπνευστικού συστήματος σε βρέφη και παιδιά. Λοιμώξεις από HPIV περιλαμβάνουν το κοινό κρυολόγημα με πυρετό, λαρυγγοτραχειοβρογχίτιδα (croup), την βρογχιολίτιδα και πνευμονία. Οι HPIV είναι επίσης αίτιο λοιμώξεων του αναπνευστικού ποικίλη βαρύτητας σε ενήλικες και ιδιαίτερα επί εδάφους ανοσοκαταστολής [240-244]. Η κλινική εικόνα της λοίμωξης από HPIV και η συσχέτιση με συγκεκριμένους τύπους του ιού φαίνεται στον πίνακα 5.

<i>Λαρυγγοτραχειοβρογχίτιδα – croup</i>	<i>HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3</i>
<i>Βρογχίτιδα</i>	<i>HPIV-1, HPIV-3</i>
<i>Βρογχοπνευμονία</i>	<i>HPIV-1, HPIV-3</i>
<i>Ήπια λοίμωξη ανωτέρω αναπνευστικού</i>	<i>HPIV-1, HPIV-3, HPIV-4</i>
<i>Πνευμονία και βρογχιολίτιδα</i>	<i>HPIV-1, HPIV-3</i>

Πίνακας 5. Κλινική εικόνα της λοίμωξης από HPIV και η συσχέτιση με συγκεκριμένους τύπους του ιού

Ο τύπος HPIV-1 συνηθέστερα συνδέεται με την εμφάνιση λαρυγγοτραχειοβρογχίτιδας (croup) [245]. Ο τύπος HPIV-2 σχετίζεται επίσης με εμφάνιση croup και είναι συνήθως ηπιότερος [245-247]. Ο τύπος HPIV-3 είναι το δεύτερο σε συχνότητα αίτιο [μετά τον αναπνευστικό συγκυτιακό ιό (RSV)] εμφάνισης πνευμονίας και βρογχιολίτιδας σε βρέφη και μικρά παιδιά [248-253]. Στα περιστατικά croup σε παιδιά, περίπου το 50% οφειλόταν σε HPIV3 σε πρόσφατη μεγάλη επιδημιολογική μελέτη [254]. Ίσως ο HPIV-3 να είναι ο πιο συχνά ανιχνευόμενος τύπος [255, 256]. Ο τύπος HPIV-4 ανιχνεύεται λιγότερο συχνά σε ασθενείς, ίσως επειδή συσχετίζεται με εμφάνιση ηπιότερης νόσου. Επαναλοίμωξη με HPIV μπορεί να συμβεί σε όλη τη διάρκεια της ζωής, με τα ηλικιωμένα και ανοσοκατεσταλμένα άτομα (μεταμοσχευμένους, λευχαιμικούς, HIV και ασθενείς με κακοήθειες) να διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο σοβαρών επιπλοκών από την λοίμωξη [240-244, 246, 257-267]. Οι λοιμώξεις από HPIV3 μπορεί να προκαλέσουν σημαντική νοσηρότητα και θνησιμότητα. Για παράδειγμα, τα νοσοκομειακά κρούσματα του HPIV3 έχουν συνδεθεί με αναπνευστική ανεπάρκεια και ποσοστό θνητότητας μέχρι 60% σε λήπτες πολυδύναμων αιμοποιητικών κυττάρων (HSCT) με σοβαρή HPIV νόσο [268-271], ενώ σε λήπτες μεταμόσχευσης πνευμόνων, η σχετιζόμενη με HPIV3 βρογχιολίτιδα και πνευμονία έχουν συνδεθεί με την οξεία και την χρόνια απόρριψη του αλλομοσχεύματος [272, 273]. Η επιδημιολογία της HPIV λοίμωξης σε ενήλικες δεν έχει επακριβώς καθορισθεί.

Ο τύπος HPIV-1 προκαλεί τις μεγαλύτερες επιδημίες, οι οποίες χαρακτηρίζονται από απότομες αυξήσεις στον αριθμό κρουσμάτων ανά διετία σε περιττά έτη [274]. Επιδημίες με τον τύπο HPIV-2 συνήθως ακολουθούν αυτές του HPIV-1. Οι δύο πρώτοι τύποι του ιού εμφανίζονται συνήθως το Φθινόπωρο.

Επιδημίες από HPIV-3 συμβαίνουν σε όλη την διάρκεια του χρόνου, κυρίως την άνοιξη και το καλοκαίρι, και διαρκούν περισσότερο από αυτές των τύπων HPIV-1 και HPIV-2. Επειδή ο ιός HPIV-4 σπάνια απομονώνεται, η μόλυνση με αυτό το παθογόνο είναι λιγότερο καλά χαρακτηρισμένη [274]. Ο τύπος HPIV-3 είναι ο πιο μολυσματικός από τους HPIV ιούς και σχετίζεται με σημαντική νοσηρότητα και θνησιμότητα [275]. Σχεδόν το 50% των παιδιών μολύνονται το 1^ο έτος της ζωής ενώ έως και το 100% έχουν μολυνθεί έως την ηλικία των 6 ετών.

Ο ιός μεταδίδεται μέσω άμεσης επαφής βλεννογόνων των οφθαλμών και της μύτης με μολυσμένες εκκρίσεις με τα χέρια ή μέσω μεγάλων αεροσταγονιδίων. Το αναπνευστικό επιθήλιο είναι η κύρια οδός δέσμευσης του ιού και επικείμενης εμφάνισης λοίμωξης. Οι ασθενείς με λοίμωξη από HPIV τυπικά εμφανίζονται με ιστορικό κόρυζας και χαμηλού πυρετού και αναπτύσσουν έπειτα τον κλασικό βήχα που συνδέεται με την λαρυγγοτραχειοβρογχίτιδα. Κατά τη φυσική εξέταση, η λοίμωξη από τον ιό HPIV σχετίζεται με ένα ευρύ φάσμα ευρημάτων, τα οποία μπορεί να περιλαμβάνουν πυρετό, ρινική συμφόρηση, ερύθημα φάρυγγα, μη παραγωγικό έως ελαφρώς παραγωγικό βήχα, εισπνευστικό συριγμό (stridor), ρεγχάζοντες (ronchi), μη μουσικούς ήχους (rales) και συριγμό. Συστηματική γριπώδης συνδρομή δεν είναι συνηθισμένη σε ασθενείς με HPIV, αλλά οι ενήλικες ασθενείς εμφανίζουν συχνότερα γριπώδη συνδρομή σε σύγκριση με τα παιδιά [276]. Η λοίμωξη μπορεί να ευθύνεται για σοβαρές επιπλοκές σε ενήλικες όπως άσθμα και παροξύνσεις χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας (COPD) και από ορισμένες εξω-αναπνευστικές εκδηλώσεις όπως μηνιγγίτιδα, μυοκαρδίτιδα, περικαρδίτιδα και σύνδρομο Guillain-Barre [43, 277-282].

Η διάγνωση της νόσου γίνεται με ποικίλες τεχνικές όπως άμεσος έλεγχος για παρουσία αντιγόνου [283], έμμεσος ανοσοφθορισμός, απομόνωση του ιού σε κυτταροκαλλιέργειες, ορολογική διάγνωση και τελευταία μοριακές τεχνικές με χρήση PCR και Luminex [284-290].

Η θεραπεία της νόσου είναι η υποστηρικτική φροντίδα. Χρησιμοποιείται οξυγονοθεραπεία σε τέντα (mist) για τα παιδιά με croup. Τα κορτικοστεροειδή και οι νεφελοποιητές μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη θεραπεία των αναπνευστικών συμπτωμάτων και για να βοηθήσουν στη μείωση της φλεγμονής και του οιδήματος των αεροφόρων οδών. Οι αντι-ιικοί παράγοντες έχουν αβέβαιο όφελος με την ριμπαβιρίνη να

έχει χρησιμοποιηθεί σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς. Τα αντιβιοτικά χρησιμοποιούνται μόνο όταν αναπτύσσονται βακτηριακές επιπλοκές (π.χ. ωτίτιδα και ιγμορίτιδα [291]).

6.2 Φυσική ανοσιακή απάντηση και κυτταροκίνες

Η λοίμωξη με HPIV οδηγεί σε έκκριση υψηλών επιπέδων φλεγμονωδών κυτταροκινών όπως η IFN- α , η IL-2, IL-6 και ο TNF- α . Η έκκριση κυτταροκινών κορυφώνεται περίπου 7 ημέρες μετά την αρχική έκθεση. Αυξημένα επίπεδα συγκεκριμένων χημειοκινών όπως οι RANTES (regulated upon activation, normal T-cell expressed and secreted) και η φλεγμονώδης πρωτεΐνη των μακροφάγων [macrophage inflammatory protein (MIP)-K] ανιχνεύονται στις ρινικές εκκρίσεις παιδιατρικών ασθενών. Μελέτες έχουν δείξει έναν πιθανό ρόλο IgE αντισωμάτων ειδικών για τον ιό νωρίτερα και σε μεγαλύτερες ποσότητες σε ασθενείς με λοίμωξη του ανωτέρω αναπνευστικού με HPIV παρά σε μάρτυρες με αντίστοιχη ηλικία. Η ταχύτερη και αυξημένη παραγωγή αυτής της ειδικής για τον ιό IgE διαμεσολαβεί στην απελευθέρωση ισταμίνης στην τραχεία και στην υπογλωττιδική περιοχή, με αποτέλεσμα να δημιουργεί λαρυγγοτραχειοβρογχίτιδα (croup) [292].

Ανάλυση με μικροσυστοιχίες (microarray analysis) επιθηλιακών κυττάρων που έχουν μολυνθεί με HPIV έχει δείξει ένα ρόλο για τα μονοπάτια NF-K β , IRF3 και τύπου 1 Ιντερφερόνης (IFN) στη ρύθμιση της κυτταρικής αντι-ικτικής και αντιφλεγμονώδους αντίδρασης. Η πρωτεΐνη C του HPIV παίζει σημαντικό ρόλο στην καταστολή αυτών των ανοσοαποκρίσεων. Αυξημένες συγκεντρώσεις των φλεγμονωδών κυτταροκινών IL-8 / CXCL8, MIP1 α + 1 β / CCL3 + 4, RANTES / CCL5 και CXCL9 σε ρινικό έκπλυμα έχουν περιγραφεί σε παιδιά με νόσο από τον ιό. CXCR3 συνδέτες (ligands) όπως οι IP-10 και I-TAC, οι οποίοι προσελκύουν ενεργοποιημένα Th1 κύτταρα, είναι κυρίαρχες χημειοκίνες που παρατηρούνται κατά την λοίμωξη με HPIV. Οι υψηλές συγκεντρώσεις της IL-8 και της IP-10 έχουν συσχετιστεί με σοβαρή λοίμωξη από HPIV [293].

Σε πειραματόζωα με HPIV λοίμωξη, έχουν ανιχνευθεί αυξημένα επίπεδα ισταμίνης και ηωσινοφίλων σε δείγματα βρογχοκυψελιδικής έκπλυσης (BAL), γεγονός που υποδηλώνει υπεραντιδραστικότητα (hyper-responsiveness) της αναπνευστικής οδού.

Η μόλυνση με HPIV-2 και HPIV-3 σε ανθρώπους είναι γνωστό ότι επάγει την έκφραση του ενδοκυτταρικού μορίου προσκόλλησης-1 (ICAM-1) σε τραχειακά και άλλα κύτταρα της αναπνευστικής οδού. Αυτά τα μόρια χρησιμεύουν ως υποδοχείς για τους ρινοϊούς, ανοίγοντας έτσι το δρόμο για επιλοίμωξη από ρινοϊούς.

Η κύρια αμυντική γραμμή του ξενιστή έναντι των ιών HPIV είναι η χυμική ανοσία έναντι των δύο επιφανειακών γλυκολικών πρωτεϊνών του ιού, οι οποίες είναι οι περισσότερες ανοσογόνες: οι πρωτεΐνες αιμοσυγκολλητίνη-νευραμινιδάση (HN) και η πρωτεΐνη σύντηξης (F). Τα περισσότερα παιδιά γεννιούνται με εξουδετερωτικά αντισώματα και στους 5 ορότυπους HPIV, αλλά αυτοί οι τίτλοι πέφτουν γρήγορα κατά τους πρώτους 6 μήνες της ζωής. Η υψηλότερη απόκριση σε επίπεδο αντισωμάτων στον ορό είναι σε επίπεδο ανοσοσφαιρίνης G1 (IgG1), αλλά τα επίπεδα ανοσοσφαιρίνης G3 (IgG3), ανοσοσφαιρίνης G4 (IgG4), ανοσοσφαιρίνης A (IgA) και ανοσοσφαιρίνης M (IgM) αυξάνονται σημαντικά στο 30% των ενηλίκων. Η εκκριτική IgA διαδραματίζει έναν σημαντικό αλλά όχι πλήρως διευκρινισμένο ρόλο στην προστασία έναντι της φυσικής λοίμωξης από HPIV. Μια μεσολαβούμενη από κύτταρα (cell-mediated) ανοσιακή απόκριση στα αντιγόνα των ιών HPIV, επιπρόσθετα προς μια HPIV-ειδική IgE απόκριση, έχει τεκμηριωθεί ότι είναι υψηλότερη μεταξύ των βρεφών με βρογχιολίτιδα από HPIV από ότι σε βρέφη που ανέπτυξαν μόνο ασθένεια της ανώτερης αναπνευστικής οδού. Μετά από μία φυσική λοίμωξη με HPIV, τα περισσότερα παιδιά και ενήλικες αναπτύσσουν μετρήσιμα επίπεδα αυτών των αντισωμάτων στον ορό. Έχει αποδειχθεί πως τα ειδικά αυτά αντισώματα συσχετίζονται με την πρόληψη και τη βελτίωση της νόσου σε ενήλικες. Η τοπική παραγωγή ιντερφερόνης έχει παρατηρηθεί σε περίπου 30% των παιδιών με λοίμωξη από HPIV.

Αν και η ανοσία στην μόλυνση HPIV είναι μακράς διάρκειας, η επανεμφάνιση μπορεί να συμβεί πολλές φορές σε όλη τη ζωή και μετά από ποικίλα μεσοδιαστήματα, ακόμη και όταν υπάρχει η παρουσία εξουδετερωτικών αντισωμάτων. Αυτό δεν μπορεί να εξηγηθεί μόνο από τους σχετικά σταθερούς αντιγονικούς καθοριστές (antigenic determinants) των ιών HPIV. Συνεπώς, απαιτείται περισσότερη έρευνα για την διαλεύκανση του ζητήματος αυτού.

Σε μία πρόσφατη μελέτη που περιελάμβανε πειραματικά μοντέλα ποντικών, παρατηρήθηκε το επίπεδο επαναμόλυνσης να επιδεικνύει μια αντίστροφη συσχέτιση με το επίπεδο πρωτογενούς λοίμωξης

στον ίδιο ιστό. Σε αυτή τη μελέτη, παρατηρήθηκε ότι η πρωτεύουσα αερογενής μετάδοση του ΗΡIV παρείχε προστασία από την επανεμφάνιση νόσου σε όλο το αναπνευστικό σύστημα, ενώ η μετάδοση με επαφή του ΗΡIV είχε ως αποτέλεσμα την προστασία από την επαναμόλυνση στην ανώτερη αναπνευστική οδό, με μερική μόνον προστασία στους πνεύμονες [294].

Οι λοιμώξεις από ΗΡIV τείνουν να είναι πιο σοβαρές σε άτομα με ελλείματα στην κυτταρική ανοσία, υποδεικνύοντας ότι τα Τ κύτταρα μπορεί να έχουν μεγαλύτερο ρόλο στον περιορισμό της νόσου [295]. Ο ρόλος της κυτταρικής ανοσίας έχει πρόσφατα περιγραφεί για 7 αντιγόνα, ειδικά για τους ΗΡIV. Πληθυσμοί CD4+ και CD8+ Τ κυττάρων παράγουν κυτταροκίνες σχετιζόμενες με Th1 απόκριση και καθαίρουν στόχους που εκφράζουν αντιγόνα του ΡIV3 [295]. Επιπλέον, η κλινική σημασία αυτών των κυττάρων αναδεικνύεται λόγω της άμεσης συσχέτισης μεταξύ της παρουσίας Τ-λεμφοκυττάρων ειδικών για ΡIV3 και του ικού ελέγχου σε λήπτες αλλογενούς μεταμόσχευσης μυελού των οστών [295].

7. ΑΔΕΝΟΪΟΙ

7.1 Βασικές γνώσεις

Ο αδενοϊός, ένας διπλής έλικας DNA ιός που απομονώθηκε για πρώτη φορά στη δεκαετία του 1950 σε κυτταροκαλλιέργειες προερχόμενες από αδενοειδή κύτταρα, εξ ου και το όνομα. Ένας εξαιρετικά ανθεκτικός ιός, ο αδενοϊός είναι πανταχού παρών στους ανθρώπινους και ζωικούς πληθυσμούς, επιβιώνει για μακρές περιόδους έξω από έναν ξενιστή και είναι ενδημικός καθ'όλη τη διάρκεια του έτους. Αναγνωρίζονται τουλάχιστον 57 διαφορετικοί ορότυποι και 7 είδη (A-G) βάσει των ιδιοτήτων της πρωτεΐνης αιμαγλουτινίνης, την ογκογόνο ικανότητα καθώς και γονοτυπικές και φυλογενετικές αναλύσεις [296]. Ο ιός είναι αίτιο λοιμώξεων του αναπνευστικού (κυρίως τα είδη Ad-B και C), επιπεφυκίτιδας (Ad-B και D) και γαστρεντερίτιδας (είδη Ad-F τύποι 40, 41 και είδος G τύπος 52) [297, 298]. Μεταδίδεται μέσω άμεσου ενοφθαλμισμού στον επιπεφυκότα, την κοπρανο-στοματική οδό, με αεροσταγονίδια με αεροζόλ ή με έκθεση σε μολυσμένο ιστό ή αίμα.

Ο ιός είναι ικανός να μολύνει πολλαπλά συστήματα του οργανισμού, ωστόσο, οι περισσότερες λοιμώξεις είναι ασυμπτωματικές. Ο αδενοϊός καλλιεργείται συχνά από τον φάρυγγα και τα κόπρανα ασυμπτωματικών παιδιών. Οι περισσότεροι ενήλικοι έχουν μετρήσιμους τίτλους αντισωμάτων κατά του αδενοϊού, που υποδηλώνουν προηγούμενη λοίμωξη. Ο αδενοϊός έχει συσχετιστεί τόσο με σποραδικές όσο και με επιδημικές εξάρσεις με την πιο γνωστές αυτές σε νεοσύλλεκτους στρατιώτες στις ΗΠΑ, που ανοσοποιήθηκαν έναντι των τύπων 4 και 7 από το 1971 μέχρι και την παύση της παραγωγής εμβολίων το 1996. Ο αδενοϊός ήταν σημαντική αιτία οικονομικού κόστους και νοσηρότητας σε αυτόν τον πληθυσμό. Ένα ζωντανό εξασθενημένο εμβόλιο κατά των αδενοϊών τύπου 4 και 7 εγκρίθηκε για χρήση από το στόμα σε αυτόν τον πληθυσμό από την Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) το 2011 και η ακολούθως η συχνότητα εμφάνισης οξείας αναπνευστικής νόσου σε νεοσύλλεκτους μειώθηκε. Ο αδενοϊός είναι γνωστό ότι είναι ογκογόνος στα τρωκτικά αλλά όχι στους ανθρώπους κι έχει χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα τα τελευταία έτη σαν «όχημα μεταφοράς» (vector) σε εμβολιασμούς αλλά και σε γονιδιακές θεραπείες [299-301].

Σοβαρή νόσος είναι σπάνια σε ανοσοεπαρκείς ασθενείς. Σπανίως εμφανίζονται επιπλοκές με υψηλή θνητότητα όπως μηνιγγοεγκεφαλίτιδα και πνευμονία. Σοβαρές λοιμώξεις από αδενοϊό συμβαίνουν σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς, όπως ασθενείς με μεταμόσχευση και σε ασθενείς με κληρονομικές και επίκτητες καταστάσεις ανοσοανεπάρκειας [302]. Τα ποσοστά θνητότητας που σχετίζονται με λοιμώξεις από αδενοϊό σε παιδιατρικούς και ενήλικους μεταμοσχευμένους ασθενείς κυμαίνονται μεταξύ 6% και 70% [302]. Σοβαρή νόσος και θάνατοι που οφείλονται σε έντονες φλεγμονώδεις αποκρίσεις έχουν συμβεί σε προηγούμενες κλινικές μελέτες γονιδιακής θεραπείας.

Τα κύρια κλινικά σύνδρομα που προκαλεί ο ιός περιλαμβάνουν: (1) οξεία λοίμωξη του αναπνευστικού, (2) σύνδρομο εμπύρετης φαρυγγο-επιπεφυκίτιδας, (3) επιδημική κερατοεπιπεφυκίτιδα, (4) οξεία αιμορραγική κυστίτιδα, (5) γαστρεντερίτιδα και (6) σοβαρές λοιμώξεις σε ανοσοκατεσταλμένους. Συνοπτικά κατωτέρω αναφέρονται τα 2 σύνδρομα που κυρίως αφορούν το αναπνευστικό σύστημα.

Οι λοιμώξεις του αναπνευστικού εμφανίζονται συνηθέστερα την άνοιξη και το χειμώνα. Περίπου οι μισές από τις αναπνευστικές λοιμώξεις από αδενοϊό δεν προκαλούν συμπτώματα. Οι αδενοϊοί αντιπροσωπεύουν περίπου το 10% όλων των παιδικών λοιμώξεων του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος. Ο πυρετός, η ρινόρροια, ο βήχας και η φαρυγγαλγία, που συνήθως διαρκούν 3-5 ημέρες, είναι τα τυπικά συμπτώματα της αδενοϊκής λοίμωξης του αναπνευστικού. Η αμυγδαλίτιδα (έως και 60%) και η μέση ωτίτιδα (έως και 30%) αναφέρθηκαν σε μια μελέτη μικρών παιδιών με επικράτηση του ορότυπου 4 αδενοϊού. Οι λοιμώξεις της κατώτερης αναπνευστικής οδού, συμπεριλαμβανομένης της τραχειοβρογχίτιδας, της βρογχολίτιδας και της πνευμονίας, μπορεί να μιμούνται τη μόλυνση με RSV ή γρίπη. Η παρουσία επιπεφυκίτιδας συνηγορεί υπέρ λοίμωξης με αδενοϊό. Σοβαρή (έως και θανατηφόρα) πνευμονία είναι ασυνήθιστη, αλλά είναι πιο πιθανή σε νεογνά και έχει συσχετιστεί με τους ορότυπους 3, 7, 14, 21 και 30 [303].

Το σύνδρομο της φαρυγγοεπιπεφυκίτιδας προκαλείται κυρίως από τους ορότυπους 3, 4 και 7. επηρεάζει συχνά τα παιδιά σχολικής ηλικίας. Σποραδικά κρούσματα εμφανίζονται συνήθως σε μικρές ομάδες, ιδίως σε καλοκαιρινές κατασκηνώσεις κυρίως επί ανεπαρκούς πηγής χλωριωμένου νερού, όπως πίσινα ή λίμνη. Είναι ενδιαφέρον ότι οι καλλιέργειες δειγμάτων νερού συχνά δεν είναι επιβεβαιωτικές. Το

σύνδρομο συνοδεύεται από υψηλή μεταδοτικότητα. Κλινικά χαρακτηρίζεται από πυρετό, πονόλαιμο, κόρυζα και κόκκινα μάτια. Τα συμπτώματα της ανώτερης αναπνευστικής οδού ενδέχεται να προηγούνται των οφθαλμικών ευρημάτων ή να απουσιάζουν. Μπορεί να εμφανιστεί οξεία επιπεφυκίτιδα με ή χωρίς φαρυγγίτιδα ή αναπνευστικό σύνδρομο. Εμφάνιση εγκεφαλίτιδας είναι σπάνια. Η επιπεφυκίτιδα αρχίζει συνήθως με το ένα μάτι και στη συνέχεια εξαπλώνεται στο άλλο, αν και τα δύο μάτια μπορεί να επηρεαστούν ταυτόχρονα. Συνήθως το σύνδρομο αυτο-περιορίζεται εντός 5 ημερών.

Διαγνωστικά μπορεί να χρησιμοποιηθεί κυτταροκαλλιέργεια, ορολογικός έλεγχος, ταχύ τεστ έμμεσου ανοσοφθορισμού και νεότερες μοριακές τεχνικές PCR με υψηλή ειδικότητα σε δείγματα από το αναπνευστικό, τα ούρα ή το αίμα (τα αποτελέσματα όμως πρέπει να ερμηνεύονται με προσοχή γιατί μπορεί να ανιχνεύει και ασυμπτωματική έκκριση του ιού) [302, 304-308]. Ποσοτική PCR είναι ιδιαίτερα χρήσιμη σε ανοσοκατεσταλμένους όπου έχει συσχετισθεί με την ύπαρξη διάσπαρτης γενικευμένης νόσου και θνητότητας αλλά και με την ανταπόκριση σε θεραπεία [304, 306, 309-315].

Ευτυχώς, οι περισσότερες λοιμώξεις σε ανοσοεπαρκείς ασθενείς αυτοπεριορίζονται και δεν απαιτείται ειδική θεραπεία. Σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς, φάρμακα όπως *cidofovir*, *ribavirin*, *ganciclovir*, *vidarabine* και τελευταία *brincidofovir* έχουν χρησιμοποιηθεί [316-322].

7.2 Φυσική ανοσιακή απάντηση και κυτταροκίνες

Η ανοσιακή απόκριση σε λοίμωξη από αδενοϊό είναι αρκετά πολύπλοκη και έχει ανασκοπηθεί ευρέως [323-326]. Ο τόπος εισόδου καθορίζει γενικά τη θέση της αρχικής προσβολής και λοίμωξης. Εισπνοή μολυσμένων αεροσταγονιδίων οδηγεί σε λοίμωξη από το αναπνευστικό σύστημα, ενώ λοίμωξη γαστρεντερικού εμφανίζεται μετά από μετάδοση του ιού με την κοπρανο-στοματική οδό. Μετά τη μόλυνση με αδενοϊό, μπορεί να συμβεί μία από τις τρεις διαφορετικές αλληλεπιδράσεις με τα κύτταρα. Η πρώτη είναι η λυτική λοίμωξη, η οποία συμβαίνει όταν ένας αδενοϊός εισέρχεται σε ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα και συνεχίζει μέσω ενός ολοκλήρου κύκλου αντιγραφής και πολλαπλασιασμού, ο οποίος έχει ως αποτέλεσμα την κυτταρόλυση, την παραγωγή κυτταροκινών και την επαγωγή φλεγμονώδους απόκρισης του ξενιστή. Η δεύτερη είναι η χρόνια ή λανθάνουσα λοίμωξη, ο ακριβής μηχανισμός της οποίας είναι άγνωστος και η

οποία συχνά αφορά ασυμπτωματική λοίμωξη του λεμφικού ιστού. Τέλος, ο ογκογενής μετασχηματισμός (oncogenic transformation) έχει παρατηρηθεί σε αρουραίους. Κατά τη διάρκεια της ογκογένεσης, ο κύκλος αντιγραφής περικόπτεται και το αδενοϊκό DNA ενσωματώνεται στο DNA του κυττάρου ξενιστή. Ακολούθως, ο αδενοϊός παράγει ισχυρές ΕΙΑ πρωτεΐνες που αθανατοποιούν πρωτεύοντα κύτταρα τροφτικών μεταβάλλοντας την κυτταρική μεταγραφή, τελικά οδηγώντας σε απορρύθμιση της απόπτωσης και κακοήγη μετασχηματισμό. Για την αναγνώριση του ιού υπάρχουν κύτταρα που δρουν ως μεσολαβητές σε μια διαδικασία που ρυθμίζεται από τον υποδοχέα coxsackie - αδενοϊού (CAR), το CD46, τις ιντεγκρίνες και πρωτεογλυκάνες που περιέχουν θευκή ηπαρίνη [323].

Η ανοσιακή απόκριση περιλαμβάνει τόσο την φυσική (innate) όσο και την επίκτητη (adaptive) ανοσία. Η αρχική ανοσιακή απόκριση ευθύνεται για τις σοβαρές εκδηλώσεις της οξείας λοίμωξης όπως επίσης και για την οξεία τοξικότητα σε γονιδιακές θεραπείες που χρησιμοποιούν σαν όχημα (vector) τροποποιημένο αδενοϊό. Τόσο χημειοτακτικές και μη χημειοτακτικές κυτταροκίνες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανοσιακή απάντηση (Πίνακας 6). Αυτές περιλαμβάνουν τον παράγοντα νέκρωσης των όγκων (TNF-α), τις ιντερλευκίνες IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, την ιντερφερόνη γ (IFN-γ), και τον αυξητικό παράγοντα granulocyte colony-stimulating factor (GCSF) [326, 327]. Η ίδια η απόκριση σε επίπεδο κυτταροκινών ευθύνεται για τις συνέπειες της λοίμωξης με τον αδενοϊό. Αυξημένες συγκεντρώσεις IL-6, IL-8 και TNF-α συσχετίζονται με σύνδρομο υπο-αιμάτωσης (hypoperfusion), πυρετικά κύματα και την παρουσία σηπτικού σοκ και έχουν σχετισθεί με την βαρύτητα της νόσου σε μικρά παιδιά. Τα κυψελιδικά μακροφάγα φαίνεται να είναι η κύρια πηγή κυτταροκινών κατά την οξεία αναπνευστική λοίμωξη από αδενοϊούς όπως αποδείχθηκε σε ένα πειραματικό μοντέλο σε τροφτικά όπου τα επιθηλιακά κύτταρα του αναπνευστικού και τα ενδοθηλιακά κύτταρα δεν παρήγαν κυτταροκίνες [326, 328].

Ορότυπος αδενοϊού	Κύτταρα	Κυτταροκίνες/χημειοκίνες που υπερεκφράζονται
Ad35, Ad26, Ad48	PBMC	IP-10, IL-1RA & IL-6 [329]
B (Ad3, Ad7, Ad21), C (Ad1, Ad2, Ad5)	Ρινική έκπλυση	IL-1α, IL-6, IP-10, MIP-1α, TNF-α, MIG & IFN-α [330]
Ad5	Κυψελιδικά μακροφάγα	IL-6, TNF-α, MIP-2 & MIP-1α [328].
Ad3, Ad7	PBMC	IFN-γ [331]

Πίνακας 6. Κύριες κυτταροκίνες / χημειοκίνες που επάγονται σε λοίμωξη από διάφορους ορότυπους αδενοϊού.

Οι ιντερφερόνες επηρεάζουν την ποιότητα της κυτταρικής ανοσιακής απάντησης και ενισχύουν την παρουσίαση αντιγόνου σε ειδικούς πληθυσμούς T-κυττάρων. Οι τύπου I ιντερφερόνες εκκρίνονται από κύτταρα που έχουν ιική μόλυνση ενώ η IFN-γ παράγεται από T και NK κύτταρα και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην κυτταρική ανοσία έναντι ενός ευρέως φάσματος ενδοκυττάρων παθογόνων. Η IFN-γ ως απόκριση στην λοίμωξη με αναπνευστικούς ιούς ενεργοποιεί μια πλειάδα λειτουργιών των λευκοκυττάρων συμπεριλαμβανομένης της διέγερσης της λειτουργίας της αναπνευστικής αλύσου (respiratory burst), την παρουσίαση αντιγόνου και την εκκίνηση της διαδικασίας απελευθέρωσης TNF-α από τα μακροφάγα [332, 333]. Η έκθεση των κυττάρων στην ιντερφερόνη επάγει μια αντι-ιική κατάσταση κατά την οποία αναστέλλεται ο πολλαπλασιασμός ενός σημαντικού αριθμού DNA και RNA ιών [326] και επάγεται η λειτουργία συγκεκριμένων γονιδίων (IFN-stimulated genes ή ISGs) [334]. Μία σύνθετη αλληλεπίδραση μεταξύ της απόκρισης ιντερφερόνης και της υπόλοιπης φλεγμονώδους απόκρισης είναι απαραίτητη για την κάθαρση των αδενοϊκών λοιμώξεων. Μέσω της εξέλιξης, οι αδενοϊοί έχουν αναπτύξει μηχανισμούς για να εξασθενήσουν την ανοσολογική απόκριση και να ξεφύγουν από αυτήν. Αυτοί οι μηχανισμοί είναι πιο αποτελεσματικοί ενάντια στις ISGs από ότι ενάντια στους υπόλοιπους φλεγμονώδεις μεσολαβητές. Επιπλέον, κατά τη διάρκεια των λοιμώξεων από αδενοϊούς, επίπεδα αντιφλεγμονωδών

μεσολαβητών όπως η IL-1α αυξάνουν 20 φορές παραπάνω από τις φυσιολογικές τιμές, ενώ η IFN-α αυξάνει λιγότερο από 2 φορές [330]. Ο (-οι) μηχανισμός (-οί) με τον οποίο οι πρωτεΐνες της πρώιμης περιοχής των αδενοϊών αναστέλλουν τη φλεγμονή είναι πολύπλοκος, καθώς ορισμένες πρωτεΐνες της πρώιμης περιοχής του ιού μπορούν να προάγουν καθώς και να αναστέλλουν τη φλεγμονή, ανάλογα με την γενετική δομή του ιού [335].

Σε επίπεδο κυτταρικής ανοσίας φαίνεται πως ενεργοποιούνται τα NK κύτταρα μέσω του CD69 και ενισχύεται η κυτταρολυτική τους δράση [336]. Εξουδετέρωση του ιού από ειδικά αντισώματα στον ορό εμποδίζει την επίδραση του ιού στα κύτταρα με μια διαδικασία κάθαρσης ανοσοσυμπλεγμάτων που προσομοιάζει με ενδοκύττωση παρά με φαγοκύττωση [323, 337]. Δεν είναι ξεκάθαρο αν το φαινόμενο της εξαρτώμενης από αντίσωμα ενίσχυσης της λοίμωξης (antibody mediated enhancement) που έχει περιγραφεί με άλλους ιούς όπως ο Δάγγειος διαδραματίζει ρόλο σε ετερόλογη λοίμωξη από άλλο ορότυπο αδενοϊού ή σε εμμένουσα λοίμωξη με τον ιό [323, 337].

8. ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΙ ΜΕΤΑΠΝΕΥΜΟΝΟΪΟΙ

8.1 Βασικές γνώσεις

Ο ανθρώπινος μεταπνευμονοϊός (hMPV) είναι ένας RNA ιός ο οποίος κατηγοριοποιείται στην υποοικογένεια των Pneumovirinae η οποία ανήκει στην οικογένεια των Paramyxoviridae. Ωστόσο, ο hMPV σχετίζεται περισσότερο με τον μεταπνευμονοϊό των πτηνών (πρώην ιοί ρινοτραχειίτιδας της γαλοπούλας). Αυτοί οι δύο ιοί ταξινομούνται στο γένος Metapneumovirus, με τον hMPV να είναι ο πρώτος ιός σε αυτό το γένος που προκαλεί ασθένεια στους ανθρώπους. Αν και υποτίθεται ότι ο ανθρώπινος ιός προέρχεται από τα πτηνά, ορολογικά μελέτες δείχνουν πως ο hMPV είναι ευρέως διαδεδομένος στους ανθρώπους, τουλάχιστον από το 1958, υποδηλώνοντας μια ζωνοτική απόκλιση (zoonotic divergence) πρωτύτερα από αυτήν την χρονολογία [338, 339]. Ο hMPV περιγράφηκε για πρώτη φορά το 2001 από ερευνητές στην Ολλανδία. Χρησιμοποιώντας τεχνικές αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR), ο ιός απομονώθηκε από αποθηκευμένα ρινοφαρυγγικά δείγματα [338]. Από την αρχική αυτή αναφορά, λοίμωξη με ιό hMPV έχει αναφερθεί σε χώρες σε όλες τις ηπείρους εκτός από την Ανταρκτική. Αναγνωρίζονται 2 μεγάλες ομάδες του ιού (Α και Β) και 4 υπο-ομάδες έχουν αναγνωριστεί με τεχνικές ανάλυσης του ολικού γονιδιώματος (whole genome) [340, 341].

Η λοίμωξη από hMPV έχει ευρύ φάσμα που κυμαίνεται από ήπιες λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος έως σοβαρές λοιμώξεις του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος που επιπλέκονται από έντονο συριγμό, οδηγώντας σε απειλητική για τη ζωή βρογχολίτιδα και πνευμονία σε όλες τις ηλικιακές ομάδες. Ο hMPV ιός είναι το δεύτερο σε συχνότητα αίτιο λοίμωξης του κατώτερου αναπνευστικού σε παιδιά μετά τον αναπνευστικό συγκυτιακό ιό (RSV) [338, 342-348].

Η μεγαλύτερη επιδημιολογική μελέτη της λοίμωξης με hMPV εξέτασε προοπτικά την παρουσία του ιού σε ρινικά εκπλύματα που συλλέγονταν από παιδιά κατά την διάρκεια μιας περιόδου 20 ετών. Σε συμφωνία με αποτελέσματα και από άλλες μελέτες, η λοίμωξη με hMPV ανιχνεύθηκε καθ' όλη τη διάρκεια του έτους, με μέγιστη επίπτωση από το τέλος του χειμώνα μέχρι την αρχή της άνοιξης, αργότερα από την εποχική κορύφωση του RSV και της γρίπης. Στο βόρειο ημισφαίριο, η κορύφωση της λοίμωξης hMPV παρουσιάζεται συνήθως από τον Ιανουάριο έως τον Μάρτιο ενώ στο νότιο ημισφαίριο, η κορύφωση είναι

από τον Ιούνιο έως τον Ιούλιο [341]. Στην περίοδο παρακολούθησης των 20 ετών, η λοίμωξη από hMPV ήταν υπεύθυνη για το 1%-5% των λοιμώξεων του ανώτερου αναπνευστικού σε παιδιά, με διακύμανση από έτος σε έτος [349]. Μια παρόμοια μελέτη της ίδιας ομάδας ανέδειξε μια επίπτωση της λοίμωξης του κατώτερου αναπνευστικού από hMPV της τάξεως του 12% [350, 351]. Επιπρόσθετα, η ανωτέρω μελέτη απομόνωσε hMPV από μόνο το 1% των ασυμπτωματικών παιδιών, επιβεβαιώνοντας την σχέση αιτιού-αιτιατού με την νόσο [351]. Δεν είναι γνωστό αν η λοίμωξη ακολουθείται από μακροχρόνιες επιπλοκές. Σε μικρή μελέτη προώρων βρεφών με τεκμηριωμένη λοίμωξη από hMPV κατά την παρακολούθηση υπήρχε αυξημένη επίπτωση συνδρόμου αντίστασης των αεραγωγών (airway resistance) [352].

Ολιγάριθμες μελέτες έχουν ασχοληθεί με τον προσδιορισμό της επίπτωσης της λοίμωξης από hMPV σε ενήλικες πληθυσμούς, αν και είναι τεκμηριωμένη η εμφάνιση και διάγνωση της λοίμωξης από hMPV σε ενήλικες πληθυσμούς αυξημένου κινδύνου, συμπεριλαμβανομένων εκείνων με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (COPD), ηλικιωμένων και ανοσοκατεσταλμένων ασθενών [342-344]. Πολλαπλές επιδημίες της νόσου σε νοσοκομειακούς χώρους και ιδρύματα χρονίως πασχόντων έχουν αναφερθεί στην βιβλιογραφία, όχι μόνο από ασθενείς με λοίμωξη αλλά και από άτομα με ασυμπτωματική έκκριση του ιού [353].

Η λοίμωξη από hMPV έχει τεκμηριωθεί ως σημαντική αιτία νόσου σε μεταμοσχευμένους. Ο ιός έχει σχετισθεί με την εμφάνιση ιδιοπαθούς πνευμονίας, αναπνευστικής ανεπάρκειας και υψηλά ποσοστά θνητότητας σε λήπτες βλαστικών κυττάρων (stem cell transplant recipients) [354, 355]. Σε άλλη μελέτη λοίμωξη με hMPV βρέθηκε στο 10% των ασθενών με μεταμόσχευση πνεύμονα που εμφάνιζαν οξεία λοίμωξη του αναπνευστικού, ποσοστό παρόμοιο με αυτό της ανίχνευσης RSV στον ίδιο πληθυσμό [356]. Μεταμοσχευμένοι ασθενείς φαίνεται να έχουν υψηλό κίνδυνο για σοβαρή νόσο εάν μολυνθούν από τον hMPV.

Η περίοδος επώασης ποικίλει και είναι κατά μέσο όρο μεταξύ 3 και 5 ημερών από την αρχική έκθεση στον ιό [341]. Τα κλινικά συμπτώματα είναι ανάλογα με του RSV και επιπρόσθετα μπορεί να περιλαμβάνουν πυρετό, μυαλγίες, ρινόρροια, δύσπνοια, ταχύπνοια και συριγμό. Βρογχιολίτιδα με ή χωρίς πνευμονία είναι η συχνότερη εκδήλωση της λοίμωξης ενώ άλλα σύνδρομα που σχετίζονται με τον ιό

περιλαμβάνουν: την επιδείνωση άσθματος, την μέση ωτίτιδα, την πνευμονίτιδα, την γριπώδη συνδρομή, την πνευμονία της κοινότητας και την επιδείνωση χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας (ΧΑΠ) [338, 342-348].

Διαγνωστικά ο ιός δύσκολα αναπτύσσεται σε κυτταροκαλλιέργειες σε περιορισμένο αριθμό κυτταρικών σειρών και απαιτείται συμπλήρωση των καλλιεργητικών υλικών με τρυψίνη. Τεχνικές ELISA χρησιμοποιούνται για ανίχνευση οροθετικότητας (σχεδόν καθολική μετά την πρώιμη παιδική ηλικία [338, 357-359]) και απαιτούν ανάδειξη τετραπλασιασμού του τίτλου αντισωμάτων σε σειριακά δείγματα. Προσφάτως χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο τεχνικές αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) για ανίχνευση του ιού σε αναπνευστικές εκκρίσεις, με υψηλή ευαισθησία και την δυνατότητα ποσοτικού προσδιορισμού του ιικού φορτίου.

Δεν υπάρχει ειδική αντι-ική θεραπεία και η αντιμετώπιση περιλαμβάνει υποστηρικτικά μέτρα. Νοσηλεία στο νοσοκομείο, οξυγονοθεραπεία και μηχανικός αερισμός μπορεί να είναι απαραίτητος σε σοβαρά περιστατικά λοίμωξης από hMPV. Η ριμπαβιρίνη (ribavirin) έχει δραστηριότητα έναντι του ιού σε *in vitro* πειράματα με τροπικά όπου έδειξε μείωση του πολλαπλασιασμού του ιού στους πνεύμονες και ελάττωση της ιστικής φλεγμονής [360, 361]. Σε λοιμώξεις με συνοδό σοβαρή ανοσοκαταστολή έχει χρησιμοποιηθεί *pro* ή εισπνεόμενη ριμπαβιρίνη σε συνδυασμό με γ-σφαιρίνη [338, 362, 363].

8.2 Φυσική ανοσιακή απάντηση και κυτταροκίνες

Δεν έχουν δημοσιευθεί πολλά δεδομένα σχετικά με την παθοφυσιολογία της λοίμωξης από τον ιό σε ανθρώπους. Τύπου I ιντερφερόνες (IFN- α και - β) είναι μεσολαβητές κριτικής σημασίας που παράγονται από τα επιθηλιακά κύτταρα του αναπνευστικού μετά από λοίμωξη με παραμυξοϊούς [364-366]περιλαμβανομένου του hMPV [367]. Ο ιός έχει την δυνατότητα να καταστέλλει την απόκριση και την σηματοδότηση (signaling) και έκκριση τύπου I ιντερφερονών (IFN- α/β) στα επιθηλιακά κύτταρα του αναπνευστικού μέσω ποικίλων μηχανισμών που αφορούν την ρύθμιση pattern recognition receptors-τόσο TLR όσο και RLR όσο και μορίων κλειδιά στο μονοπάτι της ιντερφερόνης όπως τα STAT1, STAT2, Jak1 and Tyk2.[368-372].

Δύο προοπτικές μελέτες από την Αργεντινή ποσοτικά προσδιόρισαν τα επίπεδα κυτταροκινών σε ρινικό έκπλυμα που ελήφθη από άτομα με λοίμωξη από hMPV και συνέκριναν αυτά με τα επίπεδα κυτταροκινών σε ασθενείς με λοίμωξη από RSV και γρίπη. Διαπίστωσαν ότι η λοίμωξη από hMPV παράγει ένα χαμηλό επίπεδο φυσικής (innate) και επίκτητης (adaptive) ανοσιακής απόκρισης σε επίπεδο κυτταροκινών, με μεγαλύτερη υπεροχή προς την κατεύθυνση της Th2 απόκρισης σε σχέση με τους ιούς με τους οποίους πραγματοποιήθηκε η σύγκριση [373, 374]. Σε πρόσφατη παρόμοια μελέτη: α) τα επίπεδα IFN- γ και IL-2 (Th1) ήταν σημαντικά αυξημένα στις ομάδες hMPV και RSV συγκριτικά με την ομάδα υγιών μαρτύρων, β) Τα επίπεδα IL-4 (Th2) ήταν σημαντικά υψηλότερα στην ομάδα RSV συγκριτικά με τις ομάδες hMPV και μαρτύρων [ενώ τα επίπεδα της ηωταξίνης (Th2) έδειξαν την τάση να είναι υψηλότερα στην ομάδα του RSV σε σύγκριση με την ομάδα hMPV και σημαντικά υψηλότερα σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου], και γ) τα επίπεδα IL-1 β (Th17) ήταν σημαντικά υψηλότερα στην λοίμωξη με hMPV συγκριτικά με την ομάδα RSV και τα επίπεδα IL-6 (Th17) ήταν σημαντικά υψηλότερα στην ομάδα hMPV συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου[211]. Τα αποτελέσματα ήταν ενδεικτικά πως η λοίμωξη από hMPV επάγει φλεγμονή στο αναπνευστικό σύστημα μέσω της οδού Th17 με απελευθέρωση IL-1 β και IL-6, ενώ ο RSV δρα μέσω της οδού Th2 [211].

Για τη μελέτη της παθοφυσιολογίας της λοίμωξης από hMPV έχουν χρησιμοποιηθεί πολλαπλά πειραματικά μοντέλα ζώων. Οι χιμπατζήδες ήταν το μόνο ζώο που επέδειξε παρόμοια συμπτωματολογία με αυτήν της ανθρώπινης λοίμωξης [375]. Ωστόσο, ο πολλαπλασιασμός του ιού στην αναπνευστική οδό έχει αποδειχθεί και σε άλλα πειραματόζωα [376-379].

Μελέτες της απόκρισης των κυτταροκινών σε ποντίκια BALB / c έδειξαν ευρήματα συμβατά με εκείνα από μελέτες σε ανθρώπους (αναφέρονται ανωτέρω), δεικνύοντας μια ασθενέστερη φυσική απόκριση κυτταροκινών που αντιστοιχεί σε χαμηλότερα επίπεδα πνευμονικής φλεγμονής συγκριτικά με την λοίμωξη από τον ιό RSV [380].

Μελέτες σχετικά με τη χρονική διαδρομή του ιού σε αυτά τα μοντέλα πειραματόζωων αναδεικνύουν μια κορύφωση του ιικού φορτίου στις 4-5 ημέρες μετά τη αρχική λοίμωξη και κάθαρση του ιού έως την ημέρα 10-14 μετά τη αρχική λοίμωξη. Εν τούτοις βιώσιμος hMPV ιός έχει ανακτηθεί σε πειράματα με

ποντίκια BALB / c (χρησιμοποιούνται ειδικά σε ανοσολογικές μελέτες) έως και 2 μήνες μετά την αρχική λοίμωξη. Η σημασία αυτής της εμμένουσας ιικής ανίχνευσης σε σχέση με την ανθρώπινη νόσο από hMPV ασθένεια είναι άγνωστη [379, 381]. Δύο πρόσφατες μελέτες εξέτασαν τη σημασία του ιικού φορτίου του hMPV, όπως αυτό μετρήθηκε με real-time PCR σε σχέση με τις κλινικές εκδηλώσεις της νόσου. Μία μελέτη έδειξε ότι το αυξημένο ιικό φορτίο συσχετίστηκε με νόσο του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος και την ανάγκη για νοσηλεία στο νοσοκομείο [382]. Η δεύτερη ανέδειξε ότι ένα αυξανόμενο ιικό φορτίο συσχετίζεται με υψηλότερο πυρετό, αυξημένη ανάγκη για χρήση βρογχοδιασταλτικών και αυξημένη διάρκεια νοσηλείας, ανεξάρτητα από την ηλικία και την παρουσία υποκειμένων συν-νοσηροτήτων (π.χ. χρόνια ασθένεια). Η μελέτη αυτή συγκριτικά αξιολόγησε ασθενείς με RSV λοίμωξη και δεν ανέδειξε παρόμοιες συσχετίσεις υποδηλώνοντας την ύπαρξη ενός διαφορετικού μηχανισμού παθογένεσης μεταξύ αυτών των δύο σχετιζόμενων ιών [383].

9. BOCAVIRUS

9.1 Βασικές γνώσεις

Ο ανθρώπινος Bocavirus (HBoV) είναι μικρός DNA ιός που ανήκει στην οικογένεια Parvoviridae που αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά σε αναπνευστικά δείγματα από παιδιά με οξεία λοίμωξη του αναπνευστικού στη Σουηδία το 2005 [119, 384, 385]. Φυλογενετική ανάλυση του πλήρους γονιδιώματος του ανθρώπινου bocavirus έδειξε ότι ο ιός σχετίζεται περισσότερο με τα σημαντικά κτηνιατρικά παθογόνα bovine parvovirus (βοοειδή) και canine minute virus (ιό κυνοειδών) (εξ ου και το όνομα από τα πρώτα αρχικά των 2 ιών, bo+ca, ο ιός boca) που είναι μέλη του γένους Bocavirus , οικογένεια Parvoviridae. Ένα πιο γνωστό μέλος αυτής της οικογένειας είναι ο παρβοϊός B19. Ο ιός έχει πολλές ομοιότητες με τον παρβοϊό B19 (Parvovirus B19) αλλά πολλαπλασιάζεται με εντελώς διαφορετικό τρόπο [386]. Ο HBoV προσβάλλει τον ξενιστή μέσω του αναπνευστικού συστήματος και έχει άμεση παθογονική δράση στα κύτταρα του βρογχικού επιθηλίου[387-389]. Από εκεί διεισδύει στην συστηματική κυκλοφορία και μπορεί να φθάσει στον γαστρεντερικό σωλήνα ενώ μπορεί να μεταδοθεί και δια της στοματικής οδού με κατάποση.

Ο ιός είναι ευρέως διαδεδομένος στην φύση [390, 391] και ως σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί 4 τύποι του ιού [392]. Φαίνεται πως δεν εμφανίζει συγκεκριμένη εποχική διακύμανση (με ελαφρά χειμερινή υπεροχή) και προκαλεί περίπου 5% -10% των λοιμώξεων του αναπνευστικού συστήματος κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου με νεότερα στοιχεία να υποδηλώνουν ακόμη μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης [393-399]. Όλα τα παιδιά εκτίθενται στον ιό μέχρι την ηλικία των 6 ετών, υποδηλώνοντας ότι ο ιός μπορεί να είναι ασυμπτωματικός όταν έχει χαμηλό ιικό φορτίο [400-403]. Ο ιός προκαλεί λοιμώξεις του ανωτέρω και κατωτέρω αναπνευστικού με παιδιά ηλικίας κάτω των 2 ετών να διατρέχουν τον υψηλότερο κίνδυνο [394, 404-409]. Υψηλά ποσοστά συλλοίμωξης με άλλους ιούς όπως ο RSV, οι ρινοϊοί και αδενοϊοί έχουν τεκμηριωθεί εμποδίζοντας τον ακριβή προσδιορισμό της παθογονικότητας του ιού ο οποίος δεν τηρεί σε όλες τις περιπτώσεις τις προϋποθέσεις των τροποποιημένων κριτηρίων του Koch [385, 410-415]. Επιμένουσα λοίμωξη στο αναπνευστικό σύστημα μπορεί να εξηγήει αυτές τις παρατηρήσεις [416, 417]. Η μετάδοση του ιού θεωρείται πως συμβαίνει με τους κλασσικούς τρόπους μετάδοσης αναπνευστικών ιών με κάποιες αναφορές στον πιθανό ρόλο μολυσμένων με τον ιό υδάτων και λυμάτων [418, 419].

Πρόσφατα έχει τεκμηριωθεί ως αίτιο λοίμωξης του αναπνευστικού και πνευμονίας σε ενήλικες [420-424]. Σε μία μελέτη ο ιός ανιχνεύθηκε με PCR σε αναπνευστικά δείγματα από 4 από 273 (1.5%) νοσηλεύόμενους ενήλικες στους οποίους δεν είχε ανιχνευθεί εναλλακτική ιογενής λοίμωξη. Όλοι είχαν υποκείμενη πνευμονοπάθεια και 2 είχαν υποκείμενη καρδιοπάθεια. Στην ίδια μελέτη 36 από 1539 (2.3%) παιδιά είχαν θετική PCR σε αναπνευστικό δείγμα [425]. Σε αντίστοιχη μελέτη σε ενήλικες πάσχοντες από γαστρεντερίτιδα διαπιστώθηκε θετική PCR για τον ιό σε 18 από 275 (4.8%) ασθενείς [426]. Η λοίμωξη από τον ιό δεν φαίνεται να εμφανίζει εποχιακή κατανομή [424, 427].

Η κλινική εικόνα χαρακτηρίζεται από εκδηλώσεις από το ανώτερο αναπνευστικό όπως βήχα, πυρετό, ρινόρροια, πονόλαιμο, συριγμό, επίμονη μέση ωτίτιδα, σύνδρομο παροξυσμικού βήχα που προσομοιάζει με κοκκύτη και διάρροια [393, 428-431]. Λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού σε μικρά παιδιά μπορεί να παρουσιασθεί ως βρογχίτιδα, βρογχιολίτιδα και πνευμονία [423, 427, 431-436]. Πετεχειώδες εξάνθημα, υποξαιμία και ουδετεροφιλία ανευρίσκονται συχνά [437, 438]. Απειλητική για την ζωή νόσος του αναπνευστικού με ανάγκη χρήσης εξωσωματικής οξυγόνωσης έχει περιγραφεί [439, 440]. Λοίμωξη με τον ιό έχει επίσης συσχετισθεί με συριγμό και επακόλουθη ανάπτυξη άσθματος ή επιδείνωση προϋπάρχουσας ασθματικής νόσου [385, 411, 441-443]. Εκτός από πνευμονία της κοινότητας ο Bocavirus μπορεί να ευθύνεται για νοσοκομειακή πνευμονία σε παιδιά [444]. Κάποιες μελέτες έχουν αναφέρει συσχέτιση λοίμωξης από HBoV με εμφάνιση γαστρεντερίτιδας με κύρια συμπτώματα την διάρροια και το κοιλιακό άλγος [415, 426, 445-449]. Ασθενής συσχέτιση με την νόσο Kawasaki καθώς και με ανάπτυξη εγκεφαλίτιδας έχει επίσης περιγραφεί [450-454]. Επαναλοίμωξη με διαφορετικά στελέχη του ιού HBoV1 μπορεί να επισυμβεί [455].

Ανοσοκατεσταλμένα παιδιά εμφανίζουν παρόμοια συμπτωματολογία αλλά επανενεργοποίηση του ιού και παρατεταμένη ιική απέκκριση (shedding) μπορεί να συμβεί και να οδηγήσει σε εμμένουσα συμπτωματολογία [456, 457]. Εμμένον θετικό αποτέλεσμα για τον ιό μπορεί να υποδηλώσει επανενεργοποίηση ιού από λανθάνουσα κατάσταση (latent state) [458]. Η επίπτωση της νόσου φαίνεται να είναι ίδια με αυτήν σε ανοσοεπαρκή παιδιά [456]. Έχουν αναφερθεί στην βιβλιογραφία σπάνιες περιπτώσεις διάσπαρτης νόσου με εμφάνιση ηπατίτιδας και σοβαρής διάρροιας [459-461].

Για την διάγνωση λοίμωξης από ΗΒοV χρησιμοποιούνται τεχνικές PCR (συμπεριλαμβανομένης και real-time ποσοτικής τεχνικής) σε ρινοφαρυγγικά δείγματα[384, 426, 462-464]. Ορολογικός έλεγχος έχει επίσης χρησιμοποιηθεί [401, 465-473]. Σε μία μελέτη θετικά IgG αντισώματα βρέθηκαν σε 280 από 299 (94%) ενήλικες, ενώ θετικά IgM μόνο σε 2 από 299 (1%) [468].

Η θεραπευτική αγωγή είναι υποστηρικτική γιατί δεν υπάρχει διαθέσιμη αντι-ική θεραπεία για τον ΗΒοV. Βρογχοδιαστολή μπορεί να χρησιμοποιηθεί με μικρό όφελος.

9.2 Φυσική ανοσιακή απάντηση και κυτταροκίνες

Η συχνή ανίχνευση άλλων παθογόνων σε δείγματα από το αναπνευστικό (33%) και δείγματα από κόπρανα (56%) [385, 410-415] έχει θέσει σε αμφιβολία τον ρόλο αυτού του ιού ως κυρίου παθογόνου-αιτίου λοίμωξης. Οι Lu et al ανέφεραν ότι ένας επιπλέον ιός ή ιοί ανιχνεύθηκαν σε ποσοστό έως 77% των περιπτώσεων. Κοροναϊοί και ιοί παραγρίπης ήταν τα πιο συχνά συ-παθγόνα (30% και 28% αντίστοιχα) ενώ μόνο το 22% των ασθενών είχαν αμιγή μόλυνση με ΗΒοV1 μόνο [408]. Οι ίδιες παρατηρήσεις ισχύουν και για νεότερους τύπους του ιού [474-476] και η συσχέτιση με εμφάνιση γαστρεντερίτιδας αμφισβητείται από κάποιους ερευνητές [477].

Η λοίμωξη από τον ιό ΗΒοV1 έχει μια κλινική συμπεριφορά που προσομοιάζει της λοίμωξης από ρινοϊό. Όμως δεν έχει αποδειχθεί συσχέτιση μεταξύ λοίμωξης από ΗΒοV και της ανάπτυξης άσθματος (όπως για τους ρινοϊούς). Παρ' όλα αυτά, ο ιός ΗΒοV έχει απομονωθεί από τις αναπνευστικές εκκρίσεις ασθενών κατά τη διάρκεια κρίσεων άσθματος.

Ο ιός ΗΒοV1 εγείρει μια ισχυρή και μακράς διάρκειας αντισωματική απάντηση [478]. Η λοίμωξη με τον ιό συσχετίζεται με τα επίπεδα της Th1 / Th2 ανοσιακής απόκρισης στον ρινοφαρυγγικό βλεννογόνο [479]. Σε ρινοφαρυγγικές εκκρίσεις παιδιών με βρογχολίτιδα από ΗΒοV1, τα επίπεδα κυτταροκινών Th1 / 2, ιδιαίτερα της IFN- γ , IL-2 και IL-4, είναι αυξημένα [480]. Φαίνεται ότι η δομική πρωτεΐνη VP2 τροποποιεί το μονοπάτι της ιντερφερόνης στοχοποιώντας την πρωτεΐνη RNF125 (Ring finger protein 125) που λειτουργεί ως αρνητικός ρυθμιστής της σηματοδότησης του μονοπατιού της τύπου 1 ιντερφερόνης (type 1 interferon signaling) οδηγεί σε ενισχυμένη παραγωγή IFN- β [481, 482]. Επιπρόσθετα σε μελέτες που

εξέτασαν βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα (BAL) μια σειρά από κυτταροκίνες εκκρίνονται όπως ο επιδερμικός αυξητικός παράγοντας EGF, ο αυξητικός παράγοντας του αγγειακού ενδοθηλίου VEGF, ο CCL-17, ο TNF- α , ο TNF- β και ο TIMP-1. Οι φλεγμονώδεις αυτές κυτταροκίνες συμμετέχουν στην βλάβη του αεραγωγού μετά από λοίμωξη με HBoV [483]. Σε άλλες μελέτες ασθενών με HBoV τα επίπεδα των κυτταροκινών TNF- α , IL-2, IL-5, και IL-8 είναι αυξημένα στον ορό [484]. Σε συγκριτική μελέτη που συνέκρινε τα χαρακτηριστικά της Th κυτταρικής ανοσίας μεταξύ παρβοϊού B19 και HBoV σε κύτταρα από υγιείς ασυμπτωματικούς εθελοντές (οροθετικούς για HBoV) εκτεθέντα σε ιικά σωματίδια προσομοιάζοντα με τον ιό (Virus Like Particles), η απόκριση κυτταροκινών και IFN- γ συσχετιζόταν ισχυρότερα μεταξύ τους στα πειράματα με τον HBoV παρά με τον B19 παρβοϊό με σημαντική συσχέτιση και των δύο ιών με ειδικές ανοσιακές απαντήσεις για την IL-13 [485].

Τελευταία συζητείται ο ρόλος του ιού στην καρκινογένεση, ενώ έχουν περιγραφεί περιπτώσεις αιμοφαγοκυτταρικής λεμφοϊστοκυττάρωσης στις οποίες ανιχνεύθηκε ο HBoV με PCR στις ρινοφαρυγγικές εκκρίσεις [486]. Η λοίμωξη με HBoV δίνει το έναυσμα για μια διαδικασία απόκρισης σε βλάβη του DNA (DNA Damage Response ή DDR), ενεργοποιώντας και τις τρεις ειδικές κινάσες [phosphatidylinositol 3-kinaserelated kinases (PI3KKs)]: ATM, ATR, and DNA-PKcs. Η διαδικασία αυτή θα μπορούσε να οδηγήσει σε προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο των κυττάρων του αναπνευστικού επιθηλίου μέσω δραστικών ριζών οξυγόνου. Ο HBoV1 αναπαράγεται μόνο σε τελικά διαφοροποιημένα, μη διαιρούμενα κύτταρα [487, 488]. Ο ιός και ειδικότερα ο γονότυπος 1, απομονώθηκε σε περίπου 25% των ασθενών με κακοήθεια του παχέος εντέρου χωρίς όμως να έχει τεκμηριωθεί άμεση αιτιώδης συσχέτιση [489]. Περαιτέρω μελέτες για την συσχέτιση του ιού με καρκινογένεση είναι απαραίτητες.

10. ΡΙΝΟΪΟΙ

10.1 Βασικές γνώσεις

Οι ρινοϊοί, η πιο συνηθισμένη αιτία για την ανάπτυξη του κοινού κρυολογήματος, ανήκουν στην οικογένεια των picornavirus. αποτελούνται από έναν κλώνο RNA μεγέθους ενός ριβοσώματος (pico) [490-492]. Άλλα μέλη της οικογένειας picorna που αποτελούν αιτία αναπνευστικής λοίμωξης είναι οι εντεροϊοί και ο παρεκοϊός (parechovirus).

Η λοίμωξη με ρινοϊούς περιορίζεται στο ανώτερο αναπνευστικό σύστημα ενώ μπορεί να είναι αίτιο ωτίτιδας και παραρρινοκολπίτιδας. Περιγράφονται ως αίτιο επιδείνωσης βρογχικού άσθματος, κυστικής ίνωσης, χρόνιας βρογχίτιδας και σοβαρής λοίμωξης του κατωτέρω αναπνευστικού σε ηλικιωμένους και ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς [493-498].

Το κοινό κρυολόγημα είναι μια οξεία λοίμωξη του αναπνευστικού συστήματος (RTI) που χαρακτηρίζεται από ήπια συμπτώματα κόρυζας, ρινόρροια, ρινική απόφραξη και πταρμό. Αν και ο κατάλογος των παραγόντων που προκαλούν το κοινό κρυολόγημα είναι μεγάλος, το 66-75% των περιπτώσεων οφείλεται σε 200 αντιγονικά διακριτούς ιούς από 8 διαφορετικά γένη. Οι ρινοϊοί είναι οι συνηθέστεροι από αυτούς (25-80% των περιπτώσεων), ακολουθούμενοι από τους κοροναϊούς (10-20%), τους ιούς γρίπης (10-15%) και τους αδενοϊούς (5%). Στις ΗΠΑ υπολογίζεται πως 3-6 περιπτώσεις λοίμωξης του ανωτέρου αναπνευστικού ανά άτομο συμβαίνουν ετησίως. Τα κοινά κρυολογήματα που συμβαίνουν από τον Οκτώβριο έως τον Μάρτιο οφείλονται στην διαδοχική εμφάνιση πολλών ιών που προσβάλλουν το αναπνευστικό σύστημα (Γράφημα/Εικόνα 8 από Buensalido et al [499]).

Το κοινό κρυολόγημα είναι συχνότερο από τον Σεπτέμβριο έως και τον Απρίλιο στα εύκρατα κλίματα. Οι λοιμώξεις από ρινοϊό, οι οποίες εμφανίζονται καθ' όλη τη διάρκεια του έτους, αντιπροσωπεύουν την αρχική αύξηση της συχνότητας εμφάνισης κοινού κρυολογήματος κατά τη διάρκεια του φθινοπώρου (προκαλώντας μέχρι και το 80% των περιπτώσεων κοινού κρυολογήματος αυτή την περίοδο) και μια δεύτερη αιχμή εμφάνισης στο τέλος της άνοιξης [490, 500-502].

JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
		RHINOVIRUS									
CORONAVIRUS					ENTEROVIRUS						
ADENOVIRUS											
		PIV-3					PIV2,3				
RSV										RSV	
INFLUENZA											
MPV											

Γράφημα/Εικόνα 8. Εποχική μεταβλητότητα στην συχνότητα εμφάνισης παθογόνων ιών που προκαλούν λοίμωξη του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος (από Buensalido et al. [499]).

Συχνότερα, οι ρινοϊοί μεταδίδονται μέσω άμεσης επαφής ή μέσω αεροσταγονιδίων [503, 504]. Η πρωτεύουσα θέση προσβολής από τον ιό είναι ο ρινικός βλεννογόνος, αν και ο επιπεφυκότας μπορεί να εμπλέκεται σε μικρότερο βαθμό. Ο ρινοϊός συνδέεται με το αναπνευστικό επιθήλιο και εξαπλώνεται τοπικά [491, 505]. Ο κύριος ανθρώπινος υποδοχέας για τους ρινοϊούς είναι το ICAM-1 (που βρίσκεται σε μεγάλες ποσότητες στον οπίσθιο ρινοφάρυγγα) [506-509]. Τα ιικά σωματίδια συνήθως μεταδίδονται μέσω ενοφθαλμισμού στο μάτι ή τη μύτη από την επαφή με τα δάκτυλα που φέρουν τον ρινοϊό, ειδικά επειδή οι ρινοϊοί είναι ικανοί να επιβιώσουν στα χέρια για ώρες [510]. Η ιδιαίτερα μεταδοτική συμπεριφορά περιλαμβάνει το φύσημα της μύτης, το φτέρνισμα και τη φυσική μεταφορά μολυσμένων εκκρίσεων σε περιβαλλοντικές επιφάνειες ή σε χαρτί. Σε αντίθεση με τη δημοφιλή πεποίθηση, συμπεριφορές όπως το φιλί, η ομιλία, ο βήχας ή ακόμα και το σάλιο δεν συμβάλλουν ουσιαστικά στην εξάπλωση της νόσου.

Η βαρύτητα των συμπτωμάτων ποικίλλει μεταξύ ατόμων και ηλικιακών ομάδων και καθορίζεται κυρίως από τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, την ηλικία, το ιατρικό ιστορικό και όχι από τη

μολυσματικότητα του ρινοϊού [511]. Η ρινική συμφόρηση και οι αυξημένες εκκρίσεις είναι οι πιο συνήθεις εκδηλώσεις. Η φαρυγγαλγία ξεκινά την πορεία της νόσου, αλλά διαρκεί συνήθως μόνο για την πρώτη ημέρα [512]. Στη συνέχεια, την δεύτερη μέρα εμφανίζεται η ρινική συμφόρηση μαζί με το φτάρνισμα και την πέμπτη ημέρα τον βήχα ενώ τα ρινικά συμπτώματα υποχωρούν σταδιακά [513]. Η επιπεφυκίτιδα είναι ένα ασταθές εύρημα ενώ πυρετός συνήθως δεν υπάρχει στα παιδιά. Έχει επίσης βρεθεί ότι ο ιός προκαλεί βρογχιολίτιδα στα βρέφη με αποτέλεσμα την ίδια κλινική εικόνα με τον RSV [112]. Η κύρια διαφορά είναι η εποχιακή επίπτωση με τους ρινοϊούς να εμφανίζουν μια δι-εποχική κατανομή (φθινόπωρο και άνοιξη) [514]. Ο ρινοϊός έχει απομονωθεί ως πιθανή αιτία πνευμονίας τόσο σε παιδιά όσο και σε ενήλικες [2, 515, 516]. Ωστόσο, η μεγάλη πλειοψηφία των ενηλίκων σε αυτές τις αναφορές είχε συλλοίμωξη με άλλο μικρο-οργανισμό που δείχνει το ρόλο του ανθρώπινου ρινοϊού που δρα ως Δούρειος ίππος που αμβλύνει τους μηχανισμούς άμυνας του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος.

Η διάγνωση του κοινού κρυολογήματος είναι κυρίως κλινική και βασίζεται στα συμπτώματα, την εποχή, την ηλικία και το ιατρικό ιστορικό. Υπάρχουν ταχείες δοκιμασίες για ανίχνευση αντιγόνων του ιού και τεχνολογίες βασισμένες σε PCR. Ο ιός μπορεί να καλλιεργηθεί από ρινικό έκπλυμα. Το κοινό κρυολόγημα πρέπει να διαφοροποιείται από αλλεργική ή εποχική ρινίτιδα, βακτηριακή φαρυγγίτιδα, ιγμορίτιδα, γρίπη και κοκκύτη. Προσφάτως όλο και περισσότερο χρησιμοποιούνται μοριακές τεχνικές για την ανίχνευση ρινοϊών σε αναπνευστικά δείγματα [517-521]. Οι νεότερες τεχνικές είναι ιδιαίτερα χρήσιμες σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς. Επίσης μπορεί να βοηθήσουν στην ορθολογική χρήση αντιμικροβιακών στο κοινό κρυολόγημα. Μελέτη που χρησιμοποίησε ταχεία μοριακή δοκιμασία ανίχνευσης πολλαπλών ιών σε ασθενείς με κοινό κρυολόγημα διαπίστωσε ότι η γρήγορη ανίχνευση στα ΤΕΠ θα μπορούσε να οδηγήσει σε μείωση της συνταγογράφησης αντιβιοτικών στην κοινότητα, μετά το εξιτήριο από τα ΤΕΠ [518]. Τα αποτελέσματα της PCR τεχνικής πρέπει να ερμηνεύονται προσεκτικά [517]. Μία μελέτη ανέφερε εμμένοντα θετικά αποτελέσματα για 5-6 εβδομάδες μετά την εισαγωγή παιδιών για ασθένειες που αποδείχθηκαν δευτερογενείς από λοίμωξη με ρινοϊό. Επιπλέον, η χρήση τεχνικών της διπλής PCR (nested-PCR) οδηγεί συχνά σε ανίχνευση περισσότερων από 1 μικρο-οργανισμών σε ασθενείς με κοινό κρυολόγημα.

Η θεραπεία είναι υποστηρικτική με αναλγητικά, αποσυμφορητικά, αντι-ισταμινικά και αντιβηχικά φάρμακα ενώ πολλοί φαρμακευτικοί παράγοντες βρίσκονται σε ερευνητικό επίπεδο [522-527].

10.2 Φυσική ανοσιακή απάντηση και κυτταροκίνες

Η φυσική απόκριση του ανθρώπινου αμυντικού συστήματος σε βλάβη από ρινοϊό περιλαμβάνει το ICAM-1, το οποίο βοηθά στη δέσμευση μεταξύ ενδοθηλιακών κυττάρων και λευκοκυττάρων. Ο ρινοϊός χρησιμοποιεί το ICAM-1 ως υποδοχέα για προσκόλληση. Επιπλέον, χρησιμοποιεί το ICAM-1 για επακόλουθη απελευθέρωση (uncoating) του ιώματος κατά τη διάρκεια της κυτταρικής προσβολής. Μερικοί ορότυποι ρινοϊών ενισχύουν την έκφραση ICAM-1 σε ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα ώστε να αυξήσουν την ευαισθησία σε λοίμωξη. Λίγα κύτταρα στην πραγματικότητα μολύνονται με ρινοϊό, και η λοίμωξη περιλαμβάνει μόνο ένα μικρό τμήμα του επιθηλίου. Τα συμπτώματα αναπτύσσονται 1-2 ημέρες μετά την λοίμωξη, κορυφώνονται στις 2-4 ημέρες, αν και υπάρχουν αναφορές για έναρξη συμπτωματολογίας ήδη 2 ώρες μετά την επαφή/προσβολή από τον ιό και εμφάνιση των κύριων συμπτωμάτων 8-16 ώρες αργότερα [528]. Παρουσία ιαιμίας δεν είναι συνήθης.

Μια τοπική φλεγμονώδης αντίδραση στον ρινοϊό στην αναπνευστική οδό μπορεί να οδηγήσει σε ρινική έκκριση, ρινική συμφόρηση, φτάρνισμα και ερεθισμό στο λαιμό χωρίς βλάβη στο ρινικό επιθήλιο [529, 530]. Διάφοροι πολυμορφισμοί σε γονίδια των κυτταροκινών έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζουν τη σοβαρότητα της λοίμωξης από ρινοϊό, γεγονός που υποδηλώνει την ύπαρξη γενετικής προδιάθεσης [531]. Η έλλειψη ανιχνεύσιμης ιστοπαθολογικής βλάβης που να προκαλεί τη σχετιζόμενη ρινική απόφραξη, ρινόρροια και φτάρνισμα, οδηγεί στην υπόθεση ότι η ανοσιακή απόκριση του ξενιστή παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση της νόσου.

Τα μολυσμένα κύτταρα του αναπνευστικού συστήματος απελευθερώνουν ιντερλευκίνη IL-8, η οποία ασκεί ισχυρή χημειοταξία για πολυμορφοπύρηνια λευκοκύτταρα. Οι συγκεντρώσεις της IL-8 σε εκκρίσεις συσχετίζονται με τη σοβαρότητα των συνηθισμένων συμπτωμάτων του κοινού κρυολογήματος. Φλεγμονώδεις μεσολαβητές, όπως οι κινίνες και οι προσταγλανδίνες, μπορεί να προκαλέσουν

αγγειοδιαστολή, αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα και έκκριση από τους εξωκρινείς αδένες [501, 532, 533].

Αυτά, μαζί με την τοπική παρασυμπαθητική διέγερση των νευρικών απολήξεων της περιοχής, οδηγούν στα συμπτώματα του κοινού κρυολογήματος. Η ανεπαρκής παραγωγή IFN-β από βρογχικά επιθηλιακά κύτταρα ασθματικών ασθενών έχει προταθεί ως ένας μηχανισμός για την αυξημένη ευαισθησία σε λοιμώξεις από ρινοϊό σε άτομα με άσθμα.

Σχετικά με την IL-17 φαίνεται πως έχει συνεργική δράση με τον ανθρώπινο ρινοϊό για την επαγωγή της IL-8 από τα επιθηλιακά κύτταρα και μπορεί να συμβάλει στην χημειοταξία ουδετερόφιλων, ανώριμων δενδριτικών κυττάρων (DCs) και T κυττάρων μνήμης στον πνεύμονα, συμβάλλοντας έτσι σε ένα σοβαρό φλεγμονώδες προφίλ που παρατηρείται κατά τη διάρκεια των ιογενών παροξύνσεων νόσων όπως το άσθμα και η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ) [534].

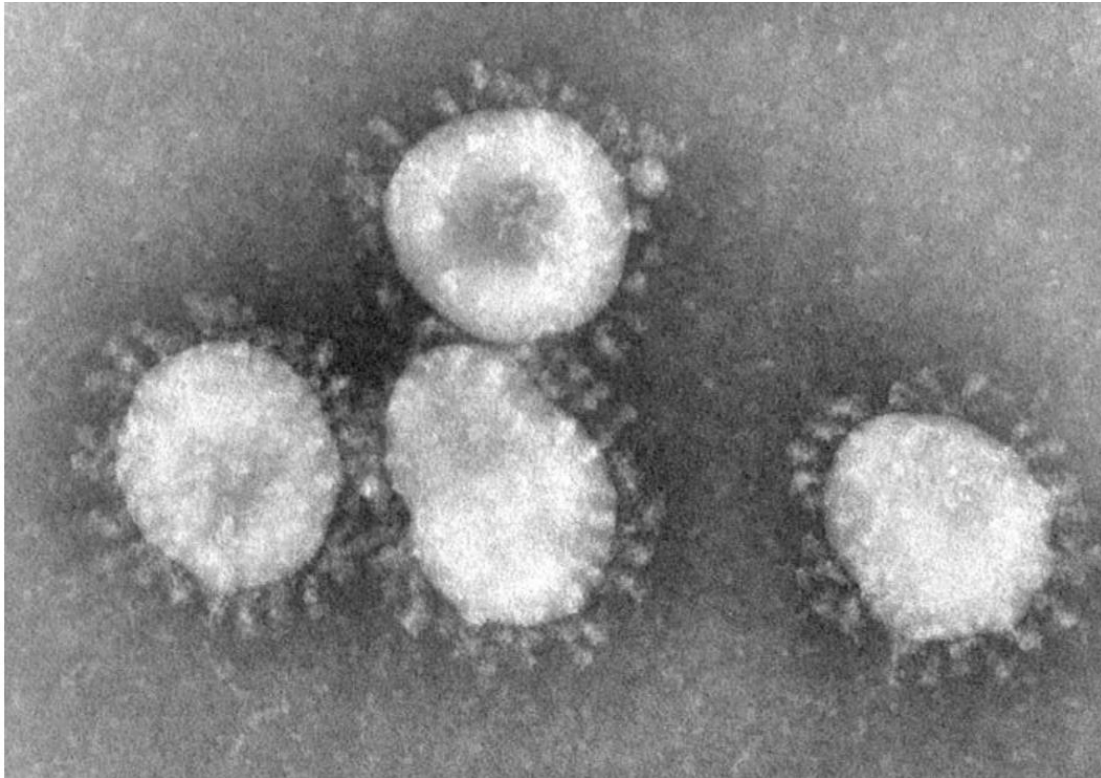
Η ιική κάθαρση συνδέεται με την απόκριση του ξενιστή και οφείλεται εν μέρει στην τοπική παραγωγή νιτρικού οξειδίου. Ο ρινοϊός εκκρίνεται σε μεγάλες ποσότητες στις ρινικές εκκρίσεις (1 εκατομμύριο μολυσματικά ιικά σωματίδια παρόντα ανά χιλιοστόλιτρο ρινικών εκπλύσεων). Η έκκριση ιικών σωματιδίων μπορεί να συμβεί λίγες μέρες πριν τα συμπτώματα του κοινού κρυολογήματος αναγνωριστούν από τον ασθενή, κορυφώνεται στις ημέρες 2-7 της ασθένειας και μπορεί να διαρκέσει έως και 3-4 εβδομάδες [491, 505, 535-538].

Ειδικά αντισώματα εξουδετέρωσης του συγκεκριμένου ορότυπου του ρινοϊού που προκάλεσε την λοίμωξη ανευρίσκονται 7-21 ημέρες μετά τη λοίμωξη σε 80% των ασθενών. Αν και αυτά τα αντισώματα εμμένουν επί σειρά ετών, παρέχοντας μακροχρόνια ανοσία, η ανάρρωση από την ασθένεια πιθανότατα σχετίζεται με την ανάπτυξη κυτταρικής ανοσίας. Η συνεχής προστασία από επαναλοίμωξη από τον ίδιο ορότυπο φαίνεται να οφείλεται εν μέρει στην παρουσία της ειδικής ανοσοσφαιρίνης IgA στις ρινικές εκκρίσεις, της ειδικής ανοσοσφαιρίνης IgG στον ορό και ενδεχομένως της ειδικής ανοσοσφαιρίνης IgM στον ορό.

11. ΚΟΡΟΝΑΪΟΙ

11.1 Βασικές γνώσεις

Οι κοροναϊοί είναι μονής έλικας RNA ιοί με το μεγαλύτερο σε μέγεθος RNA γονιδίωμα στην φύση. Τα όνομα τους προέρχεται από την λατινική λέξη corona που σημαίνει στεφάνι λόγω της εμφάνισης τους στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο [539, 540].



Γράφημα/Εικόνα 9. Κοροναϊός σε εικόνα από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (από το Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων των Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής, CDC)

Θεωρείται αναδυόμενο και ταχύτατα εξελισσόμενο παθογόνο λόγω του υψηλού αριθμού γενετικών νουκλεοτιδικών αλλαγών και ανασυνδυασμών που παρατηρούνται σε αυτούς τους ιούς [541]. Τα τελευταία έτη, η εξέλιξη των HCoV's επιταχύνθηκε από την επίδραση παραγόντων όπως η αστικοποίηση και η πτηνοτροφία που επέτρεψαν τη συχνή ανάμειξη ειδών και διευκόλυναν τη κατάργηση του «φραγμού των ειδών» (species barrier) και τον γενετικό ανασυνδυασμό αυτών των ιών [542]. Σε πρόσφατη ταξινόμηση διακρίνονται 6 διαφορετικοί τύποι HCoV (Πίνακας 7) και ειδικότερα οι HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-HKU1, ο ιός του σοβαρού οξέος αναπνευστικού συνδρόμου [severe acute respiratory

syndrome coronavirus (SARS-CoV)] και ο ιός του αναπνευστικού συνδρόμου της Μέσης Ανατολής [Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV)].

<i>Είδος</i>	<i>Στελέχη</i>	<i>Ανακάλυψη</i>	<i>Κυτταρικός υποδοχέας</i>	<i>Ξενιστής</i>
<i>Coronavirinae</i>				
<i>Alpha-coronavirus</i>	HCoV-229E	1966	Human Aminopeptidase N (CD13)	Νυχτερίδες
	HCoV-NL63	2004	ACE2	Μοσχογαλές, Νυχτερίδες
<i>Beta-coronavirus</i>	HCoV-OC43	1967	9- <i>O</i> -Acetylated sialic acid	Βοοειδή
	HCoV-HKU1	2005	9- <i>O</i> -Acetylated sialic acid	Ποντίκια
	SARS-CoV	2003	ACE2	Μοσχογαλές, Νυχτερίδες
	MERS-CoV	2012	DPP4	Νυχτερίδες, καμήλες

Πίνακας 7. Ταξινόμηση των κυρίων υποτύπων κοροναϊών που αποτελούν αίτιο ανθρώπινης λοίμωξης

Οι κοροναϊοί σχετίζονται με λοίμωξη του αναπνευστικού συστήματος ποικίλης βαρύτητας που περιλαμβάνει εκδηλώσεις κοινού κρυολογήματος, βρογχολίτιδας και πνευμονίας ιδιαίτερα σε ηλικιωμένους, παιδιά και ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς [543-545]. Τέσσερις HCoVs (HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43 και HCoV-HKU1) κυκλοφορούν σε παγκόσμιο επίπεδο και συνεισφέρουν περίπου στο ένα τρίτο των περιπτώσεων κοινού κρυολογήματος στον ανθρώπινο πληθυσμό [546].

Ο ιός SARS-CoV πρωτοεμφανίστηκε το 2002-2003 στο Guangdong της Κίνας ως μια άτυπη πνευμονία που χαρακτηριζόταν από πυρετό, πονοκέφαλο και ακολούθως έναρξης αναπνευστικών συμπτωμάτων όπως βήχα και πνευμονία, τα οποία αργότερα μπορούσαν να εξελιχθούν σε απειλητική για τη ζωή αναπνευστική ανεπάρκεια και σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας [547]. Λόγω υψηλής μεταδοτικότητας μεταξύ των ανθρώπων γρήγορα εξαπλώθηκε σε 29 χώρες, μολύνοντας περισσότερα από 8000 άτομα με ποσοστό

θνητότητας περίπου 10% [548-551]. Αρχικά, οι μοσχογαλές (palm civets) θεωρήθηκαν ως η φυσική δεξαμενή για τον ιό [552]. Ωστόσο, οι μετέπειτα φυλογενετικές αναλύσεις επεσήμαναν την προέλευση του SARS-CoV από τη νυχτερίδα με βάση αλληλουχίες που προσομοίαζαν με αυτές του ανθρώπινου ιού SARS που βρέθηκαν σε νυχτερίδες [553]. Η επιδημία SARS σταμάτησε σε παγκόσμιο επίπεδο με την λήψη των κατάλληλων μέτρων ελέγχου της νόσου. Η επιδημία MERS-CoV εμφανίστηκε στη Σαουδική Αραβία το 2012 με παρόμοια κλινικά συμπτώματα όπως το SARS-CoV αλλά με πολύ υψηλότερο ποσοστό θνητότητας της τάξεως περίπου του 35% [554, 555]. Σε αντίθεση με το SARS-CoV, το οποίο παρουσιάζει γεγονότα υπερ-μετάδοσης (super-spreading events), η μετάδοση του MERS-CoV είναι γεωγραφικά περιορισμένη [547]. Στην πραγματικότητα, οι αναφερόμενες περιπτώσεις MERS-CoV προέρχονται κυρίως από εστίες στις χώρες της Μέσης Ανατολής ή από πρόσφατα ταξίδια στην περιοχή [556, 557] όπως συνέβη σε πρόσφατο περιστατικό στην Ελλάδα που είχε έλθει από την Σαουδική Αραβία [558-560].

Η λοίμωξη από κοροναϊό έχει εποχιακή κατανομή (κυρίως τον χειμώνα) αλλά μπορεί να επισυμβεί καθ'όλη την διάρκεια του έτους [561-563]. Άμεση επαφή με επιμολυσμένες επιφάνειες και αεροσταγονίδια εμπλέκονται στην μετάδοση του ιού. Επαναλοιμώξεις μπορεί να οφείλονται σε αντιγονικές διαφοροποιήσεις του ιού [564].

Οι λοιμώξεις από κοροναϊούς στις περισσότερες περιπτώσεις εμφανίζονται με συμπτώματα κοινού κρυολογήματος όπως ρινική συμφόρηση, ρινόρροια, πονόλαιμος, φτάρνισμα, βήχα και δακρύρροια [511, 565-567]. Πλειάδα άλλων ιών (όπως π.χ. οι ρινοϊοί, ο RSV, οι εντεροϊοί) δίνει παρόμοια συμπτώματα (βλέπε και υποκεφάλαιο για ρινοϊούς) [511, 565]. Έκκριση από ασυμπτωματικά άτομα είναι πιθανά υπεύθυνη για μετάδοση σε νοσηλευόμενους παιδιατρικούς ασθενείς [568]. Στα παιδιά η νόσος μπορεί να επιπλακεί από μέση ωτίτιδα [569, 570]. Πέραν των νεότερων αναδυόμενων παθογόνων SARS-CoV και MERS-CoV οι κοροναϊοί σχετίζονται με εμφάνιση πνευμονίας της κοινότητας, βρογχολίτιδας και λαρυγγοτραχειοβρογχίτιδας (croup) στα παιδιά [571-579]. Οι ιοί επιπρόσθετα ευθύνονται για επιδείνωση υποκείμενης χρόνιας πνευμονοπάθειας όπως άσθμα ή αποφρακτική πνευμονοπάθεια σε ηλικιωμένους [580, 581]. Εκτός από νόσο του αναπνευστικού σχετίζονται με προσβολή του γαστρεντερικού και του νευρικού συστήματος [582-584].

Αντίθετα με τους κλασσικούς κοροναϊούς λοίμωξη από τον ο ιό SARS CoV συσχετιζόταν από την αρχή με σοβαρότερη νόσο με πυρετό και συμπτωματολογία γρίπης σχεδόν σε όλους τους προσβεβλημένους ασθενείς [585]. Εντός 5-7 ημερών εκδηλωνόταν ένας παραγωγικός βήχας με δύσπνοια που μπορούσε να οδηγήσει σε αναπνευστική ανεπάρκεια με ανάγκη μηχανικού αερισμού [548, 549, 586-590]. Παρόμοια κλινική εικόνα εμφανίζει και ο ιός MERS-CoV [554, 555].

Σχετικά με τη διάγνωση χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο τεχνικές PCR[591] ενώ υπάρχει και ορολογικός έλεγχος για νεότερους τύπους του ιού (με διασταυρούμενες όμως αντιδράσεις) βασιζόμενος σε τεχνικές έμμεσου ανοσοφθορισμού και μικροσυστοιχίες πρωτεϊνών [592].

Θεραπευτικά η υποστηρικτική αγωγή και ο μηχανικός αερισμός σε σοβαρά περιστατικά ελλείπει ειδικής αντι-ϊκής αγωγής έχουν εξαιρετική σημασία. Στην αντιμετώπιση σοβαρών περιστατικών έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορα σχήματα όπως ριμπαβιρίνη, αναστολείς πρωτεασών, ιντερφερόνη και ορός αναρρώνοντος (convalescent serum) ενώ διερευνάται και η χρήση νεότερων θεραπειών [57, 593-601].

11.2 Φυσική ανοσιακή απάντηση και κυτταροκίνες

Ως ενδοκυττάρια παθογόνα οι ιοί HCoVS εκμεταλλεύονται τον ανοσιακό μηχανισμό των κυττάρων του ξενιστή για τη δική τους αναπαραγωγή και εξάπλωση [602-604]. Έχει αναφερθεί μια σημαντική δράση των ιών στην ενεργοποίηση της απόπτωσης (κυτταρικός θάνατος) μέσω της κασπάσης 8 [602]. Όπως και στους περισσότερους ιούς μια εκσεσημασμένη ανοσιακή απάντηση οδηγεί σε παθολογικές βλάβες [605-607].

Λοίμωξη με τους HCoVS ιδιαίτερα τους υψηλής παθογονικότητας ιούς SARS και MERS συσχετίζεται με καταστολή της σύνθεσης ιντερφερόνης (ενός από τους κύριους αντι-ϊκούς μηχανισμούς του κυττάρου) [551, 602, 608-612]. Η ικανότης του ιού να χειρίζεται το μονοπάτι της τύπου 1 ιντερφερόνης είναι καθοριστική για την μολυσματικότητα του ιού [613]. Ένα άλλο σημαντικό μέρος της ανοσιακής απόκρισης που χρησιμοποιεί ο οργανισμός μετά την λοίμωξη με τον ιό είναι το μονοπάτι NF-κΒ το οποίο είναι απαραίτητο για την επαγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών [602, 614, 615]. Ο κοροναϊός HCoV-229E σε πειράματα με περιφερικά μονοκύτταρα (PBMCs) αποδείχθηκε πως επάγει την παραγωγή IL-8 μια

διαδικασία η οποία ανεστράφη με την χορήγηση NF-kB αναστολέα [615]. Η IFN-α μοιάζει να εκκρίνεται σε υψηλές ποσότητες κατά την κλινική πορεία του MERS σε ασθενείς με σοβαρή νόσο και υψηλό ιικό φορτίο αλλά όχι σε ασθενείς που εμφανίζουν ήπια κλινική εικόνα [616].

Υψηλά επίπεδα προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών (IFN- γ , IL-1, IL-6, IL-12, και TGF β) και χημειοκινών (CCL2, CXCL10, CXCL9, και IL-8) βρέθηκαν σε ασθενείς με SARS με σοβαρή νόσο συγκριτικά με ασθενείς με ανεπίπλεκτη νόσο [617-620]. Ασθενείς με σοβαρή νόσο είχαν πολύ χαμηλά επίπεδα της αντιφλεγμονώδους κυτταροκίνης IL-10 [617]. Σε σύγκριση με τον SARS-CoV, ο MERS μπορεί να δημιουργήσει μια παραγωγική μόλυνση στα μακροφάγα, η οποία επίσης προκαλεί σημαντική (αλλά καθυστερημένα) απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτταροκινών και χημειοκινών όπως η IL-6, η IL-1 β , η IL-8 και η CXCL-10, οδηγώντας σε σοβαρή φλεγμονή και ιστική βλάβη, η οποία μπορεί να εκδηλωθεί κλινικά ως σοβαρή πνευμονία και αναπνευστική ανεπάρκεια [611, 616, 621-623]. Σε πρόσφατη μελέτη η οξεία λοίμωξη με MERS-CoV συσχετίστηκε με αύξηση των προφλεγμονωδών κυτταροκινών IL-6, IL-1RA, IP-10 και MCP-1, η οποία σχετιζόταν με την βαρύτητα της νόσου [624]. Εν τούτοις δεν παρατηρήθηκε αύξηση της IL-1 και του TNF- α στους περισσότερους ασθενείς [624]. Συμπερασματικά, όπως επιβεβαιώθηκε και σε πολύ πρόσφατες μελέτες μια ισχυρή προφλεγμονώδης απόκριση σε επίπεδο κυτταροκινών συνοδεύει την οξεία φάση της λοίμωξης από MERS-CoV [625].

Σχετικά με την Th17 απόκριση δεν διαπιστώθηκε επίδραση σε μια σειριακή κλινική μελέτη ασθενών κατά την επιδημία MERS στην Κορέα [616] ενώ σε πολύ πρόσφατη μελέτη που συνέκρινε ασθενείς με MERS με υγιείς μάρτυρες, ανιχνεύθηκε έντονη Th1 και Th17 απόκριση στους ασθενείς. Ανευρέθηκαν αξιοσημείωτες αυξήσεις IFN- γ , TNF- α , IL-15 και IL-17 σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες ενώ δεν βρέθηκε διαφορά για τις IL-12, IL-2, IL-4, IL-5, IL-13, και TGF- α [625].

Τα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα που βρίσκονται στο διάμεσο πνευμονικό ιστό μπορεί επίσης να μολυνθούν από τον MERS-CoV και επειδή ο ειδικός υποδοχέας MERS-CoV DPP4 εκφράζεται σε διάφορα ανθρώπινα κύτταρα και ιστούς, μπορεί να συμβεί συστηματική διασπορά της λοίμωξης [621]. Αυτό μπορεί να εξηγήσει την αυξημένη σοβαρότητα και το υψηλότερο ποσοστό θνητότητας σε σύγκριση με τη λοίμωξη από τον ιό SARS-CoV. Είναι ενδιαφέρον ότι λεμφοπενία έχει παρατηρηθεί στους περισσότερους ασθενείς

που έχουν μολυνθεί με MERS-CoV, όπως επίσης παρατηρήθηκε και στις λοιμώξεις του ιού SARS. Αυτό οφείλεται στη δέσμευση των ανοσοκυττάρων που προκαλείται από την απελευθέρωση κυτταροκινών και στην απελευθέρωση και επαγωγή της μονοκυτταρικής χημειοτακτικής πρωτεΐνης-1 (MCP-1) και της ιντερφερόνης-γ-επαγωγίμης πρωτεΐνης-10 (IP-10), οι οποίες καταστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των ανθρώπινων μυελοειδών προγονικών κυττάρων [626].

Στην φάση της ανάρρωσης από τον ιό MERS-CoV αναπτύσσονται αντισωματικές απαντήσεις που σχετίζονται με την βαρύτητα της νόσου [624].

12. ENTEPOΪΟΙ

12.1 Βασικές γνώσεις

Αν και ο εντεροϊός δεν ανήκει στους αναπνευστικούς ιούς, σε αυτή την ενότητα παρέχεται σύντομη περιγραφή, καθώς μπορεί να σχετίζεται με αναπνευστικά συμπτώματα. Το γένος του εντεροϊού ανήκει στην οικογένεια των *picornavirus* μαζί με τους ρινοϊούς και τους ιούς της ηπατίτιδας Α και έχει ως μέλη τους Poliovirus, τους ιούς Coxsackie Α και Β και τους ιούς Echovirus [627]. Συνολικά καλούνται εντεροϊοί και είναι μικροί RNA ιοί μονής αλύσου [627]. Οι άνθρωποι μολύνονται δια της κοπρανο-στοματικής οδού με μολυσμένη τροφή ή νερό [627, 628]. Παραμένουν σταθεροί στο όξινο pH του στομάχου, πολλαπλασιάζονται στο γαστρεντερικό σύστημα και ανιχνεύονται στα κόπρανα. Μέσω του γαστρεντερικού συστήματος βρίσκουν δίοδο προς την συστηματική κυκλοφορία και διασπείρονται σε άλλα όργανα.

Στην πλειοψηφία τους (>90%) οι εντεροϊοί διαδράμουν ασυμπτωματικά [629]. Αναλόγως της ηλικίας, του φύλου και της ανοσιακής κατάστασης του οργανισμού μπορεί να προκαλέσουν σοβαρή νόσο [630-636].

Η λοίμωξη από τον ιό μπορεί να εμφανισθεί ως ένα αυτοπεριοριζόμενο κοινό κρυολόγημα χωρίς επιπλοκές. Η νόσος από τον εντεροϊό D68 σχετίζεται με ήπια έως και σοβαρή λοίμωξη του αναπνευστικού (βρογχίτιδα, βρογχιολίτιδα, πνευμονία) και έγινε ευρέως γνωστός μετά από μια επιδημία σε παιδιά στις ΗΠΑ το 2014, με σημαντική νοσηρότητα από το αναπνευστικό η οποία συνοδεύτηκε και από αυξημένη θνητότητα.

Χαρακτηριστικά συμπτώματα που συνήθως συσχετίζονται με την λοίμωξη από εντεροϊό και μπορεί να είναι χρήσιμα στην διαφορική διάγνωση είναι η ύπαρξη ενός κηλιδοβλατιδώδους εξανθήματος [637-639] που εμφανίζεται συνήθως 24-36 ώρες μετά την έναρξη του πυρετού [640, 641].

Χαρακτηριστική συσχέτιση λοίμωξης από εντεροϊό και εμφάνισης κλινικού συνδρόμου είναι η νόσος χειρών-ποδών-στόματος (Hand-foot-mouth syndrome-HFMD) μια οξείας εμπύρετης νόσου με ανάπτυξη φυσαλίδων στον στοματικό βλεννογόνο και επώδυνα οζίδια στις παλαμιαίες και πελματιαίες επιφάνειες των άκρων [642].

Επιδημική πλευροδυνία προκαλείται από τον ιό coxsackie B και παρατηρείται σε εξάρσεις κρουσμάτων το καλοκαίρι σε εφήβους και ενήλικες [643-645]. Ο πόνος μπορεί να μιμηθεί πνευμονία, έμφραγμα μυοκαρδίου, οξεία κοιλία, πνευμονική εμβολή και λοίμωξη από έρπητα ζωστήρα.

Μυοπερικαρδίτιδα είναι άλλο ένα συχνό σύνδρομο που παρατηρείται σε λοιμώξεις από εντεροϊούς με συμπτωματολογία από ήπια νόσο έως και οξεία καρδιακή ανεπάρκεια [646-649].

Οι εντεροϊοί (κυρίως οι Coxsackie B και Echovirus) είναι κύρια αίτια άσηπτης μηνιγγίτιδας και λιγότερο συχνά εγκεφαλίτιδας [650-653].

Οξεία αιμορραγική επιπεφυκίτιδα είναι άλλο ένα σύνδρομο που παρατηρείται σε λοίμωξη από εντεροϊούς που μπορεί να έχει ιδιαίτερα έντονο χαρακτήρα σε νεαρούς ασθενείς [654, 655].

Η πολιομυελίτιδα είναι μια οξεία εμπύρετη νόσος με συνοδό άσηπτη μηνιγγίτιδα ή οποία καταλήγει σε αδυναμία και παράλυση σε ένα ή και περισσότερα άκρα. Η νόσος έχει περιορισθεί με τον καθολικό εμβολιασμό αλλά παραμένει μια παγκόσμια απειλή Δημόσιας Υγείας [656-660].

Νόσος από τον Enterovirus 71, μπορεί να οδηγήσει σε συμμετοχή του κεντρικού νευρικού συστήματος, εγκεφαλίτιδα του στελέχους, πνευμονικό οίδημα και αιμορραγία και καρδιακή ανεπάρκεια [661-668]. Η οξεία αιμορραγική επιπεφυκίτιδα είναι μια οφθαλμική λοίμωξη που εμφανίζεται με πόνο, οίδημα στο κάλυμμα και υποανεγχειρητική αιμορραγία [669]. Είναι συνήθως αυτοπεριοριζόμενη και πρέπει να διαφοροποιείται από την ασθένεια που προκαλείται από αδενοϊό, όπως ο φαρυγγο-επιπεφυκώδης πυρετός και η επιδημική κερατοεπιπεφυκίτιδα.

Τα νεογνά είναι ένας ιδιαίτερα ευαίσθητος πληθυσμός σε λοιμώξεις από τον ιό ενώ ο ιός ευθύνεται και για επιδημίες λοιμώξεων σε μονάδες νεογνών [670-677]. Συχνά λοίμωξη από τους εντεροϊούς συνοδεύεται από σοβαρές επιπλοκές (π.χ. μυοκαρδίτιδα, εγκεφαλίτιδα, κακοήγη ηπατίτιδα) σε αυτόν τον ευαίσθητο πληθυσμό [678-684].

Η διάγνωση επιτυγχάνεται είτε με ορολογικό έλεγχο (απαιτείται 4-πλασιασμός του τίτλου των αντισωμάτων μεταξύ της οξείας φάσης και της ανάρρωσης), με καλλιέργεια και απομόνωση του ιού σε δείγματα από το κεντρικό νευρικό σύστημα, το αίμα ή κόπρανα (χαρακτηριστική κυτταροπαθητική δράση,

με ευαισθησία της μεθόδου περίπου 60-75% [685]) ή νεότερες μοριακές τεχνικές όπως PCR οι οποίες και έχουν την υψηλότερη ευαισθησία και ειδικότητα [686-691]. Πολυπλεκτικές τεχνικές PCR ανιχνεύουν ταυτόχρονα περισσότερους από έναν ιούς [π.χ. ιούς Enterovirus 70 και μία παραλλαγή (variant) του ιού Coxsackievirus A24] [692, 693].

Η θεραπεία είναι κυρίως υποστηρικτική και έχουν χρησιμοποιηθεί σε σοβαρά περιστατικά υπεράνοση γ-σφαιρίνη και πλεκοναρίλη ενδοφλεβίως χωρίς όμως να υπάρχει εγκεκριμένο αντι-ικό φάρμακο έναντι των εντεροϊών [694, 695].

12.2 Φυσική ανοσιακή απάντηση και κυτταροκίνες

Οι ιοί μεταδίδονται κυρίως με την κοπρανο-στοματική οδό πλην κάποιων εξαιρέσεων όπως ο ιός Coxsackie A21 ο οποίος μεταδίδεται με αεροσταγονίδια [696] και ο εντεροϊός 70 ο οποίος εκκρίνεται από τα δάκρυα και μεταδίδεται με άμεση επαφή με τα χέρια και φομίτες (fomites) [697].

Η ανοσία για τους εντεροϊούς είναι ειδική για κάθε τύπο. Ακέραια χυμική ανοσία είναι απαραίτητη για τον έλεγχο και την κάθαρση του ιού από τον οργανισμό. Η εκκριτική IgA σχετίζεται με μακρόχρονη ανοσιακή απάντηση μετά από εμβολιασμό για πολιομυελίτιδα [698-701] και υψηλοί τίτλοι εμφανίζονται σε επανέκθεση εμποδίζοντας ή μειώνοντας την έκκριση πολιοιού [698]. Υψηλότεροι τίτλοι συσχετίζονται με υψηλότερη προστασία [698]. Τάξεως IgM αντισώματα εμφανίζονται από την 2-3 ημέρα της λοίμωξης και εξαφανίζονται εντός 2-3 μηνών [698]. Τάξεως IgG αντισώματα (κυρίως IgG1 και IgG3 υπότυποι) εμφανίζονται 7-10 ημέρες μετά την λοίμωξης και επιμένουν δια βίου [702].

Τα T κύτταρα δεν συνεισφέρουν ουσιαστικά στην κάθαρση του ιού, και στην μυοκαρδίτιδα από τον ιό B3 μπορεί όμως να συμμετέχουν στην ανάπτυξη της μυοκαρδιακής φλεγμονής [703].

Ανοσιακή απάντηση σε επίπεδο κυτταροκινών έχει μελετηθεί για κάποιους από του εντεροϊούς, όπως επί παραδείγματι ο εντεροϊός 71 [704-710]. Ανοσιακές διαταραχές έχουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεση της σοβαρής νόσου από αυτόν τον ιό [707-709, 711]. Σε μία μελέτη ακόμη και ελαφρά περιστατικά HFMD χωρίς νευρολογικές επιπλοκές είχαν αυξημένα επίπεδα φλεγμονωδών κυτταροκινών όπως IL-3, IL-6, IL-12p40, και ο TNF-α, υποδηλώνοντας έτσι μια συστηματική φλεγμονή [708]. Αντίθετα,

αυτοί οι ασθενείς είχαν επίσης μειωμένα επίπεδα άλλων βιοδεικτών όπως οι IL-1Ra, IL-8, IL-16, ο διαλυτός ICAM-1, η CXCL-1 και η CCL27. Η μη σωστή ρύθμιση της έκφρασης κυτταροκινών και χημειοκινών μπορεί να εμπλέκεται στην ανάπτυξη επιπλοκών από το ΚΝΣ. Απροσδόκητα, οι ασθενείς που έλαβαν μεθυλπρεδνιζολόνη δεν είχαν διαφορά στα επίπεδα έκφρασης των σχετικών με HFMD βιοδεικτών ενώ αντίθετα είχαν ελαφρώς αυξημένα επίπεδα IL-17A, τα οποία δεν συσχετίστηκαν με την εμφάνιση της νόσου. Σχετικά με την Th17 απάντηση μια δυσαναλογία μεταξύ ρυθμιστικών T κυττάρων (Tregs) και Th17 κυττάρων έχει παρατηρηθεί σε παιδιά με σοβαρή HFMD η οποία εκδηλώνεται ως ελάττωση του πληθυσμού των Tregs και αύξηση στον πληθυσμό των Th17 κυττάρων. Τα επίπεδα της IL-35 του ορού (οικογένεια IL-12 που επάγει τον πολλαπλασιασμό και αύξηση των Tregs ενώ αναστέλλει την διαφοροποίηση των Th17 κυττάρων) ήταν ελαττωμένα και συσχετιζόνταν με την αναλογία Tregs:Th17 κυττάρων [710].

Η λειτουργία των μακροφάγων είναι ουσιαστικής σημασίας στην ανοσολογική απόκριση στις λοιμώξεις από εντεροϊούς. Η εξάλειψη της λειτουργίας των μακροφάγων σε πειραματικά μοντέλα λοίμωξης με εντεροϊό Coxsackie B ζώα συσχετίζεται με σοβαρή λοίμωξη [712].

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

13. ΠΡΩΤΟΚΟΛΟ ΜΕΛΕΤΗΣ

13.1 Σκοπός

Η μελέτη αυτή εξετάζει την μοριακή επιδημιολογία των ιογενών λοιμώξεων του ανωτέρου και κατωτέρου αναπνευστικού σε σχέση με τις κλινικές εκδηλώσεις της νόσου και την ανοσιακή απάντηση του οργανισμού σε επίπεδο φλεγμονωδών κυτταροκινών και χημειοκινών που έχουν σχέση με την Th17 ανοσιακή απόκριση στην συστηματική κυκλοφορία ασθενών που προσέρχονται για εξέταση, κλινική παρακολούθηση και θεραπεία στα εξωτερικά ιατρεία της παθολογικής / πνευμονολογικής / παιδιατρικής κλινικής σε τριτοβάθμιο νοσοκομείο και πάσχουν από οξεία ιογενή λοίμωξη του αναπνευστικού. Εξετάζεται: α) η μοριακή επιδημιολογία των ιογενών λοιμώξεων του αναπνευστικού και η σχέση της ανίχνευσης ιών με συγκεκριμένα κλινικά σύνδρομα, και β) η συσχέτιση των επιπέδων κυτταροκινών με τον μοριακά ανιχνευόμενο τύπο ιού και την βαρύτητα της λοίμωξης καθώς και την κλινική έκβαση των ασθενών (νοσηλεία ή όχι).

13.2 Μέθοδοι-διαδικασία

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε με την τεχνική της προοπτικής καταγραφής της λοίμωξης μετά από μοριακό έλεγχο (προοπτική μελέτη κοορτής). Όλοι οι ασθενείς που προσέρχονταν για έλεγχο και θεραπεία στα εξωτερικά παθολογικά / πνευμονολογικά / παιδιατρικά ιατρεία και έπασχαν από οξεία λοίμωξη αναπνευστικού (π.χ. συμπτώματα από το αναπνευστικό σύστημα, βήχας, +/- πυρετός) ήταν κατάλληλοι για την μελέτη.

Οι ασθενείς μετά από συγκατάθεση και υπογραφή υπεβάλλοντο σε συνέντευξη και κλινική εξέταση όπου απαντούσαν σε συγκεκριμένες ερωτήσεις που αφορούν δημογραφικά στοιχεία, συνυπάρχουσες νόσους και παράγοντες κινδύνου με αναλυτική φόρμα συλλογής στοιχείων.

Κατόπιν διενεργείτο αναλυτικός εργαστηριακός έλεγχος σύμφωνα με την κρίση του κλινικού ιατρού καθώς και φυλάσσονταν δείγματα πτυέλων, ρινοφαρυγγικού επιχρίσματος και αίματος για αποστολή στο εργαστήριο Διαγνωστικής Κυτταρολογίας στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο “Αττικόν” όπου πραγματοποιούνταν νεότερες μοριακές τεχνικές (Clinical arrays, Genomica ή RT-PCR) για την ανίχνευση ιογενών παθογόνων του αναπνευστικού συστήματος. Μοριακή ανίχνευση των ιών πραγματοποιείτο και με

ειδική ταχεία δοκιμασία [separation-free two-photon excitation assay technique (ArcDiaTMTPX)]. Πραγματοποιήθηκε άμεση μέτρηση των επιπέδων των κυτταροκινών περιφερικού αίματος (ορός – πλάσμα) με τεχνική Luminex σε δείγματα που φυλάσσονταν σε βαθιά κατάψυξη (-70 °C) από όλους τους ασθενείς.

Οι ασθενείς καταγράφονταν ανάλογα με το αν χρειάστηκαν ή όχι νοσηλεία ή πήραν εξιτήριο από τα ΤΕΠ του νοσοκομείου, την χρήση αντιμικροβιακών και παρακολουθούνταν για τελική διάγνωση εξόδου και για τελική έκβαση.

Συνοπτικά τα στάδια πραγμάτωσης της τρέχουσας έρευνας ήταν τα εξής:

- Πλήρης κλινική εξέταση και σημείωση ιατρικού ιστορικού, συμπτωματολογίας και δημογραφικών παραγόντων των ασθενών, με σκοπό τη διεύρυνση και τον καλύτερο συσχετισμό περισσότερων παραγόντων που θα οδηγούσαν σε ισχυροποίηση της παρούσας ερευνητικής μελέτης.
- Λήψη 2 ρινοφαρυγγικών επιχρισμάτων από κάθε ασθενή (ένα από κάθε ρουθούνι), και ένα δείγμα πτυέλων με σκοπό τις ανοσο-χημικές και μοριακές αναλύσεις που απαιτούντο για την ταυτοποίηση ή μη των αναπνευστικών ιών που ευθύνονται για τις λοιμώξεις.
- Λήψη δείγματος αίματος (σωληνάριο γενικής αίματος) από τον κάθε ασθενή για αναλύσεις που θα προσδιόριζαν τα επίπεδα των εκφραζόμενων κυτταροκινών.
- Εξέταση και καταγραφή δεικτών της γενικής αίματος και κυρίως των λευκών κυττάρων και των υποκατηγοριών τους, των ασθενών από το σύστημα του Νοσοκομείου για καλύτερο έλεγχο της ανοσιακής τους απόκρισης.

13.3 Στατιστική ανάλυση

Στατιστική επεξεργασία των δεδομένων των δημογραφικών, συμπτωματολογικών, ορολογικών και ανοσιακών παραγόντων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του SPSS (Έκδοση 22, Chicago, IL). Η παρούσα μελέτη αξιολόγησε τον επιπολασμό ιογενών λοιμώξεων του αναπνευστικού με νεότερες μοριακές μεθόδους και ανέλυσε παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση κλινικής νόσου και ιδιαίτερων χαρακτηριστικών που σχετίζονται με συγκεκριμένους ιούς (**ΜΕΛΕΤΗ 1**). Επίσης πραγματοποιήθηκε σύγκριση των ασθενών με θετικό μοριακό έλεγχο για ιογενή νόσο του αναπνευστικού σε σχέση με τους ασθενείς με αρνητικό

αποτέλεσμα (**ΜΕΛΕΤΗ 1**). Επίπεδα κυτταροκινών συσχετίστηκαν με την κλινική εκδήλωση της νόσου καθώς και με την ανάγκη ή μη νοσηλείας και με άλλους δημογραφικούς (πχ κάπνισμα) και κλινικο-εργαστηριακούς παράγοντες (πχ αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων) (**ΜΕΛΕΤΗ 2**). Παράγοντες κινδύνου για ιογενή λοίμωξη αναλύθηκαν με πολυπαραγοντικές τεχνικές λογιστικής παλινδρόμησης (Logistic regression). Οι δοκιμασίες t-test και Wilcoxon Signed Rank test χρησιμοποιήθηκαν για σύγκριση τιμών μεταβλητών ενδιαφέροντος (π.χ. επίπεδα κυτταροκινών αίματος) μεταξύ ασθενών που έχουν ή όχι ιογενή λοίμωξη. Βασικά χαρακτηριστικά των ασθενών συγκρίθηκαν με την χρήση μη παραμετρικών δοκιμασιών (Kruskal-Wallis και Wilcoxon Rank Sum tests) για συνεχή δεδομένα και Chi-square / Fisher's exact tests για κατηγορικά δεδομένα. Πολυπαραγοντική ανάλυση μετά από έλεγχο για συγχυτικές μεταβλητές (confounders) πραγματοποιήθηκε και με εξαρτώμενη μεταβλητή έκβασης την παρουσία αρνητικής κλινικής έκβασης δηλαδή νοσηλείας. Το πακέτο λογισμικού SPSS (SPSS, έκδοση 22, Chicago, IL) χρησιμοποιήθηκε για τη στατιστική ανάλυση.

13.4 Έγκριση επιστημονικού συμβουλίου

Το πρωτόκολλο της Διατριβής εγκρίθηκε από το Επιστημονικό Συμβούλιο του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Αττικών και κατόπιν ακολούθησε ενημέρωση του Ιατρικού και Νοσηλευτικού προσωπικού του Νοσοκομείου για το γεγονός ότι πραγματοποιείται η μελέτη. Όλοι οι ασθενείς υπέγραψαν συγκατάθεση μετά από διαδικασία προφορικής ενημέρωσης για την διενέργεια της έρευνας.

14. ΠΡΩΤΗ ΜΕΛΕΤΗ (ΜΕΛΕΤΗ 1)

14.1 Δημοσίευση

Η μελέτη δημοσιεύθηκε στο έγκριτο περιοδικό Journal of Medical Virology μετά από ανασκόπηση από κριτές με την ακόλουθη καταχώρηση στην βιβλιογραφική βάση δεδομένων PUBMED.

- **Antalis E**, Oikonomopoulou Z, Kottaridi C, Kossyvakis A, Spathis A, Magkana M, Katsouli A, Tsagris V, Papaevangelou V, Mentis A, Tsiodras S. Mixed viral infections of the respiratory tract; an epidemiological study during consecutive winter seasons. J Med Virol. 2018 Apr;90(4):663-670. doi: 10.1002/jmv.25006. Epub 2018 Jan 17. PubMed PMID: 29244214.

Μέρη της μελέτης δημοσιεύθηκαν ως περιλήψεις στο συνέδριο της Εταιρείας Λοιμώξεων των ΗΠΑ (Infectious Disease Society of America) αναδημοσιεύθηκαν στο περιοδικό της εταιρείας Open Forum Infectious Diseases

- **Antalis E**, Kottaridi C, Kossyvakis A, Magkana M, Spathis A, Oikonomopoulou Z, Katsouli A, Perlepe C, Poulakou G, Mentis A, Papaevangelou V, Tsagris V, Kroupis C, Karakitsos P, Tsiodras S. Clinical and Molecular Epidemiology of Respiratory Viruses in a Tertiary Care Center During the 2009–2014 Consecutive Winter Seasons. *Open Forum Infectious Diseases*, Volume 2, Issue suppl_1, 1 December 2015, 545, <https://doi.org/10.1093/ofid/ofv133.420>

14.2 Εισαγωγή

Τα εποχικά πρότυπα κυκλοφορίας και ανίχνευσης των ιών που προκαλούν λοιμώξεις του αναπνευστικού σε ανθρώπους είναι δύσκολο να εξηγηθούν. Έχει προταθεί ότι με βάση την εποχική διακύμανση και το κλινικό σύνδρομο που παρατηρείται, μπορεί κανείς να προβλέψει τον τύπο του ιού που εμπλέκεται [713, 714]. Επιπρόσθετα υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα όσον αφορά την κλινική σημασία των μικτών αναπνευστικών ιογενών λοιμώξεων κατά τη χειμερινή περίοδο. Η γρίπη και ο αναπνευστικός συγκυτιακός ιός (RSV) είναι γνωστό ότι κυκλοφορούν κυρίως την χειμερινή περίοδο [713, 715]. Η έκταση

της αλληλοεπικάλυψης, η πιθανότητα διπλών μολύνσεων και οι συσχετισμοί μικτών αναπνευστικών ιογενών λοιμώξεων με κλινικά και επιδημιολογικά δεδομένα χρειάζεται περαιτέρω διευκρίνιση.

Οι ταχείες διαγνωστικές δοκιμασίες (Point of Care tests) και οι νεότερες διαθέσιμες μοριακές τεχνικές έχουν βελτιώσει την ικανότητά μας να ανιχνεύουμε ποικίλους ιούς που προκαλούν λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος [716]. Σε πρόσφατη μελέτη που αξιολόγησε 2 διαφορετικά πολυπλεκτικά κιτ, σε 14.2% των δειγμάτων που ελέγχθηκαν ανευρέθηκε μικτή ιογενής λοίμωξη [716].

Περιορισμένες μελέτες έχουν αξιολογήσει την παρουσία μικτών ιικών λοιμώξεων στην καθημερινή κλινική πρακτική σε σχέση με πληθυσμούς ενηλίκων ασθενών. Σημαντικά ποσοστά μικτών λοιμώξεων έχουν αναφερθεί σε αρκετές μελέτες που αφορούν κυρίως τους παιδιατρικούς πληθυσμούς [514, 717-725] ενώ πολύ λίγα δεδομένα υπάρχουν αναφορικά με πληθυσμούς ενηλίκων [726-729].

Η κλινική σημασία των μικτών ιογενών λοιμώξεων είναι θέμα αντιπαράθεσης με ορισμένα δημοσιευμένα δεδομένα να υποστηρίζουν ένα ρόλο σχετικά με την αύξηση της βαρύτητας της νόσου και των ανεπιθύμητων εκβάσεων (συμπεριλαμβανομένων και των νοσηλειών) [717, 726] και κάποια άλλα όχι [721, 722, 727]. Επιπρόσθετα οι περισσότερες μελέτες έχουν το συστηματικό σφάλμα της πραγματοποίησης της έρευνας σε πληθυσμούς νοσηλευόμενων ασθενών [721, 722, 726, 730] με πολύ λίγα δημοσιευμένα δεδομένα σε εξωτερικούς ασθενείς [727-729].

Η παρούσα μελέτη είχε ως στόχο της την περιγραφή της μοριακής επιδημιολογίας των μικτών αναπνευστικών ιογενών λοιμώξεων τόσο σε ενήλικες όσο και σε παιδιά στο πλαίσιο της παρουσίας με συμπτωματολογία οξείας αναπνευστικής νόσου. Η μελέτη αποτέλεσε μέρος μιας μελέτης μοριακής επιδημιολογίας για την ανίχνευση των αναπνευστικών ιών σε ασθενείς με συμπτώματα οξείας λοίμωξης του αναπνευστικού κατά τη διάρκεια διαδοχικών χειμερινών σεζόν, στα Εξωτερικά Ιατρεία Επειγόντων Περιστατικών (ΤΕΠ) σε τριτοβάθμιο ακαδημαϊκό νοσοκομείο, που λειτουργεί στην περιοχή της Δυτικής Αττικής.

Ο κύριος στόχος της μελέτης ήταν να προσδιοριστεί ο επιπολασμός μικτών ιογενών λοιμώξεων του αναπνευστικού στον πληθυσμό του δείγματος. Ένας επιπλέον στόχος ήταν να συσχετιστεί η ανίχνευση

μικτής αναπνευστικής λοίμωξης με βασικά κλινικά και επιδημιολογικά δεδομένα, συμπεριλαμβανομένης της απόφασης νοσηλείας λόγω βαρύτητας της νόσου.

14.3 Μέθοδοι και διαδικασίες

- Ασθενείς οι οποίοι επισκέπτονταν τα ΤΕΠ του τριτοβάθμιου Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου «Αττικόν» με συμπτωματολογία λοίμωξης του αναπνευστικού συστήματος, δηλαδή πυρετό και/ή βήχα και/ή άλλα συμπτώματα που υποδήλωναν λοίμωξη του αναπνευστικού (π.χ. ρινική συμφόρηση, ρινόρροια, φαρυγγαλγία) κατά την διάρκεια της χειμερινής περιόδου (Νοέμβριος με Μάρτιο) για τα έτη 2009-2011 (2 περίοδοι) και 2013-2015 (2 περίοδοι) αξιολογήθηκαν κατά την διάρκεια της μελέτης. Δεν συλλέχθηκαν δεδομένα για την χειμερινή περίοδο 2011-12 and 2012-13.

- Μετά την ενυπόγραφη έγγραφη συγκατάθεση του ασθενούς πραγματοποιείτο η συλλογή του αναπνευστικού δείγματος με προτυποποιημένη τεχνική. Πιο συγκεκριμένα μετά από γαργαρισμό στο στόμα (σε όλη την στοματο-φαρυγγική περιοχή) με φυσιολογικό ορό για 5 δευτερόλεπτα (υπό την επιτήρηση του ερευνητή) γινόταν συλλογή του υλικού σε διάλυμα ThinPrep CytoLyt® (της εταιρείας Cytoc Corporation, Malborough, MA, USA). Το υλικό άμεσα προσκομιζόταν στο συνεργαζόμενο ερευνητικό εργαστήριο. Τα βασικά κλινικά και επιδημιολογικά χαρακτηριστικά για κάθε ασθενή συλλέχθηκαν μέσω δομημένης φόρμας μετά από συνέντευξη με τον κάθε ασθενή. Την συλλογή υλικών και την συνέντευξη διεξήγαγε ο κύριος ερευνητής.

- Η μελέτη εγκρίθηκε από το επιστημονικό συμβούλιο του ΠΓΝ «Αττικόν» και όλες οι διαδικασίες που είχαν σχέση με την μελέτη έγιναν σύμφωνα με τα εθνικά και διεθνή πρότυπα ηθικής και δεοντολογίας και σύμφωνα με την τη Διακήρυξη του Ελσίνκι του 1975, όπως αυτή αναθεωρήθηκε το 2008.

- Απομόνωση του ιικού RNA πραγματοποιήθηκε με την χρήση 400 μl διαλύματος ThinPrep CytoLyt με την χρήση του εμπορικού πακέτου MagMAX™ Viral RNA Isolation Kit και εκλούστηκε (eluted) σε 50 μl ρυθμιστικού διαλύματος (elution buffer).

- Για την ανίχνευση των ιών χρησιμοποιήθηκε το εμπορικό πακέτο CLART® PneumoVir (GENOMICA, Ισπανία) που ανιχνεύει την παρουσία των 17 πιο συχνών τύπων ανθρώπινων ιών που

προκαλούν λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος. Η μοριακή διαδικασία ακολουθήθηκε σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Χρησιμοποιήθηκαν δύο αντιδράσεις RT (αντίστροφης μεταγραφάσης) – πολυπλεκτική (multiplex) PCR και η ανίχνευση / οπτικοποίηση διεξήχθη με βάση χαμηλής πυκνότητας μικρο-συστοιχίες. Στο κάθε πείραμα συμπεριλήφθηκαν αρνητικοί έλεγχοι.

- Ποσοστά επιπολασμού μαζί με τα διαστήματα εμπιστοσύνης 95% υπολογίστηκαν για κάθε ιό (ως παρονομαστής χρησιμοποιήθηκε ολόκληρος ο πληθυσμός που συμπεριλήφθηκε στο δείγμα). Τα δεδομένα σχετικά με την ανίχνευση της γρίπης συγκρίθηκαν με τα εθνικά δεδομένα επιτήρησης της γρίπης (για τα αντίστοιχα έτη) που είναι διαθέσιμα μέσω του Ελληνικού Κέντρου Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (www.keelpno.gr). Η συσχέτιση μεταξύ του τύπου του ιού, της ανίχνευσης μικτών ιικών λοιμώξεων και της ηλικιακής κατάστασης (παιδιά ηλικίας <18 ετών) πραγματοποιήθηκε με τη χρήση chi-square τεστ. Χρησιμοποιήθηκε μονοπαραγοντική και πολυπαραγοντική ανάλυση για την αξιολόγηση των συσχετισμών μεταξύ ανίχνευσης ιού, ανίχνευσης μικτών ιικών λοιμώξεων, κλινικών χαρακτηριστικών (π.χ. πυρετό) και την έκβαση του ασθενούς (ανάγκη για νοσηλεία ή όχι). Το λογισμικό SPSS (έκδοση 22.0 για λογισμικό Windows, SPSS, Inc., Chicago, IL) χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση των δεδομένων. Όλες οι στατιστικές δοκιμασίες ήταν two-tailed.

14.4 Αποτελέσματα

Συνολικά κατά την περίοδο της μελέτης αξιολογήθηκαν 604 διαδοχικοί ασθενείς με λοίμωξη του αναπνευστικού. Τα δημογραφικά στοιχεία του πληθυσμού της μελέτης σύμφωνα με την ηλικία, το φύλο, τις συννοσηρότητες καθώς και τον τύπο του ιού που ανιχνεύθηκε παρουσιάζονται στους Πίνακες 1 και 2.

Πίνακας 8. Δημογραφικά στοιχεία του πληθυσμού της μελέτης. Ασθενείς με γριπώδη συνδρομή, αλλά χωρίς ιολογικά δεδομένα αποκλείστηκαν. Για συννοσηρότητες, τα δεδομένα εμφανίζονται μόνο για ασθενείς με διαθέσιμα δεδομένα ($n = 402$). Η στατιστική σημαντικότητα για συγκρίσεις μεταξύ ομάδων με θετικά αποτελέσματα και της υπόλοιπης ομάδας επισημαίνεται με έναν αστερίσκο.

Μεταβλητές, n(%)	Οιοσδήποτε ιός, n (%) N=332/604 (55)	Γρίπη, n (%) n=194/604 (32.1)	RSV, n (%) n=142/604 (23.5)	Μικτή λοίμωξη, (%) n = 68/604 (11.3)	Μικτή RSV/γρίπη, n (%) n = 45/604 (7.5)
Γυναικείο φύλο, n(%)	169/332 (50.9)	98/194 (50.5)	70/142 (49.3)	33/68 (48.5%)	20/45 (44.4)
Ηλικία 0-4 yrs, n=37 (6.1)	31/332 (9.3)	5/194 (2.6)	27/142 (19)	10/68 (14.7)	4/45 (8.9)
Ηλικία 5-17 yrs, n=69 (11.4)	53/332 (16)	27/194 (13.9)	34/142 (23.9)	15/68 (22.1)	11/45 (24.4)
Ηλικία 18-40 yrs, n=208 (34.4)	101/332 (30.4)	65/194 (33.5)	41/142 (28.9)	23/68 (33.8)	16/45 (35.6)
Ηλικία 41-65 yrs, n=161 (26.7)	84/332 (25.3)	56/194 (28.9)	27/142 (19)	14/68 (20.6)	11/45 (24.4)
Ηλικία > 65 yrs, n=129 (21.4)	63/332 (19)	41/194 (21.1)	13/142 (9.2)	6/68 (8.8)	3/45 (6.7)
Νοσηλεία, n=165 (27.3)	92/332 (27.7)	62/194 (32)	22/142 (15.5)*	9/68 (13.2)	6/45 (13.3)*
<u>Οιαδήποτε συννοσηρότητα, n=206/ 402 (51.2)</u>	180/402 (44.8)	127/402 (31.6)*	22/402 (5.5)	10/402 (2.5)	3/402 (0.7)

Ηλικία >=18 έτη	165/180 (91.7)*	114/127 (89.8)*	22/22 (100)	10/10 (100)	3/3 (100)
ΧΑΠ, n=125 (31.1)	67/180 (37.2)*	50/127 (39.3)*	8/22 (36.4)	5/10 (50)	2/3 (66.7)
Καρδιαγγειακή νόσος, n =105 (26.1)	58/180 (32.2)*	43/127 (33.9)*	5/22 (22.7)	4/10 (40)	1/3 (33.3)
Διαβήτης, n=62 (15.4)	30/180 (16.7)	23/127 (18.1)	3/22 (13.6)	2/10 (20)	1/3 (33.3)
Κακοήθεια, n=21 (5.2)	10/180 (5.6)	6/127 (4.7)	0/22 (0)	0/10 (0)	0/3 (0)
Τελικού σταδίου νεφρική νόσος, n= 7 (1.7)	3/180 (1.7)	2/127 (1.6)	0/22 (0)	0/10 (0)	0/3 (0)
Αλλεργία, n=44 (10.9)	17/180 (9.4)	13/127 (10.2)	2/22 (9.1)	1/10 (10)	0/3 (0)
Κάπνισμα, n=174 (43.3)	69/180 (38.3)	46/127 (36.2)	9/22 (40.9)	6/10 (60)	3/3 (100)
Εμβολιασμός για γρίπη, n =84 (20.9)	41/180 (22.8)	27/127 (21.3)	6/22 (27.3)	3/10 (30)	1/3 (33.3)
Νοσηλεία, n=142 (35.3)	76/180 (42.2)*	56/127 (44.1)	10/22 (45.5)*	5/10 (50)	3/3 (100)

ΧΑΠ: Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια

Πίνακας 9. Επιπολασμός των ταυτοποιημένων ιών στον συνολικό πληθυσμό τη μελέτης, σε ενήλικες και παιδιά για ασθενείς με διαθέσιμα δεδομένα. Επιδεικνύεται ο αριθμός (N) σε σχέση με τον συνολικό πληθυσμό σε κάθε κατηγορία, ακολουθούμενη από τον επιπολασμό με τα διαστήματα εμπιστοσύνης σε παρένθεση. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστική σημαντικότητα με $p < 0,05$

Ιός	Συνολικός πληθυσμός, n=604	Ενήλικες, n, % (95%CI) n = 498	Παιδιά, n, % (95%CI) n = 106
Οιοσδήποτε ιός (+)	332/604, 55% (50.9-59%)	248/498, 49.8% (45.3 - 54.3%)*	84/106, 79.2% (70.1 - 86.3%)*
<i>Influenza</i> , συνολικά	194/604, 32.1% (28.4 - 36%)	162/498, 32.5% (28.5 - 36.9%)	32/106, 30.2% (21.9 - 40%)
<i>Influenza A</i> , n (%)	120/604, 19.9% (16.8 - 23.3%)	101/498, 20.3% (16.9 - 24.1%)	19/106, 17.9% (11.4 - 26.8%)
<i>Influenza B</i>	75/604, 12.4% (9.9 - 15.4%)	62/498, 12.4% (9.7 - 15.7%)	13/106, 12.3% (7 - 20.4%)
<i>RSV</i> , συνολικά	142/604, 23.5% (20.2 - 27.1%)	81/498, 16.3% (13.2 - 19.9%)*	61/106, 57.5% (47.6 - 67%)*
<i>RSV A</i>	78/604, 12.9% (10.4 - 15.9%)	40/498, 8% (5.9 - 10.9%)*	38/106, 35.8% (26.9 - 45.8%)*
<i>RSV B</i>	110/604, 18.2% (15.3 - 21.6%)	59/498, 11.8% (9.2 - 15.1%)*	51/106, 48.1% (38.4 - 58%)*

<i>Parainfluenza viruses</i>	18/604, 3% (1.8 - 4.8%)	17/498, 3.4% (2.1 - 5.5%)	1/106, 0.9% (0.05 – 5.9%)
<i>Rhinovirus</i>	16/604, 2.6% (1.6 - 4.4%)	12/498, 2.4% (1.3 – 4.3%)	4/106, 3.8% (1.2 - 9.9%)
<i>Human Metapneumovirus</i>	13/604, 2.2% (1.2 - 3.8%)	7/498, 1.4% (0.6 - 3%)*	6/106, 5.7% (2.3 - 12.4%)*
<i>Adenovirus</i>	6/604, 1% (0.4 - 2.3%)	3/498, 0.6% (0.2 - 1.9%)	3/106, 2.8% (0.7 - 8.7%)
<i>Bocavirus</i>	2/604, 0.3% (0.1 - 1.3%)	0/498, 0% (0 - 1%)*	2/106, 1.9% (0.3 - 7.3%)*
<i>Coronavirus</i>	1/604, 0.2% (0.01 – 1.1%)	1/498, 0.2% (0.01 - 1.3%)	0/106, 0% (0 - 4.3%)
<i>Echovirus</i>	1/604, 0.2% (0.01 – 1.1%)	1/498, 0.2% (0.01 - 1.3%)	0/106, 0% (0 - 4.3%)
Μικτή RSV & <i>Influenza</i>	45/604, 7.5% (5.5-9.9%)	30/498, 6% (4.2-8.6)*	15/106, 14.25 (8.4-22.6%)*
Μικτή ιογενής λοίμωξη	68/604, 11.3% (8.9 – 14.1%)	43/498, 8.6% (6.4 - 11.5%)*	25/106, 23.6% (16.1 - 33%)*

Η μέση ηλικία για ολόκληρη την ομάδα ήταν 42,4 έτη (IQR 25-62 έτη) και 296 (49% . Η συντριπτική πλειοψηφία του πληθυσμού ήταν ενήλικες (n = 498, 82,5%) ενώ εξετάστηκαν 106 (17,5%) παιδιά. Από τους 402 ασθενείς με διαθέσιμα δεδομένα 206 (51,2%) είχαν συννοσηρότητα, όπως η Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ) (n = 125/402, 31,1%) και καρδιαγγειακές παθήσεις (n = 105/402, 26,1%, πίνακας 1).

Σε 332 από τους 604 (55%, 95% CI: 50,9% -59%) ασθενείς ταυτοποιήθηκε ένας αναπνευστικός ιός (Πίνακες 1, 2). Τα ποσοστά ανίχνευσης αναπνευστικών ιών ιού καθώς και οι μικτές λοιμώξεις από ιούς σύμφωνα με το αν αυτές αφορούσαν ενήλικα ή παιδί παρουσιάζονται στους Πίνακες 1 και 2. Η ταυτοποίηση της ιογενούς λοίμωξης ήταν πιο συχνή σε παιδιά σε όλες τις εποχές (OR 3.8, 95% CI 2.3-6.4, $p < 0.001$, Πίνακας 2). Η επιβεβαιωμένη γρίπη είχε επιπολασμό 32,1% (95% CI: 28,4-36%) ενώ ο αναπνευστικός συγκυτιακός ιός (RSV) ανιχνεύθηκε σε 23,5% (95% CI: 20,2-27,1%) των ασθενών. (Πίνακας 2). Θετικό αποτέλεσμα για ιό ήταν πιο συχνή σε ασθενείς με συννοσηρότητες (OR 1,5, 95% CI 1,04-2,3, $p = 0,03$). Αυτή η συσχέτιση φαίνεται πως οδηγείτο από την παρουσία του ιού της γρίπης (OR 1.7, 95% CI 1.1-2., $P \leq 0.01$) και δεν βρέθηκε για άλλους ιούς. Οποιοδήποτε θετικό αποτέλεσμα για ιό ήταν πιο συχνό σε ασθενείς με ΧΑΠ (OR 1,7, 95% CI 1,1-2,6, $p \leq 0,01$) ή καρδιαγγειακή νόσο (OR 1,8, 95% CI 1,1-2,8, $p \leq 0,01$). Σε υπο-αναλύσεις, αυτό αποδείχθηκε και πάλι ότι ήταν ειδικό για το θετικό αποτέλεσμα για γρίπη (OR 1.7, 95% CI 1.1-2.7, $p = 0.02$ και OR 1.8, 95% CI 1.1-2.8, $p = 0.02$ αντίστοιχα).

Ο Πίνακας 10 απεικονίζει τη μεταβλητότητα των αποτελεσμάτων της μελέτης σύμφωνα με το έτος μελέτης και τα διαθέσιμα δεδομένα μέσω του εθνικού δικτύου επιτήρησης της γριπώδους συνδρομής (ILI) και του δικτύου επιτήρησης της γρίπης. Τα στελέχη της γρίπης που εντοπίστηκαν κατά τη διάρκεια της μελέτης μας συσχετίστηκαν σε μεγάλο βαθμό με εκείνα που κυκλοφόρησαν σε εθνικό επίπεδο κατά τη διάρκεια των ετών της μελέτης (κάτι που προσδίδει και περισσότερη αξιοπιστία στα αποτελέσματά μας). Κατά τη διάρκεια των περιόδων 2009-10 και 2010-11, ο κυρίαρχος ιός που ανιχνεύθηκε κατά τη διάρκεια της μελέτης ήταν ο RSV (Πίνακας 3). Και στις δύο περιπτώσεις, τα δείγματα μελέτης συλλέχθηκαν κατά τη διάρκεια περιόδων υψηλής δραστηριότητας γρίπης σύμφωνα με τα εθνικά δεδομένα (Πίνακας 10).

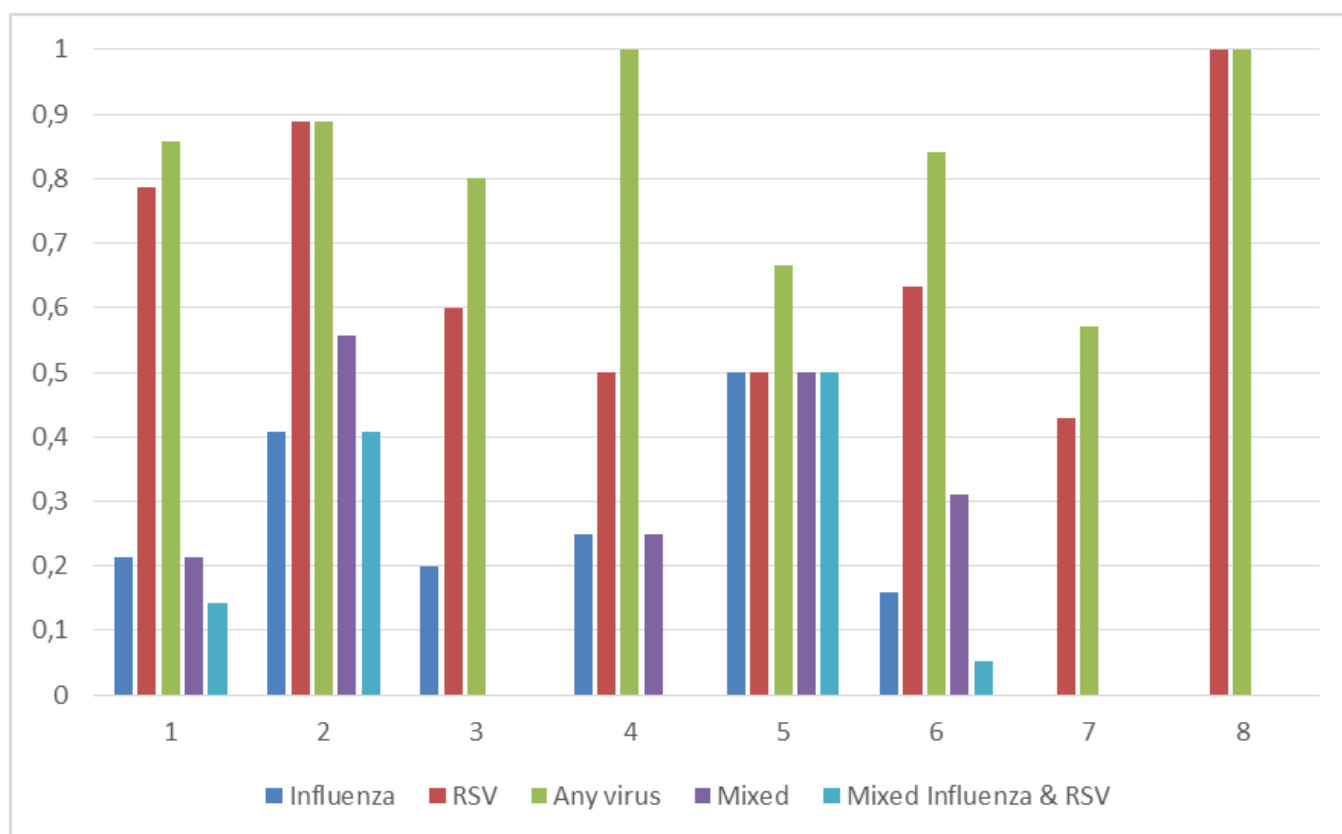
Πίνακας 10. Η μεταβλητότητα στην ανίχνευση ιών ανά μελετώμενη εποχή/σεζόν κατά την διάρκεια της μελέτης και η σύγκριση με τα εθνικά δεδομένα επιτήρησης της γρίπης που διατίθενται από το Ελληνικό Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων.

	2009-10			2010-11			2013-14			2014-15		
	EN	KOP	TEΛ	EN	KOP	TEΛ	EN	KOP	TEΛ	EN	KOP	TEΛ
Εποχή γρίπης, εβδομάδες, εθνικά δεδομένα	48/09	04/10	15/10	52/10	05/11	13/11	52/13	09/14	16/14	51/14	09/15	20/15
Χρονική περίοδος μελέτης	48/09 - 04/10			03/11 - 11/11			47/13 - 20/14			43/14 - 13 /15		
Εθνικά δεδομένα (E) / Δεδομένα Μελέτης (M)	E		M n=94	E		M n=106	E		M n=133	E		M n=271
Influenza (+) σε ILI	56.4%	43.6%	55.2%	23.6%		30.7%	16.5%	39.9%		39.1%		
Influenza A	100%	100%	95.4%	92%		95.8%	95.5%	41%		32.1%		
Influenza A(H1N1) pdm09 επί της συνολικής γρίπης A	99.8%	100%	98.9%	95.7		79.4%	100%	12.5%		14.3%		
Influenza A(H3N2) επί	0.2%	0%	1.1%	4.3%		20.6%	0%	86.7%		85.7%		

της συνολικής γρίπης A								
Influenza B	0%	0%	4.6%	0.9%	4.2%	0.8%	59%	26.9%
RSV (+) δεδομένα μελέτης	45/94 (47.9%)		75/106 (70.8%)		12/133 (9%)		10/271 (3.7%)	
Μικτή ιογενής λοίμωξη	27/94 (28.7%)		31/106 (29.2%)		1/133 (0.8%)		9/271 (3.3%)	
Μικτή Influenza & RSV	23/94 (24.5%)		19/106 (17.9%)		0/133 (0%)		3/271 (1.1%)	

EN: Έναρξη, KOP: Κορύφωση, TEΛ: Τέλος, ILI: Γριπώδης συνδρομή, RSV: *Respiratory syncytial virus*

Το θετικό αποτέλεσμα για RSV κυμάνθηκε από το 3,7% κατά την περίοδο 2014-15 στο 70,8% κατά την περίοδο 2010-11 ($p < 0,01$) (Πίνακας 10). Η μεταβλητότητα της ανίχνευσης του ιού ανά συλλεγόμενα δείγματα, ανά εβδομάδα μελέτης κατά την περίοδο 2010-11, παρουσιάζεται στο Γράφημα/Εικόνα 10 (λόγω της υψηλής συχνότητας ανίχνευσης του ιού έγινε ανάλυση για χρονική συρροή των θετικών αποτελεσμάτων). Ογδόντα ένας στους 498 (16,3%) ενήλικες είχαν RSV μόλυνση σε σύγκριση με 61 από τα 106 (57,5%) παιδιά (OR 7, 95% CI 4.4-11, $p < 0.001$, Πίνακες 8, 9). Η θετικό αποτέλεσμα για τον ιό RSV σύμφωνα με την κατάσταση συννοσηρότητας παρουσιάζεται στον Πίνακα 8.



Γράφημα/Εικόνα 10. Η μεταβλητότητα στην ανίχνευση ιών ανά συλλεγόμενα δείγματα (επί τοις %, 1 ισούται με 100%) ανά εβδομάδα μελέτης, κατά τη διάρκεια της σεζόν 2010-11.

Μικτές ιογενείς λοιμώξεις διαγνώστηκαν σε 68/332 (20,5%) ασθενείς στους οποίους ανιχνεύθηκε οποιοσδήποτε αναπνευστικός ιός (Πίνακας 11).

Πίνακας 11. Επιδημιολογικά χαρακτηριστικά ασθενών με μικτές ιογενείς λοιμώξεις έναντι των ασθενών με μονή ιογενή λοίμωξη. Δεδομένα για συννοσηρότητες ήταν διαθέσιμα μόνο για 180 άτομα του πληθυσμού της μελέτης. Στον πίνακα φαίνεται ο συνολικός αριθμός *N* επί του συνολικού πληθυσμού σε κάθε κατηγορία. Ο αστερίσκος υποδηλώνει $p < 0,05$

	Ένας Ιός, n=264	Μικτή λοίμωξη, n=68	p
Ηλικία, mean ± SD σε έτη	41.8 ± 25.6	30.4 ± 23	≤0.001
Παιδί, n(%), n=84/332 (25.3)	59/264 (22.3)	25/68 (36.8)	.01
ΧΑΠ, n (%), n=67/180	62/170 (36.5)	5/10 (50)	.5
Καρδιαγγειακή νόσος, n (%), n=58/180 (32.2)	54/170 (31.8)	4/10 (40)	0.7
Διαβήτης, n (%), n=30/180 (16.7)	28/170 (16.5)	2/10 (20)	0.7
Κακοήθεια, n (%), n=10/180 (5.6)	10/170 (5.9)	0/10 (0)	1
Ιστορικό αλλεργίας, n (%), n=17/180 (9.4)	16/170 (9.4)	1/10 (10)	1
Χρόνια νεφρική νόσος, n (%), n=3/170 (1.7)	3/170 (1.8)	0 (0)	1

Κάπνισμα, n (%), n=69/180 (38.3)	63/170 (37.1)	6/10 (60)	0.19
Εμβολιασμός για γρίπη, n (%), n=41/180 (22.8)	38/170 (22.4)	3/10 (30)	0.7
Πυρετός, n(%), n=280/332 (84.3)	217/264 (82.2)	63/68 (92.6)	0.039
Νοσηλεία, n (%), n=92/332 (27.7)	83/264 (31.4)	9/68 (13.2)	0.002

ΧΑΠ: Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια

Σαράντα-πέντε από τις 68 (66,2%) μικτές ιικές λοιμώξεις αντιπροσώπευαν μικτή λοίμωξη με γρίπη και RSV. Οι μικτές ιογενείς λοιμώξεις ήταν πιο συχνές σε παιδιά από τους ενήλικες (OR 3.7, 95% CI 1,9-5,6, $p < 0,01$). Σε αναλύσεις λογιστικής παλινδρόμησης, οι μικτές λοιμώξεις συσχετίστηκαν με νεότερη ηλικία (μέση ηλικία 30,4 έτη έναντι 41,8, beta-coefficient: -2,0, OR: .98, 95% CI .97- .99, $p \leq 0.001$) και αυξημένα ποσοστά πυρετού [63/68 (92,6%) ασθενείς έναντι 217/264 (82,2%) ασθενείς, OR: 2,7; 95% CI 1,04-7,2, $p < 0,05$]. Παρόλο που δεν ανιχνεύθηκε στατιστική συσχέτιση, οι μικτές ιογενείς λοιμώξεις ήταν συχνότερες από τις μεμονωμένες λοιμώξεις σε:

- ασθενείς με συννοσηρότητες [7 από τους 206 (3,4%) ασθενείς έναντι 3/196 (1,5%) ασθενείς]
- ασθενείς με ΧΑΠ (50% έναντι 36,5 %)
- ασθενείς με καρδιαγγειακή νόσο (40% έναντι 31,8)
- ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη (20% έναντι 16,5%)

Η συσχέτιση της ανίχνευσης μικτών λοιμώξεων προσέγγισε την στατιστική σημαντικότητα στους καπνιστές (60% έναντι 37,1%, $p = 0,19$). Οι ασθενείς με μικτές ιικές λοιμώξεις νοσηλεύθηκαν λιγότερο συχνά σε σύγκριση με ασθενείς με μεμονωμένες λοιμώξεις (13,2% έναντι 31,4%, $p = 0,002$).

Εντοπίσαμε πολύ λίγες περιπτώσεις άλλων ικών παθογόνων του αναπνευστικού συστήματος (πίνακας 9). Οι λοιμώξεις από ανθρώπινο μεταπνευμονοϊό (hMPV) ήταν πιο συχνές σε παιδιά (OR 5.9, 95% CI 1.8-19.6, $p = 0.006$, Πίνακας 9). Τόσο οι λοιμώξεις από RSV όσο και οι λοιμώξεις από ανθρώπινο μεταπνευμονοϊό (hMPV) ήταν πιο συχνές σε παιδιά ηλικίας < 5 ετών ($p < 0,001$ για όλες τις συσχετίσεις). Τα ποσοστά άλλων ιών ήταν συγκρίσιμα μεταξύ παιδιών και ενηλίκων.

Τριάντα τέσσερις (5,6%) ασθενείς νοσηλεύθηκαν στο νοσοκομείο λόγω της ιογενούς αναπνευστικής λοίμωξης. Η παρουσία οποιασδήποτε συννοσηρότητας συσχετιζόταν σημαντικά με τη νοσηλεία ($p = 0,001$). Σε μοντέλα λογικής παλινδρόμησης, η μεγαλύτερη ηλικία (beta-coefficient: 0.03, OR 1.03, 95% CI 1.009-1.04, $p < 0.01$) και η παρουσία καρδιαγγειακής νόσου (beta-coefficient: 0.99, OR 2.7, 95% CI 1.3-5.5, $p < 0,01$) συσχετίστηκαν με μεγαλύτερη πιθανότητα νοσηλείας.

14.5 Συζήτηση-Συμπεράσματα

Ένας σημαντικός αριθμός αναπνευστικών λοιμώξεων με μικτή ιογενή λοίμωξη παρατηρήθηκε στην τρέχουσα μελέτη που αξιολόγησε τόσο τους ενήλικες όσο και τα παιδιά. Οι περισσότερες μικτές λοιμώξεις που παρατηρήθηκαν ήταν συν-λοιμώξεις από τους ιούς RSV και γρίπης. Οι μικτές ιογενείς λοιμώξεις συσχετιζόνταν με νεαρή ηλικία και αυξημένα ποσοστά πυρετού, αλλά δεν συνδέονταν με αυξημένα ποσοστά νοσηλείας. Δεν μπορέσαμε να συσχετίσουμε σε στατιστικά σημαντικό βαθμό την παρουσία μικτών ιογενών λοιμώξεων με υποκείμενες συννοσηρότητες. Ωστόσο, οι μικτές ιογενείς λοιμώξεις φάνηκε να εμφανίζονται συχνότερα από τις μεμονωμένες ιογενείς λοιμώξεις σε ασθενείς με σοβαρά υποκείμενα νοσήματα όπως ασθενείς με ΧΑΠ και ασθενείς με καρδιαγγειακή νόσο. Παρ' όλα αυτά, φαίνεται ότι η μελέτη μας δεν είχε την στατιστική ισχύ να αξιολογήσει τυχόν σημαντικές διαφορές για το θέμα αυτό.

Στην τρέχουσα μελέτη, τόσο μονή όσο και η μικτή ιογενής λοίμωξη ήταν πιο συχνή στα παιδιά από τους ενήλικες. Πολλαπλές παιδιατρικές μελέτες, καθώς και μια πρόσφατη ελληνική μελέτη εντόπισαν σημαντικά ποσοστά μικτών ιογενών λοιμώξεων στον αξιολογηθέντα παιδιατρικό πληθυσμό [36, 514, 717, 718, 720-725]. Εάν τα ποσοστά παιδιατρικού πληθυσμού ήταν υψηλότερα στην μελέτη μας, τα ποσοστά μικτών ιογενών λοιμώξεων θα μπορούσαν να είναι υψηλότερα [731]. Μελέτες που να έχουν αξιολογήσει την παρουσία μικτών ιογενών λοιμώξεων του αναπνευστικού σε ενήλικες πληθυσμούς είναι σπάνιες [726-729]. Φαίνεται ότι οι μικτές ιογενείς λοιμώξεις μπορεί να αντιπροσωπεύουν ένα σημαντικό ποσοστό των λοιμώξεων του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος στους ενήλικες, αν και το ποσοστό αυτό είναι χαμηλότερο από αυτό που παρατηρείται σε παιδιά [728, 729]. Ο ακριβής ρόλος του κάθε ιού και η συμμετοχή στην παθογένεση των αναπνευστικών λοιμώξεων δεν έχει ξεκαθαρισθεί στην βιβλιογραφία.

Στην παρούσα μελέτη δεν διαπιστώθηκε συσχέτιση της παρουσίας μικτής ιογενούς λοίμωξης (και σε ειδικότερες αναλύσεις μικτής λοίμωξης με RSV- γρίπη) με την βαρύτητα της νόσου ή αυξημένη πιθανότητα νοσοκομειακής νοσηλείας όπως έχει υποστηριχθεί στις περισσότερες δημοσιευμένες μελέτες που εξέτασαν αυτό το θέμα σε παιδιατρικούς και ενήλικες ασθενείς [717, 726]. Μόνο μία μελέτη σε παιδιατρικούς ασθενείς διαπίστωσε μια αντίστροφη σχέση μεταξύ της ανίχνευσης ιών και της ανάγκης για θεραπεία με οξυγόνο καθώς και με την διάρκεια νοσηλείας των ασθενών [725]. Παρόλα αυτά, οι ασθενείς με μικτές λοιμώξεις είχαν υψηλότερο ποσοστό πυρετού σε σύγκριση με την υπόλοιπη ομάδα.

Κάποιες άλλες μελέτες δεν επιβεβαίωσαν την συσχέτιση αυτή των ικών λοιμώξεων με βαρύτητα νόσου παρόμοια με την δική μας μελέτη [721, 722, 727]. Είναι ενδιαφέρον πως στην παρούσα έρευνα οι μεμονωμένες λοιμώξεις συσχετίστηκαν με υψηλότερη πιθανότητα νοσηλείας. Αυτό μπορεί να αποδοθεί σε ένα συστηματικό σφάλμα (bias) το οποίο σχετίζεται με τα κατωτέρω: α) οι μικτές ιογενείς λοιμώξεις είναι πιο συχνές στα μικρότερα παιδιά που συνήθως έχουν μια ηπιότερη κλινική εικόνα της νόσου και καλοήθη πορεία, β) σφάλμα επιλογής (selection bias) σχετικά με την παρουσίαση και αναζήτηση ιατρικής βοήθειας στα ΤΕΠ ενός τριτοβάθμιου νοσηλευτικού ιδρύματος, των πιο σοβαρών περιπτώσεων αναπνευστικής λοίμωξης, που συχνότερα είναι μεμονωμένες, και όχι μικτές ιογενείς λοιμώξεις, και γ) την πιθανότητα ότι ο επιπρόσθετος ιός που ανιχνεύθηκε ανακαλύφθηκε τυχαία όταν είχε στην πραγματικότητα έναν αποικιστικό ρόλο (colonizer). Επιπλέον, στις δύο τελευταίες χρονικές περιόδους της μελέτης είχαμε πολύ λίγες περιπτώσεις RSV ή μικτών ιογενών λοιμώξεων. Εάν η συνύπαρξη του RSV και της γρίπης σήμαινε: α) την καθιέρωση του RSV πριν από τη μόλυνση με τον ιό της γρίπης ή αντίστροφα, β) την παρουσία ενός από τους 2 ιούς ως αποικιστή / παθογόνο που διευκόλυνε την εγκατάσταση του άλλου, ή γ) πως και οι δύο ενήργησαν ταυτόχρονα ως συν-παθογόνα, είναι ένα θέμα, που οι μελλοντικές μελέτες πρέπει να προσπαθήσουν να διαλευκάνουν.

Όσον αφορά τις μεμονωμένες ιογενείς λοιμώξεις, οι κυριότεροι αναπνευστικοί ιοί που εντοπίστηκαν κατά τη διάρκεια της μελέτης ήταν η γρίπη και ο RSV. Σημαντικά ποσοστά λοίμωξης με RSV σημειώθηκαν κατά τη διάρκεια της χειμερινής περιόδου να συν-κυκλοφορούν με τον ιό της γρίπης ακόμη και κατά την πανδημική περίοδο 2009-10. Τα δεδομένα της μελέτης μας σχετικά με τον επιπολασμό των διαφόρων τύπων γρίπης συμφωνούν με τα δεδομένα του εθνικού συστήματος επιτήρησης της γρίπης, το οποίο όμως δεν καταγράφει δεδομένα για την κυκλοφορία άλλων αναπνευστικών ιών. Αυτή η αυξημένη κυκλοφορία του ιού RSV έχει επιβεβαιωθεί και σε άλλες προσπάθειες (δημοσίευση από το Εθνικό Κέντρο Αναφοράς Γρίπης Νοτίου Ελλάδας, το Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ) [719].

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας συμπίπτουν με αυτά άλλων μελετών που δείχνουν ποσοστά ανίχνευσης αναπνευστικών ιών από 38,8% έως και 52,1% σε ενήλικες με συμπτωματολογία λοίμωξης του ανώτερου αναπνευστικού ή γριπώδη συνδρομή [728, 729].

Το υψηλότερο ποσοστό ιικών λοιμώξεων στα παιδιά δεν ήταν απροσδόκητο εύρημα και έχει περιγραφεί προ πολλού στην βιβλιογραφία [731, 732].

Ειδικότερα, λοιμώξεις που οφείλονταν σε RSV και hMPV παρατηρήθηκαν συχνότερα σε παιδιά σε σύγκριση με τους ενήλικες στην παρούσα μελέτη. Είναι γνωστό πως ο RSV είναι ένα κοινό παθογόνο στις λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος στα παιδιά. Αν και δεν παρατηρήθηκε στη μελέτη μας, ο RSV μπορεί να είναι ένα παθογόνο με καταστροφικές συνέπειες σε πολύ μικρά παιδιά ή παιδιά που έχουν σοβαρές υποκείμενες νόσους [733, 734]. Σοβαρότερες κλινικές εικόνες και ανάγκη για νοσηλεία σε νοσοκομειακό περιβάλλον έχει περιγραφεί για παιδιά με λοίμωξη από RSV στην Ελληνική πραγματικότητα [735].

Ο ανθρώπινος μεταπνευμονοϊός παρατηρήθηκε επίσης συχνότερα σε παιδιά στη μελέτη μας. Είναι γνωστό πως ο ιός αυτός συχνά ανιχνεύεται σε μικρά παιδιά που πάσχουν από λοιμώξεις του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος [341, 733, 736]. Απαιτείται αυξημένη εγρήγορση για την διάγνωση αυτού του παθογόνου σε μικρότερες ηλικίες. Οι νέες μοριακές τεχνικές διευκολύνουν την ταυτοποίηση παθογόνων που δεν είχαν υποεκτιμηθεί σε προηγούμενες μελέτες των ιογενών λοιμώξεων του αναπνευστικού συστήματος.

Διαγνώσαμε λοιμώξεις με RSV σε σημαντικό ποσοστό του ενήλικου πληθυσμού μας. Ο ρόλος του RSV στην πρόκληση λοίμωξης του αναπνευστικού σε ενήλικες αναγνωρίζεται όλο και περισσότερο [737]. Οι λοιμώξεις με RSV σε ενήλικες είναι συνήθως επανα-μολύνσεις και συσχετίζονται με ήπια κλινική εικόνα [737]. Στη μελέτη μας, η ανίχνευση RSV δεν συσχετίστηκε με την ανάγκη για νοσηλεία στους ασθενείς μας (έμμεσο σημείο βαρύτητας της λοίμωξης). Την τελευταία δεκαετία έχει ευρέως αναγνωρισθεί η εμφάνιση του ιού σε ενήλικες και ηλικιωμένους με συννοσηρότητες και με την εμφάνιση αναπνευστικών επιπλοκών [43, 155-158]. Ο RSV μπορεί να είναι ένα σημαντικό παθογόνο για συγκεκριμένες υποομάδες ενηλίκων ασθενών όπως τα ανοσοκατεσταλμένα άτομα ή ασθενείς με οξεία επιδείνωση χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας [43]. Το φορτίο της νόσου είναι παρόμοιο με αυτό της μη πανδημικής εποχικής γρίπης [158]. Ωστόσο, δεν είδαμε τη συσχέτιση αυτή να ισχύει σε στατιστικά σημαντικό βαθμό στην μελέτη μας. Ο ρόλος του RSV στην πρόκληση μιας πιο σοβαρής αναπνευστικής λοίμωξης ειδικά στον ενήλικα πληθυσμό εξακολουθεί να παραμένει θέμα συνεχιζόμενης έρευνας και συζήτησης [738]. Γενικότερα ο RSV

φαίνεται να συνδέεται με ηπιότερη ασθένεια σε σχέση με τη γρίπη [739]. Εν τούτοις η συσχέτιση με σοβαρότερη νόσο σε ηλικιωμένα άτομα σε κάποιες μελέτες δεν μπορεί να παραβλεφθεί [740].

Η μελέτη μας περιορίζεται από το γεγονός ότι εξέτασε πληθυσμό από ένα μόνο νοσοκομείο που ήταν και το κέντρο της μελέτης. Παρά τον κίνδυνο του σφάλματος δειγματοληψίας (selection bias) (π.χ. όχι όλοι οι ασθενείς που επισκέφθηκαν τα ΤΕΠ εξετάστηκαν, καταγραφή μικρού αριθμού παιδιατρικών ασθενών), τα αποτελέσματα των δειγμάτων μας συσχετίζονται καλά και προσομοιάζουν με τα εθνικά δεδομένα που ελήφθησαν από το συντονισμένο δίκτυο παρατηρητών και επιτήρησης της γρίπης (sentinel surveillance network) του Ελληνικού Κέντρου Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων. Το δίκτυο αυτό λειτουργεί σε περισσότερες από 200 τοποθεσίες σε ολόκληρη τη χώρα και είναι πολύ πιο αντιπροσωπευτικό του γενικού πληθυσμού από το δείγμα της μελέτης μας όσον αφορά την γρίπη. Τα στοιχεία από αυτό το δίκτυο δείχνουν πως η εποχική γρίπη στην Ελλάδα ξεκινάει γύρω στο τέλος της χρονιάς (εβδομάδες 51-52 κάθε έτους) και διαρκεί μέχρι περίπου την εβδομάδα 16-18 του επόμενου έτους (Πίνακας 10, στοιχεία διαθέσιμα στο www.keelpno.gr).

Ένας ακόμη περιορισμός της μελέτης μας ήταν πως δεν μπορέσαμε να εξετάσουμε τυχόν επιδράσεις του κλίματος και κλιματολογικών αλλαγών στα ποσοστά ανίχνευσης των διαφορετικών ιών. Έχει δημοσιευθεί πως η εποχική κατανομή των διαφόρων αναπνευστικών ιών διαφέρει ανάλογα με τις κλιματικές συνθήκες σε διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές [741-743], ωστόσο κάποιες μελέτες απέτυχαν να αναδείξουν αυτήν την συσχέτιση [744, 745].

Ένας επιπρόσθετος περιορισμός στην ανάλυση των ευρημάτων μας είναι ότι δεν θα μπορούσαμε να αποκλείσουμε τη πιθανότητα να υπήρχαν επιδημίες RSV στην τοπική κοινότητα κατά τη διάρκεια των δύο πρώτων ετών της μελέτης. Στην περίπτωση που ίσχυε αυτό περισσότεροι ασθενείς με RSV θα ήταν αναγκασμένοι να αναζητήσουν ιατρική βοήθεια. Η μεταβλητότητα της ανίχνευσης του ιού RSV ανά συλλεγμένα δείγματα ανά εβδομάδα μελέτης κατά την περίοδο 2010-11 (οι υψηλότερες συχνότητες RSV σημειώθηκαν τότε) υποδηλώνει μια τέτοια πιθανότητα για τις τελευταίες εβδομάδες της μελέτης, όταν ανιχνευόταν μόνο RSV.

Επιπλέον, τα περιορισμένα δεδομένα για άλλους ιούς εκτός από τον ιό της γρίπης και τον RSV είναι ενδεικτικά της κυριαρχίας αυτών των ιών κατά τη διάρκεια της χειμερινής περιόδου. Μεγαλύτερες μελέτες που θα πραγματοποιηθούν καθ' όλη τη διάρκεια του έτους είναι απαραίτητες για τη διευκρίνιση των κλινικο-επιδημιολογικών συσχετίσεων για άλλους ιούς όπως π.χ. οι ρινοϊοί (συνήθως κυκλοφορούν σε άλλες εποχές), ο hMPV και ο bocavirus (και οι δύο ανιχνεύθηκαν συχνότερα σε παιδιά στην παρούσα μελέτη).

Τέλος, δεν μπορούμε να αποκλείσουμε την πιθανότητα να υπήρχε ιός που δεν ανιχνεύσαμε σε πολλούς από τους προσεκτικά επιλεγμένους ασθενείς της μελέτης μας, που θα είχαν πράγματι (λόγω της συμπτωματολογίας τους) ιογενή λοίμωξη του αναπνευστικού, αλλά χαμηλό και μη ανιχνεύσιμο ιικό φορτίο (ακόμη και με τεχνικές PCR) στους ανώτερους αεραγωγούς. Σε συνέχεια των ανωτέρω και σχετικά με την ευαισθησία των μεθόδων μας και της δειγματοληψίας μας, είναι γνωστό ότι δείγματα από το κατώτερο αναπνευστικό έχουν υψηλότερη απόδοση στην ανίχνευση και ταυτοποίηση ιών που προκαλούν αναπνευστικές λοιμώξεις. Παρομοίως, ρινοφαρυγγικά δείγματα ή ενωμένα (pooled) ρινοφαρυγγικά και στοματοφαρυγγικά δείγματα έχουν αναφερθεί ως καταλληλότερα για την ανάλυση αναπνευστικών λοιμώξεων [746, 747]. Είναι επίσης ευρέως αποδεκτό ότι η ρινοφαρυγγική δειγματοληψία είναι πιο ευαίσθητη στην ανίχνευση αναπνευστικών ιών από την στοματοφαρυγγική μέθοδο που χρησιμοποιήσαμε. Όμως για πρακτικούς λόγους, η χρήση αυτής της προτυπωμένης τεχνικής δειγματοληψίας στον πολυάσχολο χώρο του ΤΕΠ σε συνδυασμό με μια γρήγορη μοριακή τεχνική ανίχνευσης διευκόλυνε σε σημαντικό βαθμό την πραγματοποίηση της μελέτης μας. Σε ένα υποσύνολο της μελέτης μας που αφορούσε σχεδόν το ένα τρίτο των ασθενών μας, τα αποτελέσματα της μοριακής μεθόδου που περιγράφηκε και χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη σε στοματοφαρυγγικά εκπλύματα συσχετίστηκαν πολύ καλά με τα αποτελέσματα ρινοφαρυγγικών επιχρισμάτων (εργασία υπό προετοιμασία για κατάθεση για δημοσίευση). Παρ' όλα αυτά είναι πιθανό πως η ανάλυση μας επηρεάστηκε από ένα συστηματικό σφάλμα ανάλυσης των ασθενών με υψηλότερο ιικό φορτίο που έδωσαν και θετικά αποτελέσματα συχνότερα από τους ασθενείς με χαμηλό ιικό φορτίο. Κατά αντιστοιχία δεν υπολογίσαμε στην ανάλυση μας τυχόν βακτηριακές συλλοιμώξεις στους ασθενείς μας, αφού οι περισσότεροι, εκτός αν ήταν σοβαρά άρρωστοι, δεν εξετάστηκαν με ειδικές εξετάσεις για την παρουσία βακτηριακής συν-λοιμώξης. Έχει αναφερθεί πρόσφατα ότι οι ιογενείς-βακτηριακές συλλοιμώξεις συσχετίζονται με μια πιο επιπλεγμένη κλινική πορεία και επηρεάζουν δυσμενώς την

πρόγνωση της σοβαρής πνευμονίας της κοινότητας [748]. Ωστόσο, όπως δείχνουν προηγούμενες μελέτες, οι περισσότερες από τις οξείες αναπνευστικές λοιμώξεις στον γενικό πληθυσμό είναι ιογενούς προέλευσης [749].

Συμπερασματικά, περιγράψαμε για πρώτη φορά στην Ελλάδα, μια εκτεταμένη πληθυσμιακή μελέτη μοριακής επιδημιολογίας των μικτών ιογενών λοιμώξεων του αναπνευστικού σε άτομα που προσέρχονταν για κλινική αξιολόγηση σε ένα μεγάλο τριτοβάθμιο νοσοκομείο. Νεότερες μοριακές τεχνικές μας βοήθησαν στη ανίχνευση και διάγνωση μικτών ιογενών λοιμώξεων του αναπνευστικού σε ένα σημαντικό ποσοστό του πληθυσμού της μελέτης μας. Παρόλο που δεδομένα από τη μελέτη μας συμφωνούν με δεδομένα από αρκετές δημοσιευμένες παιδιατρικές μελέτες, πιστεύουμε ότι η κύρια ισχύ της εργασίας μας είναι, ότι αποτελεί, μία από τις ελάχιστες επιδημιολογικές μελέτες που εξετάζουν μικτές ιογενείς λοιμώξεις του αναπνευστικού σε ενήλικες ασθενείς. Ακόμη περισσότερο, ως επιδημιολογική μελέτη δεν επιχειρεί να εξηγήσει μια υπόθεση. Μάλλον βοηθά στη δημιουργία υποθέσεων σχετικά με το ρόλο των μικτών ιογενών λοιμώξεων στον ενήλικο πληθυσμό και επισημαίνει την έλλειψη δεδομένων σε αυτόν τον σημαντικό ερευνητικό τομέα. Απαιτούνται περαιτέρω εργασίες για την αποσαφήνιση του παθογόνου ρόλου των μικτών ιογενών λοιμώξεων του αναπνευστικού και στις τυχόν προερχόμενες από αυτές τοπικές και συστηματικές τους επιδράσεις.

15. ΜΕΛΕΤΗ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ ΤΗΣ Th17 ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ (ΜΕΛΕΤΗ 2)

15.1 Δημοσίευση

Η μελέτη δημοσιεύθηκε στο έγκριτο περιοδικό Journal of Medical Virology στις 4 Φεβρουαρίου του 2019 με τίτλο: «Th17 Serum Cytokines in Relation to Laboratory Confirmed Respiratory Viral Infection; a pilot study»

- **Antalis E**, Spathis A, Kottaridi C, Kossyvakis A, Pastellas K, Tsakalos K, Mentis A, Kroupis C, Tsiodras S. Th17 Serum Cytokines in Relation to Laboratory Confirmed Respiratory Viral Infection; a pilot study. Journal of Medical Virology, 11 January 2019.

Επιπλέον η μελέτη έγινε δεκτή στο 21^ο Ευρωπαϊκό Συνέδριο Κλινικής Ιολογίας, που πραγματοποιήθηκε στην Αθήνα τον Σεπτέμβριο του 2018 και παρουσιάστηκε με τίτλο: «Viral Pathogenesis and Immune Responses» την Δευτέρα 24 Σεπτεμβρίου του 2018.

- **Antalis E**, Spathis A, Kottaridi C, Kossyvakis A, Mentis A, Kroupis C, Tsiodras S. Th17 cytokine profile in a study of the molecular epidemiology of respiratory viruses. 21st ESCV Annual Meeting, Athens 23-26 September 2018.

15.2 Εισαγωγή

Μια σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ της φυσικής (innate) και της επίκτητης (adaptive) ανοσίας, ελέγχει την απόκριση στις ιογενείς λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος [4]. Η γρίπη μετά την μόλυνση ενός ανθρώπινου κυττάρου αναγνωρίζεται από υποδοχείς αναγνώρισης (Pattern recognition receptors). Αυτή η διαδικασία οδηγεί στην κινητοποίηση της φυσικής ανοσίας και στην έκκριση χημειοκινών και κυτταροκινών [4, 59, 60]. Μέσω μιας αλληλουχίας συμβάντων που αφορά γειτνιάζοντα στην αρχική προσβολή κύτταρα της φυσικής ανοσίας ενεργοποιείται από την λανθάνουσα μορφή του α transforming growth factor- β και οδηγεί σε περαιτέρω έκκριση χημειοκινών και ιντερλευκινών από παρεγχυματικά και φλεγμονώδη κύτταρα [59].

Στην αρχική φάση της ανοσιακής απόκρισης, προ-φλεγμονώδεις κυτταροκίνες της υπερ-οικογένειας (superfamily) της IL-1, όπως οι κυτταροκίνες IL-1β και IL-18 παράγονται από μολυσμένα μακροφάγα και δενδριτικά κύτταρα (DCs) και έχουν ουσιαστικό ρόλο στην παθογένεια της λοίμωξης. Η ενεργοποίηση του pyrin domain containing protein 3 (NLRP3)-φλεγμονοσώματος πυροδοτεί αυτή την παραγωγή κυτταροκινών.

Επιπρόσθετα, εκκρίνονται οι ιντερφερόνες τύπου I και τύπου III με σκοπό την παρεμπόδιση της αναπαραγωγής και του πολλαπλασιασμού του ιού από μολυνθέντα καθώς και από πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα. Ταυτόχρονα, τα B κύτταρα εκκρίνουν αντισώματα για την ολοκλήρωση της επίκτητης (adaptive) ανοσιακής απόκρισης [59]. Το τελικό αποτέλεσμα είναι είτε αντίσταση του ξενιστή (host resistance) είτε ανοχή (tolerance) που προάγει την επισκευή των ιστών που έχουν υποστεί βλάβη [59] (βλέπε και γενικό μέρος διατριβής, υποκεφάλαιο γρίπης, ανωτέρω).

Αυτός ο καταρράκτης έκκρισης κυτταροκινών είναι υπεύθυνος για πολλά από τα κλινικά συμπτώματα και σημεία που σχετίζονται με την εμφάνιση γριπώδους συνδρομής. Εκτός από το κλινικό σύνδρομο, η χρονική διάρκεια και η έκταση αυτής της φλεγμονώδους απόκρισης μπορεί να οδηγήσει σε περαιτέρω παθολογία στο τοπικό ιστικό επίπεδο.

Αν και δεν συνδέονται σαφώς με ιογενείς λοιμώξεις, τα κύτταρα Th17 μπορεί να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της ακεραιότητας του βλεννογονικού φραγμού και να συμμετέχουν στην κάθαρση των ικών παθογόνων από τον αναπνευστικό βλεννογόνο. Υπάρχει περιορισμένη διαθέσιμη γνώση σχετικά με το ρόλο της οδού της ιντερλευκίνης-17 στην απόκριση του ανθρώπινου ξενιστή σε λοίμωξη με αναπνευστικούς ιούς. Σε πειραματικά μοντέλα, οι Th17-κυτταροκίνες φαίνεται πως σχετίζονται με τη ρύθμιση της φλεγμονής και μπορεί να έχουν ευεργετικό ρόλο στην κάθαρση της λοίμωξης από τον ιό της γρίπης[90]. Εν τούτοις άλλοι ερευνητές προτείνουν ένα δυνητικό ρόλο στην προαγωγή της βαρύτητας της νόσου σε πειραματικά μοντέλα [91].

Λιγοστά ως σήμερα δεδομένα υποδεικνύουν συσχετισμό μιας υπερβολικής συστηματικής Th1 και Th17 απόκρισης σε σοβαρή αναπνευστική νόσο (γρίπη) που έχει προκληθεί από το πανδημικό στέλεχος γρίπης A H1N1pdm09 [92].

Στην τρέχουσα μελέτη, αξιολογήσαμε το προφίλ των εκκρινόμενων Th17 κυτταροκινών ως απόκριση σε ιογενείς λοιμώξεις του αναπνευστικού. Η μελέτη εντάχθηκε σε μια πιλοτική μελέτη λοιμώξεων του αναπνευστικού όπου χρησιμοποιήθηκαν μοριακές δοκιμές για την ταυτοποίηση του εμπλεκόμενου ιού.

15.3 Μέθοδοι-Διαδικασίες

- Στην μελέτη εντάχθηκαν 76 διαδοχικοί ασθενείς με συμπτώματα λοίμωξης του αναπνευστικού συστήματος [δηλαδή πυρετό και/ή βήχα και/ή άλλα συμπτώματα που υποδήλωναν λοίμωξη του αναπνευστικού (π.χ. ρινική συμφόρηση, ρινόρροια, φαρυγγαλγία)] που επισκέφθηκαν τα ΤΕΠ του τριτοβάθμιου Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου «Αττικών» κατά τη χειμερινή περίοδο 2014-15. Τα δείγματα συνελλέγονταν τις ημέρες εφημερίας του νοσοκομείου (κάθε 4 ημέρες) και κατά την περίοδο 24 Οκτωβρίου 2014 έως και 2 Απριλίου 2015.

- Μετά την ενυπόγραφη έγγραφη συγκατάθεση του ασθενούς πραγματοποιείται η συλλογή του αναπνευστικού δείγματος με προτυποποιημένη τεχνική. Πιο συγκεκριμένα μετά από γαργαρισμό στο στόμα (σε όλη την στοματο-φαρυγγική περιοχή) με φυσιολογικό ορό για 5 δευτερόλεπτα και λήψη ρινοφαρυγγικού επιχρίσματος (υπό την επιτήρηση του ερευνητή) γινόταν συλλογή του υλικού σε διάλυμα ThinPrep CytoLyt® (της εταιρείας Cytoc Corporation, Malborough, MA, USA). Το υλικό άμεσα προσκομιζόταν στο συνεργαζόμενο ερευνητικό εργαστήριο.

- Τα βασικά κλινικά και επιδημιολογικά χαρακτηριστικά για κάθε ασθενή συλλέχθηκαν μέσω δομημένης φόρμας μετά από συνέντευξη με τον κάθε ασθενή. Την συλλογή υλικών και την συνέντευξη διεξήγαγε ο κύριος ερευνητής.

- Η μελέτη εγκρίθηκε από το επιστημονικό συμβούλιο του ΠΓΝ «Αττικών» και όλες οι διαδικασίες που είχαν σχέση με την μελέτη έγιναν σύμφωνα με τα εθνικά και διεθνή πρότυπα ηθικής και δεοντολογίας και σύμφωνα με την τη Διακήρυξη του Ελσίνκι του 1975, όπως αυτή αναθεωρήθηκε το 2008.

- Απομόνωση του ιικού RNA πραγματοποιήθηκε με την χρήση 400 μl διαλύματος ThinPrep CytoLyt με την χρήση του εμπορικού πακέτου MagMAX™ Viral RNA Isolation Kit και εκλούστηκε (eluted) σε 50 μl ρυθμιστικού διαλύματος (elution buffer).

- Για την ανίχνευση των ιών χρησιμοποιήθηκε το εμπορικό πακέτο CLART® PneumoVir (GENOMICA, Ισπανία) που ανιχνεύει την παρουσία των 17 πιο συχνών τύπων ανθρώπινων ιών που

προκαλούν λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος [*Influenza virus A, B and C; Parainfluenza virus 1, 2, 3 and 4 (subtypes A and B); Respiratory Syncytial Virus type A (RSV-A); Respiratory Syncytial Virus type B (RSV-B); Rhinovirus; Metapneumovirus (subtypes A and B); Enterovirus (Echovirus); Adenovirus; Coronavirus και Bocavirus*]. Η μοριακή διαδικασία ακολουθήθηκε σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Χρησιμοποιήθηκαν δύο αντιδράσεις RT (αντίστροφης μεταγραφάσης) – πολυπλεκτική (multiplex) PCR και η ανίχνευση / οπτικοποίηση διεξήχθη με βάση χαμηλής πυκνότητας μικρο-συστοιχίες. Στο κάθε πείραμα συμπεριλήφθηκαν αρνητικοί έλεγχοι.

- Η ταχεία διαγνωστική δοκιμασία (point of care test) mariPOC® (ArcDia International Oy Ltd, Turku, Finland) μια αυτοματοποιημένη δοκιμασία ελέγχου ικών αντιγόνων (με την χρήση πολλαπλών αναλυτών) χρησιμοποιήθηκε σε συνδυασμό με ένα σύστημα κλινικών μικροσυστοιχιών για ανίχνευση ιών και επιπρόσθετα εξέτασε την παρουσία αντιγόνου του *Στρεπτόκοκκου της πνευμονίας* στο έκπλυμα. Θετικά αποτελέσματα με οιαδήποτε από τις δύο μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν, συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση.

- Το προφίλ των Th17 κυτταροκινών αξιολογήθηκε με την χρήση του εμπορικού πακέτου MILLIPLEX® MAP Human TH17 Magnetic Bead Panel. Η δοκιμασία χρησιμοποιείται για την ταυτόχρονη ποσοτικοποίηση των ακόλουθων κυτταροκινών που εμπλέκονται στο Th17 μονοπάτι [750]:

GM-CSF, IL-1β, IL-6, IL-17A, IL-17F, IL-17E/IL-25, IL-21, IL-22, and IL-23. Αυτές οι κυτταροκίνες επιλέχθηκαν γιατί συμμετέχουν στον καταρράκτη κυτταροκινών που σχετίζεται με την IL-17. Η δοκιμασία χρησιμοποιήθηκε σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Η χρήση της τεχνολογίας Luminex, βασίζεται στον συνδυασμό ανοσοενζυμικής μεθόδου τύπου sandwich ELISA και χρήση κυτταρομετρίας. Πιο λεπτομερώς, η συγκεκριμένη τεχνική περιλαμβάνει τα εξής βασικά μέρη (έχουν περιγραφεί λεπτομερώς και στην διατριβή της κας Παρασκευής Μαγγίνα με τίτλο: «Μελέτη ανοσολογικής απόκρισης στη βρογχιολίτιδα και συσχέτιση με μικροβιακό παράγοντα και άσθμα στη νηπιακή ηλικία» διαθέσιμη από το Εθνικό Κέντρο Τεκμηρίωσης (ΕΚΤ) στον δικτυακό τόπο:

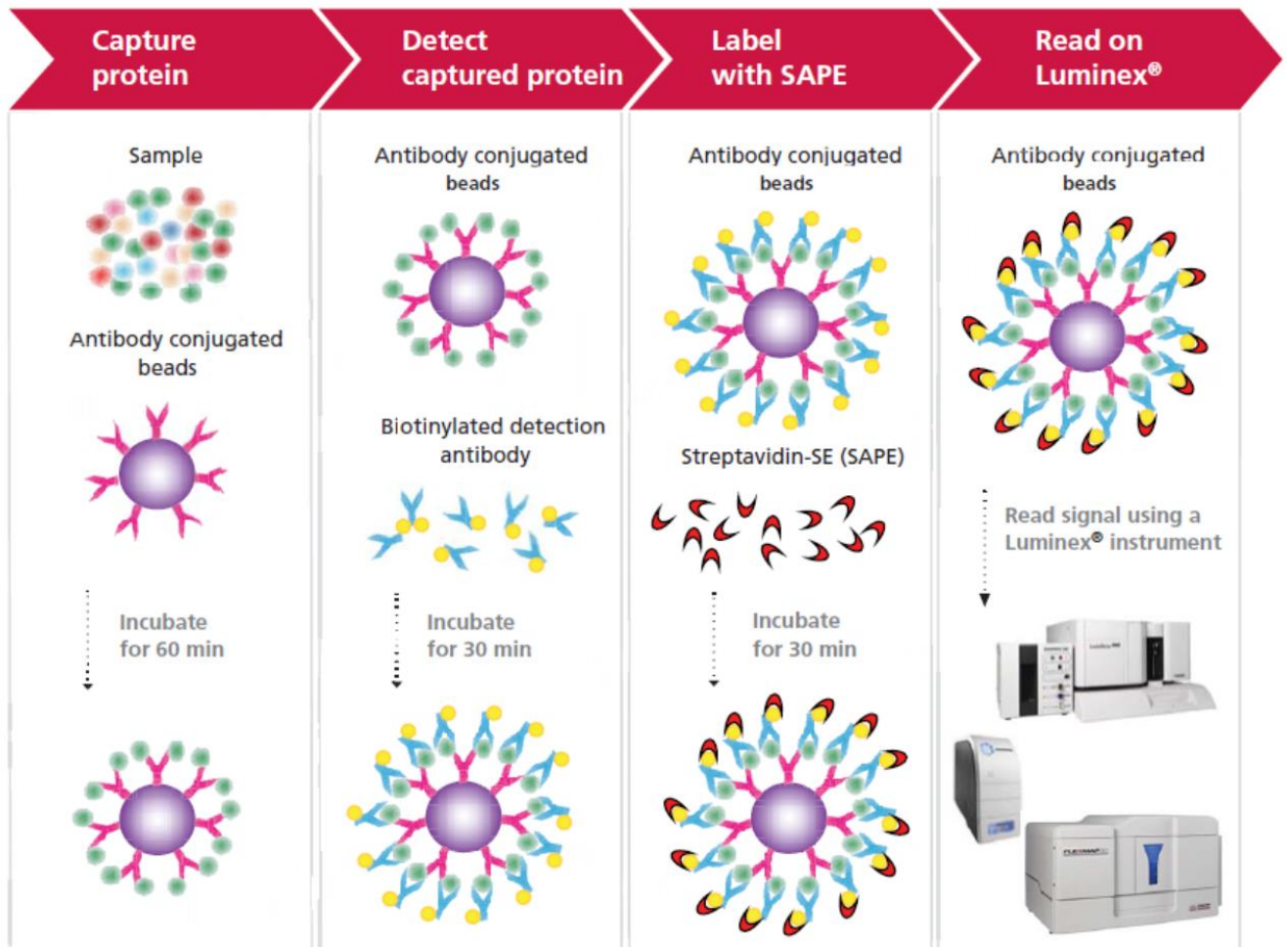
<http://thesis.ekt.gr/thesisBookReader/id/41746#page/1/mode/2up>

α) Μικροσφαιρίδια (500 μικροσφαιρίδια από πολυστυρένιο διαμέτρου 5.6 μm) βαμμένα με φθορίζουσες χρωστικές (beads). Καθένα από τα μικροσφαιρίδια έχει επιχρισθεί με ειδικό αντίσωμα

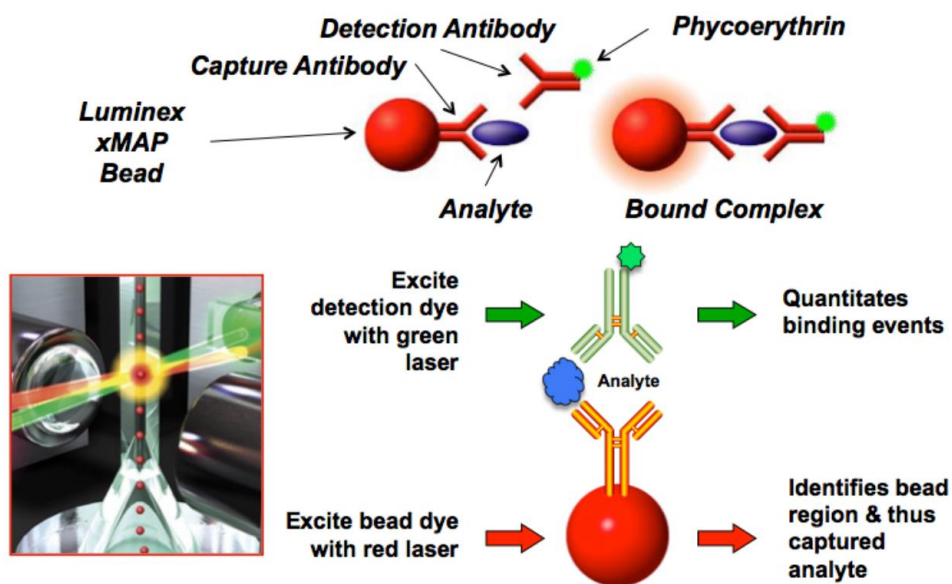
δέσμευσης (capture antibody). Κάθε μικροσφαιρίδιο έχει συγκεκριμένο κωδικό χρώματος και φάσμα εκπομπής ακτινοβολίας που επιτρέπει την ακριβή διάκρισή του από το συγκεκριμένο μηχανήμα (Γραφήματα/εικόνες 11-13). Με τον τρόπο αυτό είναι εφικτή η ταυτόχρονη ανίχνευση πολλών διαφορετικών τύπων κυτταροκινών σε κάθε πηγαδάκι πλάκας 96 θέσεων.

β) Ειδικού τύπου κυτταρόμετρο με δύο laser και ειδικά διαμορφωμένο σύστημα οπτικής για την ποσοτική μέτρηση των διαφόρων μορίων που προσδένονται στην επιφάνεια των beads.

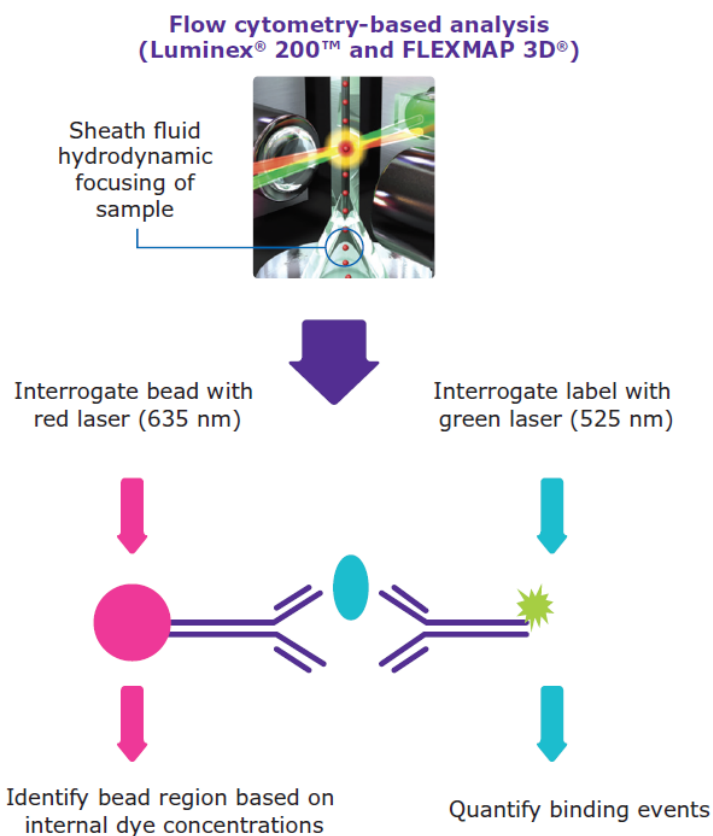
γ) Υψηλής ταχύτητας ψηφιακό ανιχνευτή σήματος που εκπέμπεται από το σύστημα των φθορίζοντων μορίων με την επίδραση των laser του κυτταρομετρητή, για την μετατροπή των δεδομένων σε μετρήσιμες τιμές συγκέντρωσης.



Γράφημα/Εικόνα 11. Βασική αρχή λειτουργίας της τεχνολογίας Luminex®



Γράφημα/Εικόνα 12. Η τεχνολογία Luminex® Xmap



Γράφημα/Εικόνα 13. Η τεχνολογία Luminex® xMAP

Η τεχνική πραγματοποιήθηκε με προτυπωμένη διαδικασία όπως περιγράφεται από τον κατασκευαστή χρησιμοποιώντας και τα απαραίτητα μέτρα ποιότητας (quality controls). Ουσιαστικά τα αντισώματα δέσμησης (Capture Antibodies) που κατευθύνονται έναντι των μορίων που επιθυμούμε να ανιχνεύσουμε - στην περίπτωση της παρούσας μελέτης των GM-CSF, IL-1β, IL-6, IL-17A, IL-17F, IL-17E/IL-25, IL-21, IL-22, and IL-23 προσδένονται πάνω στα beads. Τα συνδεδεμένα με τα δεσμευτικά αντισώματα μικροσφαιρίδια (Capture Antibodies beads) αντιδρούν στην συνέχεια με το δείγμα που περιέχει τις κυτταροκίνες ενδιαφέροντος. Ακολουθεί μια σειρά πλυσιμάτων της πλάκας που γίνεται σε ειδικό μηχάνημα κενού αέρος (vacuum) το οποίο αδειάζει την ειδική πλάκα της αντίδρασης από τα υγρά διαλύματα-αντιδραστήρια από τον πάτο της ώστε τα beads να παραμένουν πάντα μέσα στα πηγαδάκια (wells) ανέπαφα. Μετά από μια σειρά πλυσιμάτων με σκοπό την απομάκρυνση της πρωτεΐνης που δεν έχει συνδεθεί με τα συμπλέγματα μικροσφαιριδίων – δεσμευτικών αντισωμάτων (beads-Capture Antibodies), προστίθεται ένα μίγμα από βιοτινυλιωμένα αντισώματα (biotinylated Detection Antibodies), ώστε να δημιουργηθεί το σύμπλεγμα Bead-Capture Antibody-Biomarker of interest-Biotinylated Detection Antibody (Εικόνα 30). Το τελικό λειτουργικό σύμπλεγμα σχηματίζεται με την προσθήκη του συμπλόκου της στρεπταβιδίνης – φυκοερυθρίνης (Streptavidin-Phycoerythrin, SA-PE). Η φυκοερυθρίνη λειτουργεί σαν φθορίζων δείκτης επιτρέποντας την ποσοτική μέτρηση του μορίου ενδιαφέροντος όταν το σχηματισθέν σύμπλεγμα θα διέλθει από τις ακτίνες laser του κυτταρόμετρου.

Κατά τη διέλευση του δείγματος από ειδικά διαμορφωμένο κυτταρομετρητή (Luminex based reader), το κόκκινου χρώματος laser (635nm) ακτινοβολεί τις φθορίζουσες χρωστικές εντός κάθε bead ώστε να καταστεί εφικτή η κατηγοριοποίηση των beads και επομένως η ανίχνευση των κυτταροκινών στόχων. Ταυτόχρονα, το laser πράσινου χρώματος (532nm) ακτινοβολεί την φυκοερυθρίνη (PE) παράγοντας ένα σήμα που θα ανιχνευθεί από τον φωτοπολλαπλασιαστή του συστήματος (PMT, photomultiplier tube). Ένας υψηλής ταχύτητας ψηφιακός επεξεργαστής διαχειρίζεται τα τελικά δεδομένα και το λογισμικό της Luminex τα παρουσιάζει στην μορφή μέσης πυκνότητας φθορίζουσας χρωστικής (MFI, Median Fluorescence Intensity). Αυτές οι τιμές με τη βοήθεια της πρότυπης καμπύλης για κάθε μόριο ενδιαφέροντος μετατρέπονται σε τιμές συγκεντρώσεως (Concentration) στο υπό εξέταση δείγμα σε pg/ml. Η συγκέντρωση του κάθε μορίου που προσδένεται σε κάθε bead είναι ανάλογη με την MFI του παρεχόμενου σήματος.

(Maggina, Paraskevi 2014, Μελέτη ανοσολογικής απόκρισης στη βρογχιολίτιδα και συσχέτιση με μικροβιακό παράγοντα και άσθμα στη νηπιακή ηλικία Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (ΕΚΠΑ), <http://thesis.ekt.gr/thesisBookReader/id/41746#page/1/mode/2up>) (Γραφήματα/Εικόνες 11-13).

• Τα στάδια της πειραματικής διαδικασίας πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή και πιο συγκεκριμένα:

ο ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΑΝΟΣΟΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ-LUMINEX

A. Πριν την έναρξη της ανάλυσης, επιτακτική ανάγκη αποτελεί η πλήρης μελέτη του πρωτοκόλλου και η σε βάθος κατανόηση των Τεχνικών Οδηγιών.

B. Όλα τα αντιδραστήρια επιβάλλεται να θερμανθούν σε θερμοκρασία δωματίου (20-25°C) πριν την έναρξη της ανάλυσης.

Γ. Ακολουθεί οργάνωση της τοποθέτησης των Standards [0 (Background), Standard 1 έως 7], των Controls 1 και 2, και των δειγμάτων στο Well Map Worksheet σε κάθετη διάταξη. (Σημείωση: Τα περισσότερα όργανα θα διαβάσουν μόνο την πλάκα των 96 φρεατίων κάθετα από προεπιλογή.) Συνίσταται ο προσδιορισμός να πραγματοποιηθεί εις διπλούν.

Δ. Εφόσον χρησιμοποιηθεί μια πλάκα φίλτρου, ακολουθεί τοποθέτηση της πλάκας του φίλτρου στον σταθεροποιητή της πλάκας ανά πάσα στιγμή κατά τη διάρκεια της προσθήκης των αντιδραστηρίων και των βημάτων της επώασης, έτσι ώστε το κάτω μέρος της πλάκας να μην έλθει σε επαφή με οποιαδήποτε επιφάνεια.

Συνεπώς τα βήματα του ανοσοπροσδιορισμού είναι τα εξής:

1. Προσθήκη 200 μl Assay Buffer σε κάθε φρεάτιο της πλάκας. Σφράγισμα και ανάδευση σε έναν ανακινητή πλάκας για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (20-25°C).

2. Απόχυση του Assay Buffer και αφαίρεση του υπολοίπου από όλα τα φρεάτια με αναστροφή της πλάκας και γρήγορο χτύπημα επάνω στις απορροφητικές πετσέτες αρκετές φορές.

3. Προσθήκη 25 μl από κάθε Standard ή Control στα κατάλληλα φρεάτια. Το Assay Buffer θα πρέπει να χρησιμοποιείται για 0 Standard (Background).

4. Προσθήκη 25 μl του Assay Buffer στα φρεάτια των δειγμάτων.

5. Προσθήκη 25 μl του κατάλληλου διαλύματος μήτρας (matrix solution) στα φρεάτια των background, των standards, και των controls. Κατά τον προσδιορισμό ορού ή πλάσματος, χρησιμοποιείται ο Ορός Matrix που παρέχεται στο κιτ ως διάλυμα μήτρας (matrix solution).
6. Προσθήκη 25 μl των υπό ανάλυση δειγμάτων στα κατάλληλα φρεάτια.
7. Ανακίνηση στο Vortex του Mixing Bottle και προσθήκη 25 μl από τα Αναμεμιγμένα ή τα προ-Αναμεμιγμένα σφαιρίδια (Beads) σε κάθε φρεάτιο. (Σημείωση: Κατά τη διάρκεια της προσθήκης των Beads, γίνεται περιοδική ανακίνηση του Mixing Bottle για την αποφυγή καθίζησης.)
8. Σφράγισμα της πλάκας με μια ταινία σφράγισης. Περιτύλιξη του πιάτου με αλουμινόχαρτο και επώαση με ανάδευση/ ανακίνηση σε έναν αναδευτήρα πλάκας κατά τη διάρκεια της νύχτας (16-18 ώρες) στους 4°C.
9. Προσεκτική αφαίρεση του περιεχομένου των φρεατίων και έκπλυση της πλάκας 2 φορές ακολουθώντας τις οδηγίες που αναγράφονται στην ενότητα του PLATE WASHING.
10. Προσθήκη 25 μl των αντισωμάτων ανίχνευσης (Detection Antibodies) σε κάθε φρεάτιο. (Σημείωση: Τα αντισώματα ανίχνευσης (Detection Antibodies) αφήνονται να θερμανθούν σε θερμοκρασία δωματίου πριν από την προσθήκη).
11. Σφράγισμα, κάλυψη με αλουμινόχαρτο και επώαση με ανάδευση σε συσκευή ανακίνησης πλακός για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου (20-25°C). ΔΕΝ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΓΙΝΕΤΑΙ ΑΝΑΡΡΟΦΗΣΗ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΠΩΑΣΗ.
12. Προσθήκη 25 μl Στρεπταβιδίνης-Φυκοερυθρίνης (Streptavidin-Phycoerythrin) σε κάθε φρεάτιο που περιέχει τα 25 μl των αντισωμάτων ανίχνευσης (Detection Antibodies).
13. Σφράγισμα, κάλυψη με αλουμινόχαρτο και επώαση με ανάδευση σε συσκευή ανακίνησης πλακός για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (20-25°C).
14. Προσεκτική αφαίρεση του περιεχομένου των φρεατίων και έκπλυση της πλάκας πλυσίματος δύο φορές ακολουθώντας τις οδηγίες που αναφέρονται στην ενότητα του PLATE WASHING.

15. Προσθήκη 150 µl του Sheath Fluid (ή του Drive Fluid εάν χρησιμοποιηθεί MAGPIX®) σε όλα τα φρεάτια. Επαν-εναιώρηση των σφαιριδίων (Beads) σε μια δονούμενη πλάκα για 5 λεπτά.

16. Τοποθέτηση και ανάλυση της πλάκας των 96 φρεατίων στο Luminex 200TM, HTS, FLEXMAP 3DTM ή MAGPIX® με λογισμικό το xPONENT.

17. Αποθήκευση και ανάλυση των δεδομένων της Μέσης Έντασης Φθορισμού (MFI) χρησιμοποιώντας μια 5-παραμετρική λογιστική ή την μέθοδο της spline προσαρμοστικής καμπύλης (spline curve-fitting method) για τον υπολογισμό των συγκεντρώσεων του αναλύτη στα δείγματα. (Σημείωση: Για αραιωμένα δείγματα, πολλαπλασιάζεται η υπολογιζόμενη συγκέντρωση με τον παράγοντα αραιώσης).

- Πραγματοποιήθηκε κατόπιν συσχέτιση του προφίλ της Th17 απόκρισης με την ανίχνευση ιών, κλινικο-επιδημιολογικά χαρακτηριστικά (π.χ. ηλικία, φύλο, παρουσία συννοσηροτήτων όπως χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας, καρδιαγγειακής νόσου, διαβήτη ή κακοήθειας, ιστορικό εμβολιασμού, σοβαρή νόσος που οδήγησε σε νοσηλεία) και εργαστηριακά δεδομένα (π.χ. επίπεδα C-αντιδρώσας πρωτεΐνης, αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων στο περιφερικό αίμα) των συμμετεχόντων ασθενών με μονο- και πολύ-παραγοντική ανάλυση.

Οι συννοσηρότητες και το θετικό αποτέλεσμα για ιική λοίμωξη συσχετίστηκαν χρησιμοποιώντας την ακριβή δοκιμασία του Fisher. Τα επίπεδα της κάθε κυτταροκίνης συσχετίστηκαν με την ανίχνευση θετικότητας για οιοδήποτε ιό (any virus positivity), καθώς και με την ανίχνευση συγκεκριμένων ιών (π.χ. influenza AH1N1pdm09, γρίπης Β) με μη παραμετρικές δοκιμασίες (independent sample t-test, Kruskal-Wallis). Επίσης, διεξήχθη ανάλυση της διακύμανσης (ANOVA) για να συγκρίνουμε τα επίπεδα της κάθε κυτταροκίνης μεταξύ των ομάδων: α) καμία ανίχνευση ιού, β) θετικό αποτέλεσμα για Α (H3N2) γρίπη, γ) θετικό αποτέλεσμα για Α (H1N1) pdm09 γρίπη, δ) θετικό αποτέλεσμα για RSV θετική, ε) θετικό αποτέλεσμα για ιούς της παραϊνφλουέντσας, και στ) θετικό αποτέλεσμα για οιοδήποτε άλλον ιό (χρησιμοποιήθηκαν οι post-hoc δοκιμασίες LSD and Games-Howell - ανάλογα με την καταλληλότητα των αποτελεσμάτων, σύμφωνα με την δοκιμασία ελέγχου για ομοιογενή μεταβλητότητα του Levene και την δοκιμασία Welch για ισότητα μέσων). Οι μικτές μολύνσεις αναλύθηκαν χωριστά και δεν προστέθηκαν στους μεμονωμένους ιούς (που συμμετείχαν στην μικτή ιογενή λοίμωξη). Περαιτέρω, ερευνήσαμε τις σχέσεις όλων των κυτταροκινών

μεταξύ τους χρησιμοποιώντας το συντελεστή συσχέτισης του Spearman. Η συσχέτιση μεταξύ των συμπτωμάτων και της ανίχνευσης του κάθε ιού πραγματοποιήθηκε με μονομεταβλητή ανάλυση. Εξετάστηκαν χωριστά οι λοιμώξεις με τον ιό της γρίπης συνολικά αλλά και ξεχωριστά για τους τύπους AH3N2, AH1N1pdm09, γρίπης Β, με τον ιό RSV και με τον ιό PIV σε σύγκριση με την ανίχνευση άλλων ιών ή την μη ανίχνευση ιών. Η πολυπαραγοντική ανάλυση εξέτασε παράγοντες που σχετίζονταν με πιο σοβαρή ασθένεια και ανάγκη νοσηλείας με τη χρήση λογιστικής παλινδρόμησης. Όλες οι στατιστικές δοκιμασίες ήταν 2-tailed. Η ανάλυση δεδομένων πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα SPSS (έκδοση 25.0, SPSS, Chicago, IL).

15.4 Αποτελέσματα

Εβδομήντα έξι ασθενείς αξιολογήθηκαν με μέση ηλικία 56 ετών (IQR 39-78 έτη). Το 48,7% ήταν γυναίκες. Αναπνευστικός ιός ανιχνεύθηκε σε 60 (78,9%) ασθενείς (Πίνακας 12). Τριάντα τέσσερις (45%) ασθενείς είχαν λοίμωξη από γρίπη (7 μικτές λοιμώξεις με άλλο ιό και ειδικότερα 3 με RSV, 2 με αδενοϊό, 1 με PIV και 1 με ρινοϊό), 13 (17,1%) λοίμωξη με ιό παραγρίπης (1 μικτή λοίμωξη με ιό γρίπης τύπου Α) και 9 (11,8%) είχαν λοίμωξη με RSV (3 μικτή λοίμωξη με ιό γρίπης Β). Συνολικά, 8 (10,5%) ασθενείς είχαν μια μικτή ιογενή λοίμωξη. Όσον αφορά άλλους ιούς, σε 4 (5,3%) ασθενείς ανιχνεύθηκε ανθρώπινος μεταπνευμονοϊός, 4 (5,3%) ασθενείς είχαν ρινοϊό, 2 ασθενείς (2,6%) είχαν λοίμωξη με αδενοϊό και 1 ασθενής λοίμωξη με bocavirus (1,3%).

Οι ασθενείς που διαγνώστηκαν με λοίμωξη από RSV ήταν κατά μέσον όρο μεγαλύτερης ηλικίας από τους ασθενείς που διαγνώστηκαν με οιοδήποτε τύπο γρίπης ή θετικό αποτέλεσμα σε οιαδήποτε άλλη ιογενή λοίμωξη ($p < 0,05$, ANOVA, Πίνακας 13). Οι ασθενείς με θετικό αποτέλεσμα για γρίπη (τόσο με τύπο Α ή τύπο Β) είχαν υψηλότερο πυρετό σε σύγκριση με ασθενείς χωρίς ανίχνευση ιού ή ασθενείς με λοιμώξεις από RSV ή PIV ($p < 0,05$, ANOVA). Οι ασθενείς με θετικό αποτέλεσμα για RSV που χρειάστηκαν νοσηλεία, παρέμειναν περισσότερο στο νοσοκομείο σε σύγκριση που εμφάνισαν λοίμωξη από οιοδήποτε άλλο τύπο ιού ($p \leq 0,01$ για όλες τις συγκρίσεις, ANOVA).

Τα εργαστηριακά δεδομένα καθώς και τα επίπεδα κάθε Th17 κυτταροκίνης ανά συγκεκριμένη ιογενή λοίμωξη για τους ασθενείς της μελέτης απεικονίζονται στον Πίνακα 13. Αυξημένες τιμές CRP σημειώθηκαν για τους περισσότερους από τους ασθενείς που εμφανίστηκαν (Πίνακας 13, φυσιολογικές τιμές κάτω από 6 mg/L). Οι υψηλότερες τιμές CRP παρατηρήθηκαν σε λοιμώξεις με τον ιό Parainfluenza (PIV) που έφθασε στη στατιστική σημαντικότητα σε συγκρίσεις με τα επίπεδα που παρατηρήθηκαν συνολικά σε όλες τις υπόλοιπες ιογενείς λοιμώξεις (περιλαμβανομένων συγκρίσεων έναντι οιαδήποτε τύπου γρίπης, RSV και οιαδήποτε άλλου ιού ($p \leq 0.01$ για όλες τις συσχετίσεις/συγκρίσεις, ANOVA) .

Πίνακας 12. Δημογραφικά στοιχεία του πληθυσμού της μελέτης. Η στατιστική σημαντικότητα για συγκρίσεις μεταξύ ομάδων με θετικά αποτελέσματα και της υπόλοιπης ομάδας της μελέτης επισημαίνεται με έναν αστερίσκο.

Μεταβλητή, n (%)	Οιοσδήποτε ιός, n (%)	Γρίπη σύνολο, n (%)	RSV, n (%)	PIV, n (%)	Μικτή λοίμωξη, (%)
Σύνολο n=76	n=60/76 (78.9)	n=34/76(44.7)	n=9/76 (11.8)	N=13/76 (17.1)	n = 8/76 (10.5)
Ηλικία 18-40 yrs, n=21/76 (27.6)	17/60 (28.3)	10/34 (29.4)	0/9 (0)	3/13 (23.1)	2/8 (25.0)
Ηλικία 41-65 yrs, n=28/76 (36.8)	22/60 (36.7)	14/34 (41.2)	2/9 (22.2)	5/13b (38.5)	2/8 (25.0)
Ηλικία > 65 yrs, n=27/76 (35.5)	21/60 (35.0)	10/34 (29.4)	7/9 (77.8)	5/13 (38.5)	4/8 (50.0)
Γυναικείο φύλο, n=37/76 (48.7)	31/60 (51.7)	18/34 (52.9)	5/9 (55.6)	4/13 (30.8)	4/8 (50)
ΧΑΠ, n=34/76 (44.7)	28/60 (46.7)	15/34 (44.1)	6/9 (66.7)	5/13 (38.5)	4/8 (50.0)
Καρδιαγγειακή νόσος, n =21/76 (27.6)	19/60 (31.7)	11/34 (32.4)	3/9 (33.3)	3/13 (23.1)	4/8 (50.0)
Διαβήτης, n=17/76 (22.4)	14/60 (23.3)	8/34 (23.5)	3/9 (33.3)	2/13 (15.4)	2/8 (25.0)
Κακοήθεια, n=4/76 (5.3)	4/60 (6.7)	1/34 (2.9)	0/9 (0)	2/13 (15.4)	0/8 (0)

Τελικού σταδίου νεφρική ανεπάρκεια, n= 2/76 (2.6)	0/60 (0)*	0/34 (0)	0/9 (0)	0/13 (0)	0/8 (0)
Αλλεργία, n=8 (10.5)	7/60 (11.7)	4/34 (11.8)	2/9 (22.2)	0/13 (0)	1/8 (12.5)
Κάπνισμα, n=36/76 (47.4)	27/60 (45.0)	14/34 (41.2)	6/9 (66.7)	8/13 (61.5)	5/8 (62.5)
Εμβολιασμός έναντι γρίπης, n =25/76 (32.9)	21/60 (35.0)	10/34 (29.4)	5/9 (55.6)	4/13 (30.8)	3/8 (37.5)
Ανάγκη για νοσηλεία, n=37/76 (48.7)	31/60 (51.7)	17/34 (50.0)	8/9 (88.8)*	5/13 (38.5)	5/8 (62.5)
Διάρκεια νοσηλείας σε ημέρες , mean ± SE	5.8 ± 1.4	4.4 ± 1.5	20.1 ± 7.1	3.3 ± 1.3	10 ± 5.6

Πίνακας 13. Τα εργαστηριακά δεδομένα καθώς και τα επίπεδα κάθε Th17 κυτταροκίνης ανά συγκεκριμένη ιογενή λοίμωξη για τους ασθενείς της μελέτης. Η στατιστική σημαντικότητα για συγκρίσεις μεταξύ ομάδων με θετικά αποτελέσματα και της υπόλοιπης ομάδας της μελέτης επισημαίνεται με έναν αστερίσκο

Ιός	Οιοσδήποτε ίος (+), n=60/76 (78.9%)	Γρίπη συνολικά (+) all, n=34/76 (44.7%)	Γρίπη A (+), n=17/76 (22.4%)	A H3N2 (+), n=12/76 (15.8%)	A H1N1 pdm09, n=5/76 (6.6%)	Influenz a B (+), n=17/76 (22.4)	RSV (+), n=9/76 (11.8)	PIV (+), n=13/76 (17.1)	Μικτή (+), n = 8/76 (10.5)	S.pneumoniae, n=6/76 (7.9)
WBC, K/mm³	8.3 ± 0.52	7.2 ± 0.6*	7.4 ± 0.7	7.3 ± 0.9	7.5 ± 0.9	7.1 ± 0.98	9.5 ± 1.3	11.6 ± 1.2*	9.4 ± 1.5	12.4 ± 1.9*
PMNs, K/mm³	6.3 ± 0.48	5.2 ± 0.6*	5.6 ± 0.7	5.6 ± 0.9	5.4 ± 1	4.9 ± 0.9	7.5 ± 1.1	9.3 ± 1.2*	7.5 ± 1.3	10.8 ± 1.9*
LYMPH, K/mm³	1.2 ± 0.08	1.1 ± 0.09	1 ± 0.09	0.9 ± 0.1*	1.2 ± 0.1	1.2 ± 0.2	1.2 ± 0.2	1.2 ± 0.07	1 ± 0.1	0.9 ± 0.1*
MONO, K/mm³	0.7 ± 0.06	0.7 ± 0.06	0.7 ± 0.08	0.7 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.09	0.8 ± 0.2	1 ± 0.02	0.8 ± 0.2	0.8 ± 0.03
CRP, mg/L	59.7 ± 14.1	43.9 ± 12.5	34.4 ± 4.5	37.7 ± 5.5*	27.9 ± 7.4	52.6 ± 23.9	40.5 ± 17.9	157 ± 72.7	34 ± 8	153 ± 47*
GM-CSF, pg/ml	1619.2 ± 167.9	1726.4 ± 234.3	2294.2 ± 322*	2434.7 ± 400*	1956.8 ± 558.1	1158.7 ± 2.87.3	488.2 ± 228.9*	2194.2 ± 323.5*	1739.3 ± 75.8	1154 ± 425.9
IL-1β, pg/ml	64.4 ± 4.8	66.7 ± 6.7	84.2 ± 9.6*	85.8 ± 12*	80.3 ± 16.8	49.1 ± 7.6*	37.3 ± 6.2*	79.5 ± 9.4	71.6 ± 17	60.7 ± 12.6
IL-6, pg/ml	104.6 ± 18.9	122.4 ± 32.3	158.2 ± 60.5	187.8 ± 84.9	87.3 ± 20.4	86.6 ± 21.8	54.9 ± 8.6	106.4 ± 14.2	99.6 ± 17.8	229.3 ± 93.5

IL-17A, pg/ml	86.6 ± 7.3	90.4 ± 10.5	115.4 ± 15*	121.6 ± 18*	100.5 ± 29.2	65.4 ± 12.4	47 ± 10.4* 13.9	109.7 ± 26.1	98.1 ± 26.1	72.8 ± 16.9
IL-17E / IL-25, pg/ml	1664.1 ± 205	1917.5 ± 317.9	2431.9 ± 516.1*	2677.1 ± 678.3*	1843.5 ± 680.4	1403.2 ± 342.6	609.1 ± 107*	1986 ± 332	1959.7 ± 564.8	1707.4 ± 462.3
IL-17F, pg/ml	65.7 ± 6.8	76.8 ± 10.1*	94.8 ± 13.6*	104.8 ± 16*	70.9 ± 25	58.8 ± 13.8	25.9 ± 6.5*	73.6 ± 10.7	78 ± 59.7	77.4 ± 18
IL-21, pg/ml	169.9 ± 12.8	180.1 ± 18.5	229.9 ± 25.6*	242.1 ± 30.3*	200.6 ± 50.7	130.3 ± 21.1*	99.8 ± 15.9*	199.1 ± 23.7	200.3 ± 46.3	152.1 ± 36
IL-22, pg/ml	730.6 ± 67.1	821.8 ± 98.1	1012.9 ± 134.2*	1102.9 ± 160.4*	796.7 ± 241.9	630.7 ± 130.9	321.8 ± 64.3*	844.9 ± 119.5	820.9 ± 219.7	828.9 ± 215.4
IL-23, pg/ml	15576.3 ± 987	16787.6 ± 1743.5	19451.7 ± 2350.6*	20360.9 ± 2893.1*	17269.4 ± 4267.8	14123.6 ± 2475.2	8889 ± 1230.6*	18190. ± 2301	16636.9 ± 3721.5	15220.8 ± 3157

WBC: Λευκά Αιμοσφαίρια, Lymphs: Λεμφοκύτταρα, MONO: Μονοκύτταρα

Η ανίχνευση ιού PIV συσχετίστηκε επιπροσθέτως με υψηλότερους αριθμούς λευκών αιμοσφαιρίων (WBCs) και υψηλότερους αριθμούς πολυμορφοπύρηνων λευκοκυττάρων (PMNs) σε σύγκριση με την ομάδα στην οποία δεν ανιχνεύθηκε ιός, τις ομάδες ανίχνευσης ιού γρίπης A (H3N2), γρίπης A (H1N1) pdm9 και γρίπης B ($p < 0.05$, ANOVA, Πίνακας 13, Γράφημα/Εικόνα 14).

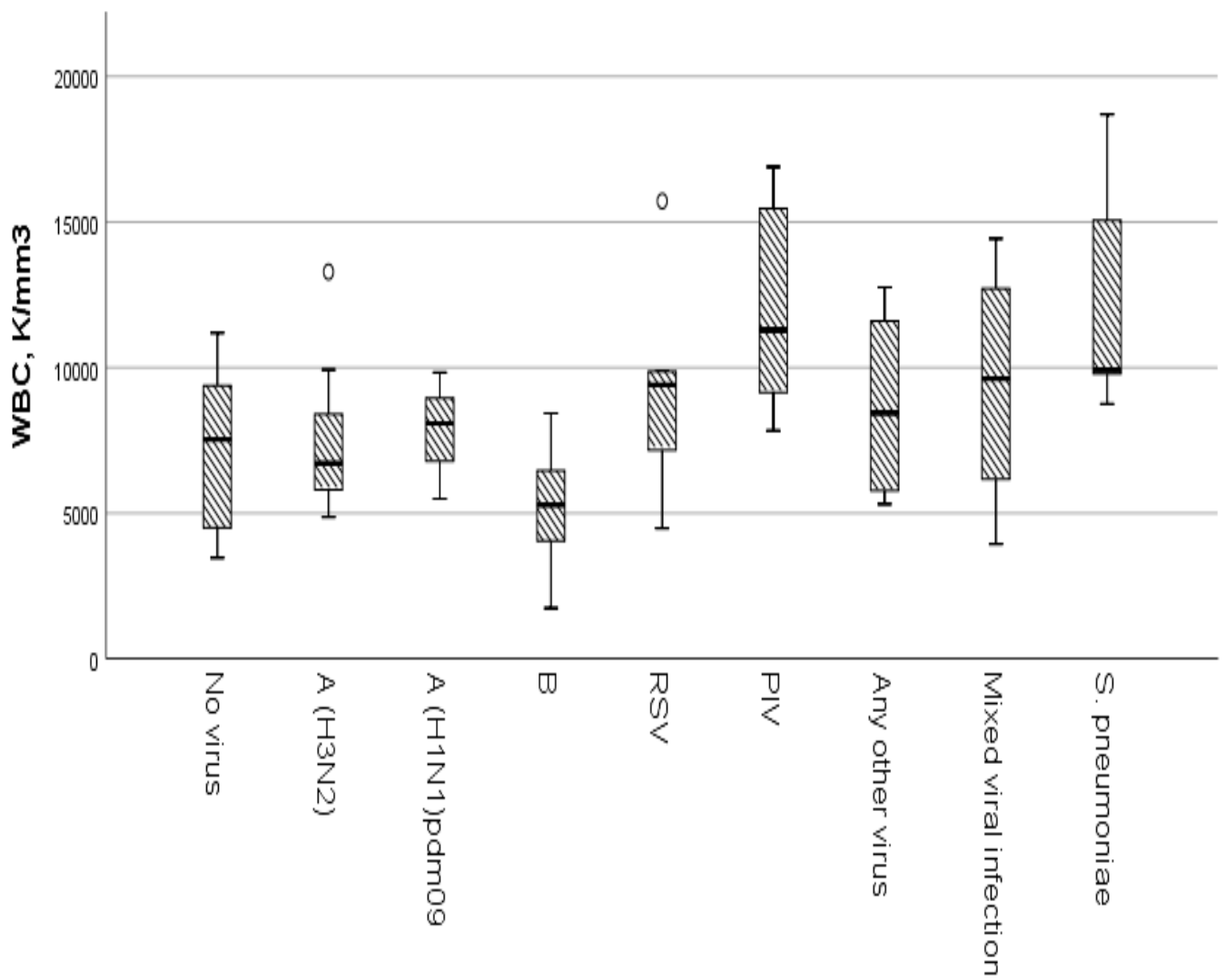
Οιαδήποτε ανίχνευση ιού (Πίνακας 13) ή ανίχνευση γρίπης (συνολικά ως ομάδας) δεν συσχετίστηκε με κυτταροκίνες σχετιζόμενες με την Th17 ανοσιακή απόκριση (Γραφήματα/Εικόνες 14-25). Εξετάζοντας συγκεκριμένους ιούς ξεχωριστά, η γρίπη A (H3N2) είχε υψηλότερα επίπεδα IL-17A, IL-17E / IL-25, IL-17F, IL-21 και IL-22 σε σύγκριση με άτομα με λοίμωξη αναπνευστικού χωρίς όμως ανιχνεύσιμο ιό ($p < 0,05$, ANOVA με χρήση δοκιμασίας post-hoc, γραφήματα/εικόνες 20-24) ενώ τα επίπεδα της IL-23 ($p = 0,09$) πλησίαζαν στατιστική σημαντικότητα (Γράφημα 25). Επιπλέον, η γρίπη A (H3N2) είχε υψηλότερα επίπεδα GMCSF, IL-1b, IL-17A, IL-17E / IL-25, IL-17F, IL-21, IL-22 και IL-23 σε σύγκριση με την λοίμωξη από RSV ή οιαδήποτε άλλη ιογενή λοίμωξη ($p < 0,05$, για όλες τις συσχετίσεις, ANOVA με χρήση δοκιμασίας post-ho, Πίνακας 13, Γραφήματα/εικόνες 17, 20-25). Επιπλέον, η γρίπη A (H3N2) συσχετιζόταν με υψηλότερα επίπεδα αρκετών κυτταροκινών της Th-17 απόκρισης όπως οι κυτταροκίνες IL-17A, IL-17F, IL-21 και IL-22 σε σύγκριση με τη γρίπη τύπου B ($p < 0,05$, για όλες τις συσχετίσεις, ANOVA με χρήση δοκιμασίας post-hoc, Πίνακας 13, Γραφήματα/εικόνες 20, 22-24)

Παρόμοια η ταυτοποίηση ιού PIV συσχετιζόταν με υψηλότερα επίπεδα των GMCSF, IL-1b, IL-17A, IL-22 σε σύγκριση με τις τιμές αυτών των κυτταροκινών σε λοιμώξεις από RSV, γρίπη B και οιαδήποτε άλλη ιογενή λοίμωξη ($p < 0,05$, για όλες τις συσχετίσεις, ANOVA με χρήση δοκιμασίας post-hoc, Πίνακας 13, Γραφήματα / εικόνες 17-18, 20, 24).

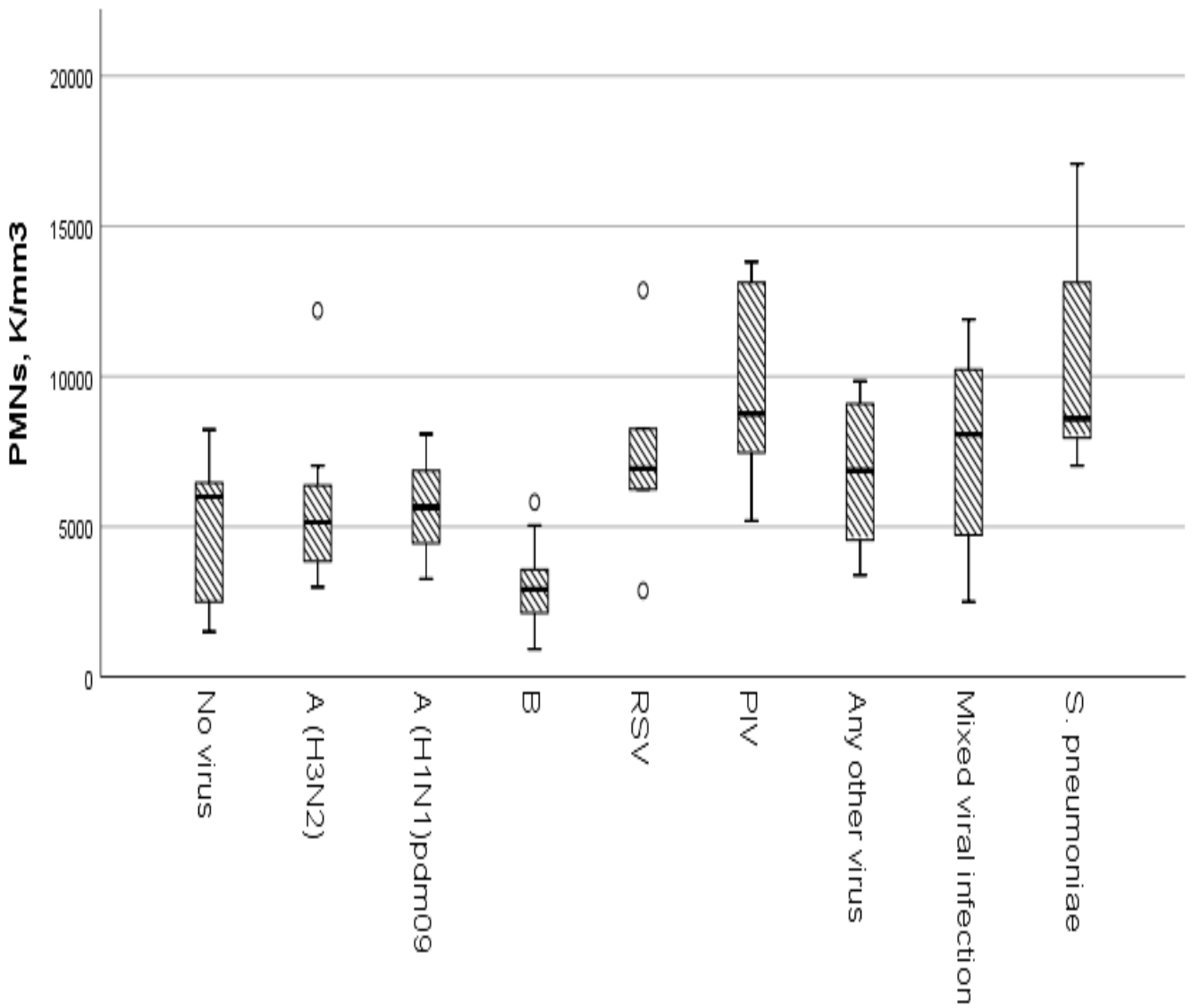
Μεγαλύτερη ηλικία συσχετιζόταν θετικά με τον αριθμό των λευκών και των πολυμορφοπυρήνων (Spearman rho= 0.34 και 0.4 αντίστοιχα, $p < 0.01$), αυξημένη διάρκεια νοσηλείας (Spearman rho= 0.6, $p < 0.001$) και αρνητικά με την εμφάνιση πυρετού, και τα επίπεδα των κυτταροκινών IL-17A και IL-17E/IL-25 (Spearman rho= -0.3, -0.25 και -0.22 αντίστοιχα, $p < 0.01$). Τα επίπεδα της κυτταροκίνης IL-17A συσχετιζόνταν ισχυρά

και θετικά με τα επίπεδα όλων των άλλων κυτταροκινών της Th17 απόκρισης (Spearman rho 0.73-0.95, $p < 0.001$)

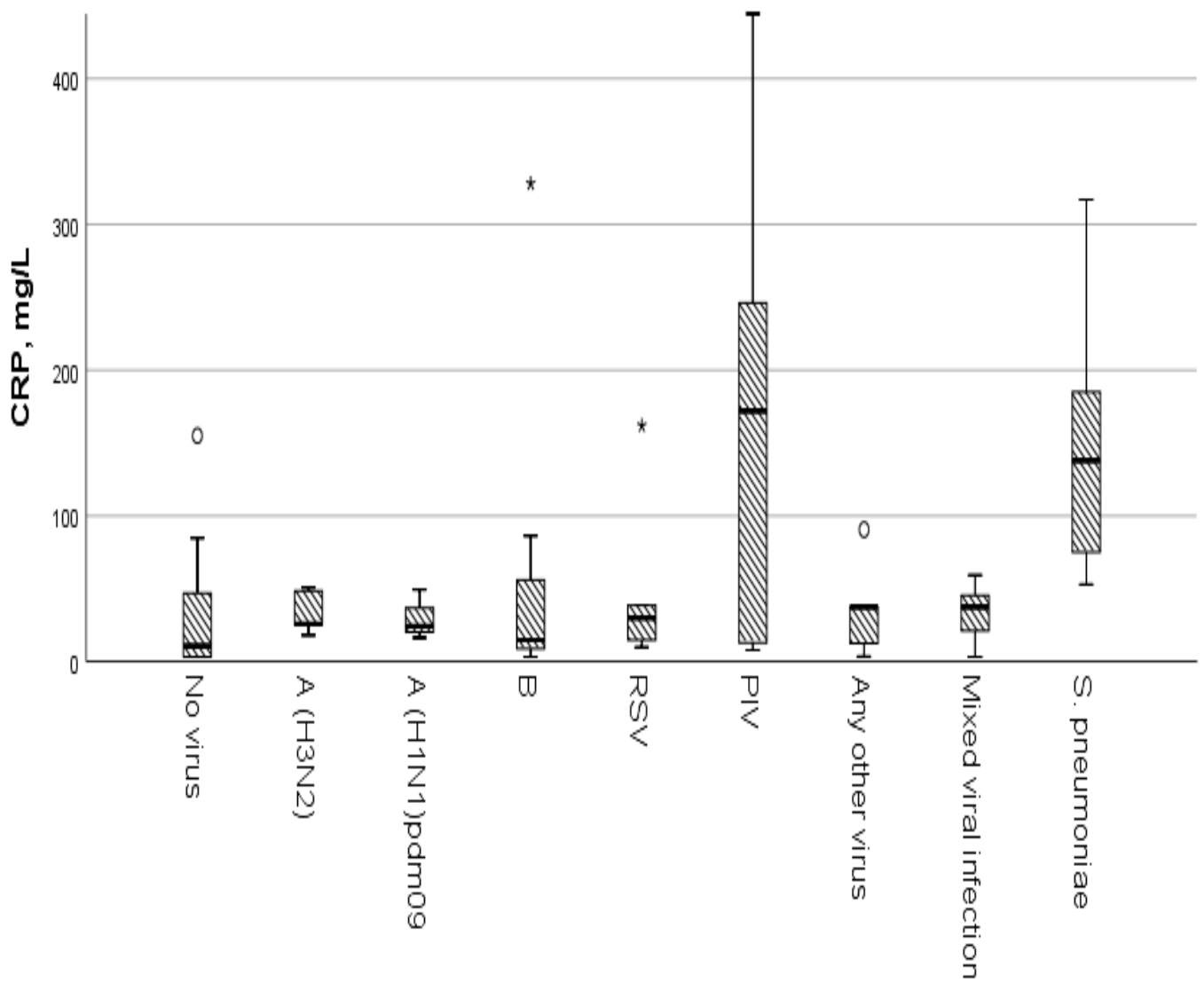
Μοντέλο λογιστικής παλινδρόμησης (Post – hoc model) εφαρμόστηκε για να λάβουν χώρα οι κατάλληλες προσαρμογές (adjustment) για συγχυτικούς παράγοντες που θα μπορούσαν να επηρεάσουν την μεταβλητή έκβασης «ανάγκη για νοσηλεία» όπως η ηλικία, η παρουσία οιασδήποτε συννοσηρότητας (όλες μαζί σαν μία ομάδα), και όρους αλληλεπίδρασης (interaction terms) μεταξύ των παραγόντων /μεταβλητών αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων (WBCs), επίπεδα CRP και επίπεδα IL-17A ανέδειξε την ηλικία (beta-coefficient = 1.11, 95% CI 1.04-1.2, $p < 0.01$) και τα επίπεδα της κυτταροκίνης IL-17A (beta-coefficient = 1.03, 95% CI 1.001-1.05, $p = 0.04$) ως προγνωστικούς παράγοντες της βαρύτητας της νόσου και ανάγκης για νοσοκομειακή νοσηλεία. Το μοντέλο πρόβλεψε σωστά την ανάγκη για νοσηλεία σε 86.1% των ασθενών που την χρειάστηκαν.



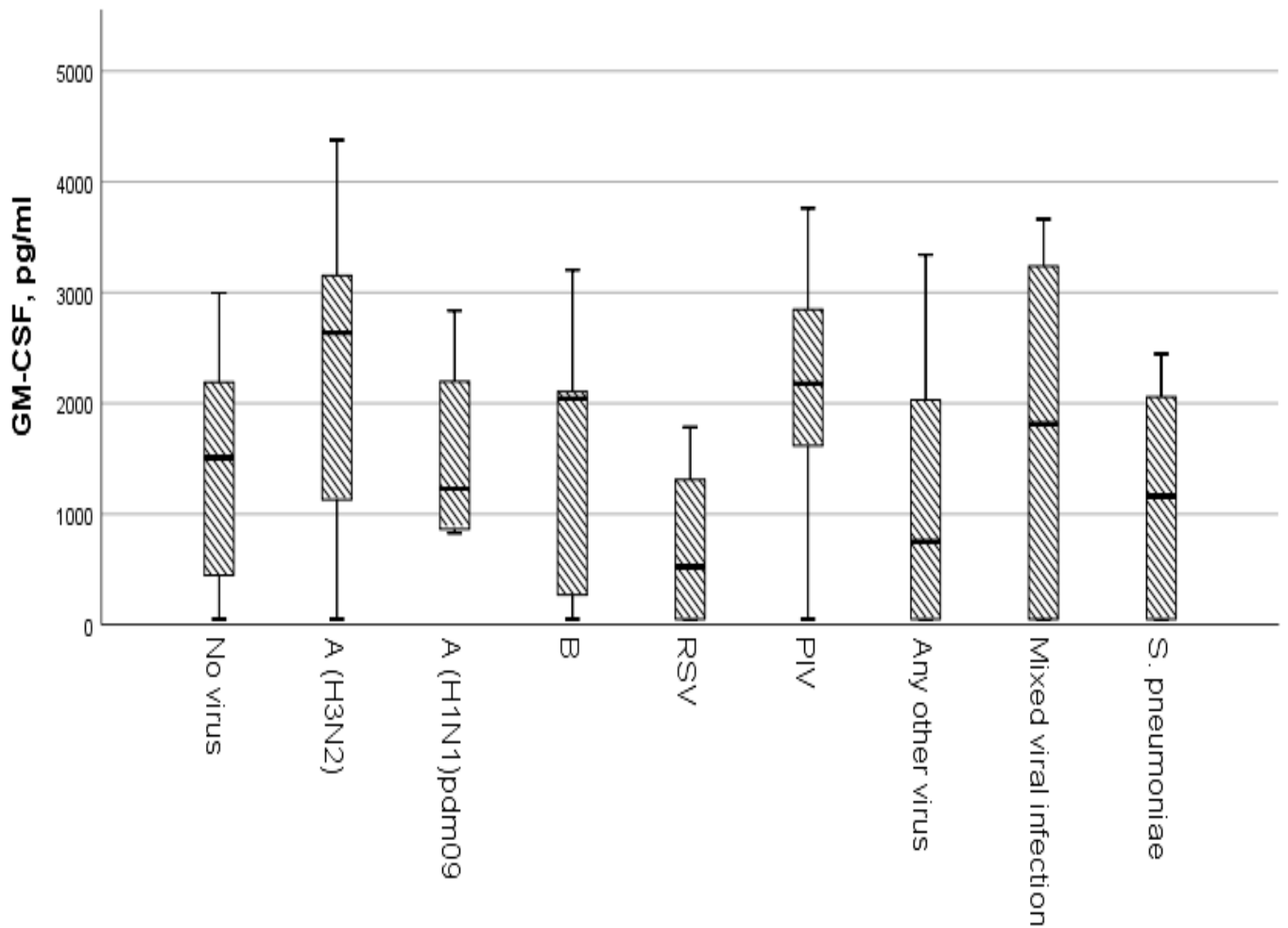
Γράφημα / Εικόνα 14. Μέση τιμή λευκών αιμοσφαιρίων (WBCs) ανά ιογενή λοίμωξη που ταυτοποιήθηκε.



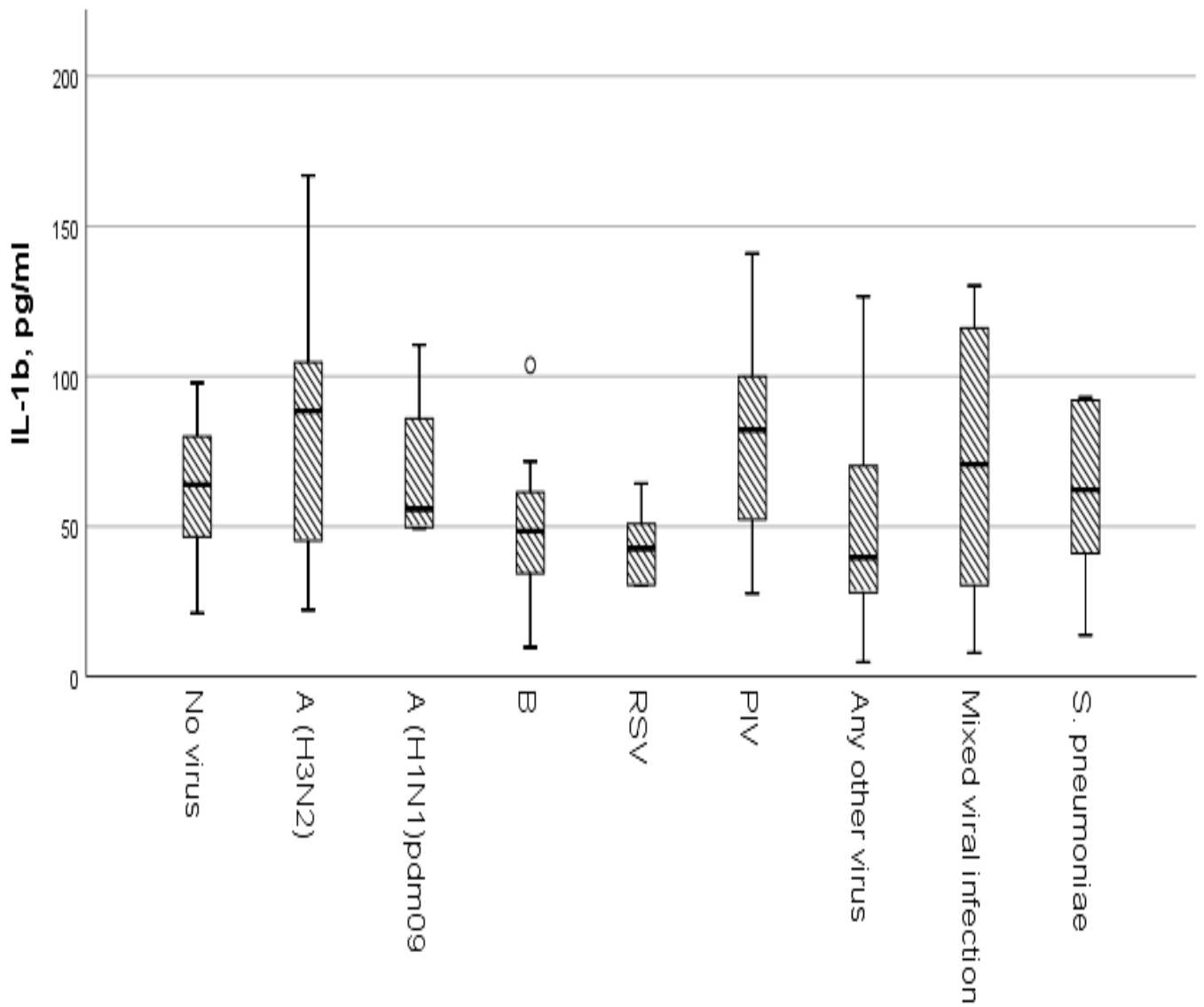
Γράφημα / Εικόνα 15. Μέση τιμή πολυμορφοπυρήνων λευκών αιμοσφαιρίων (PMNs) ανά ιογενή λοίμωξη που ταυτοποιήθηκε. Οι αστερίσκοι (*) και οι κύκλοι αναδεικνύουν τιμές έξω από το εύρος της σταθερής απόκλισης του μέσου ($3 & 2 SE$ of mean αντίστοιχα)



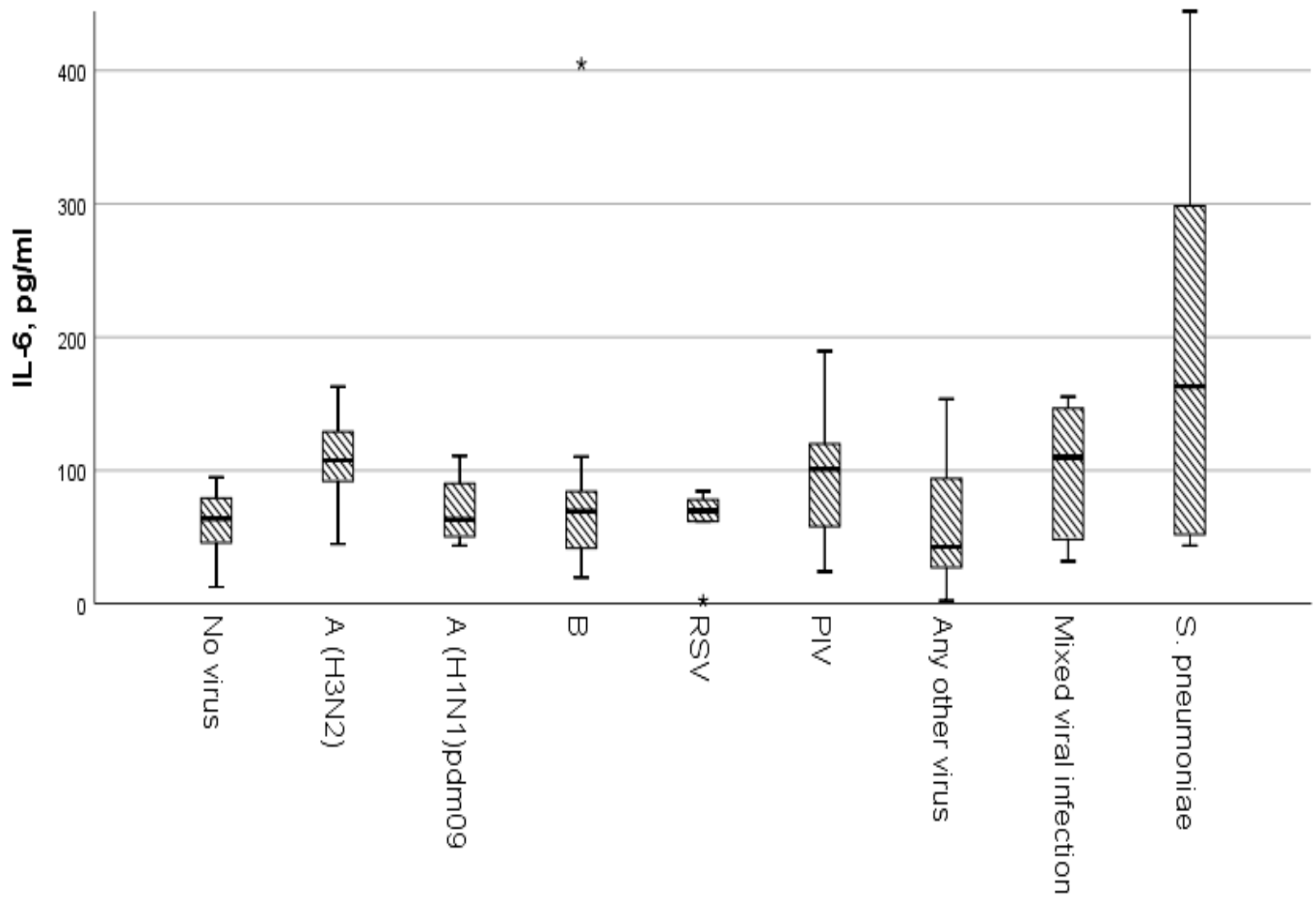
Γράφημα / Εικόνα 16. Μέση τιμή C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) ανά ιογενή λοίμωξη που ταυτοποιήθηκε. Οι αστερίσκοι (*) και οι κύκλοι αναδεικνύουν τιμές έξω από το εύρος της σταθερής απόκλισης του μέσου (3 & 2 SE of mean αντίστοιχα)



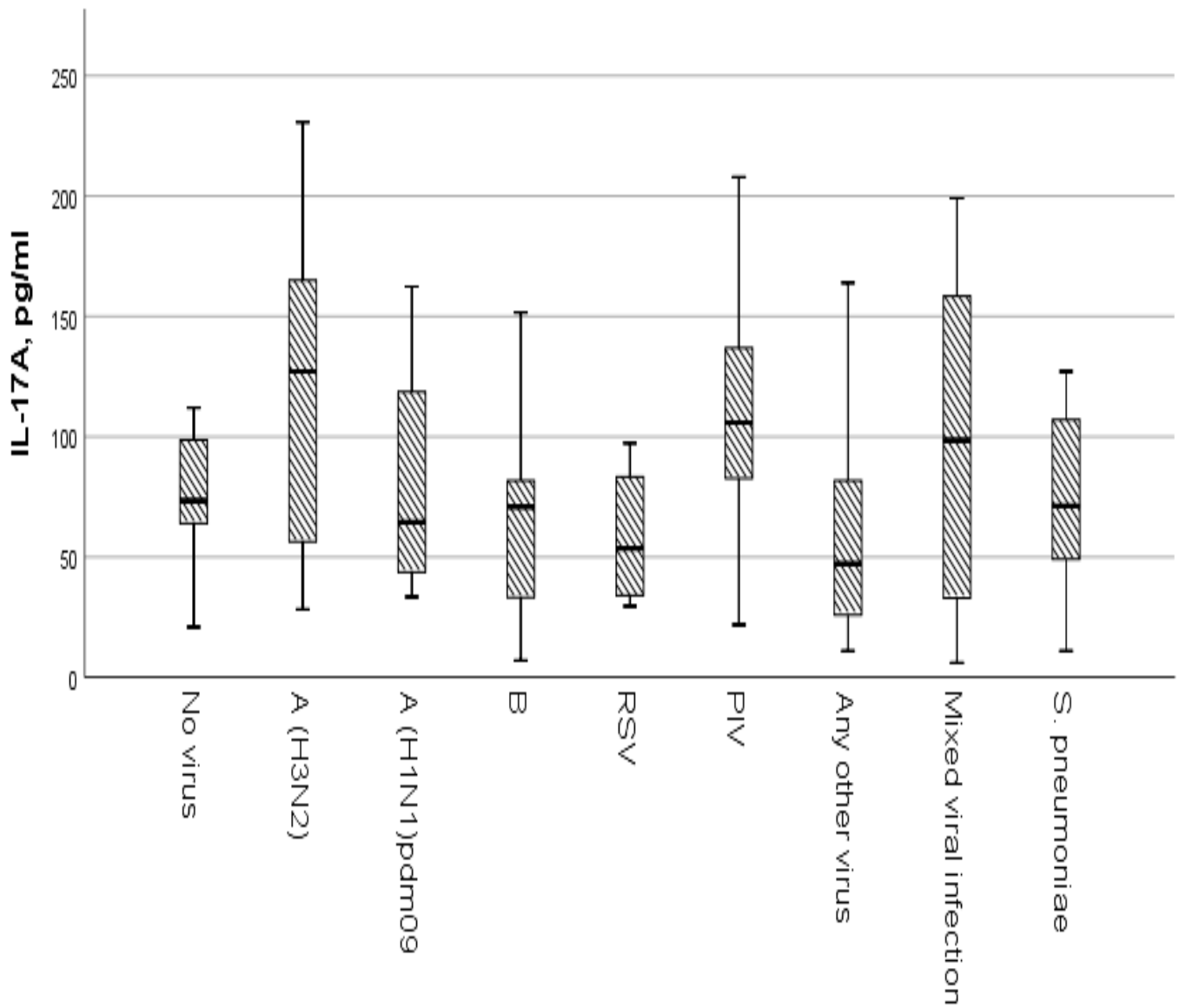
Γράφημα / Εικόνα 17. Μέση τιμή GM-CSF ανά ιογενή λοίμωξη που ταυτοποιήθηκε. Τα επίπεδα κυτταροκίνης μετρήθηκαν σε pg/ml. Οι αστερίσκοι (*) και οι κύκλοι αναδεικνύουν τιμές έξω από το εύρος της σταθερής απόκλισης του μέσου (3 & 2 SE of mean αντίστοιχα).



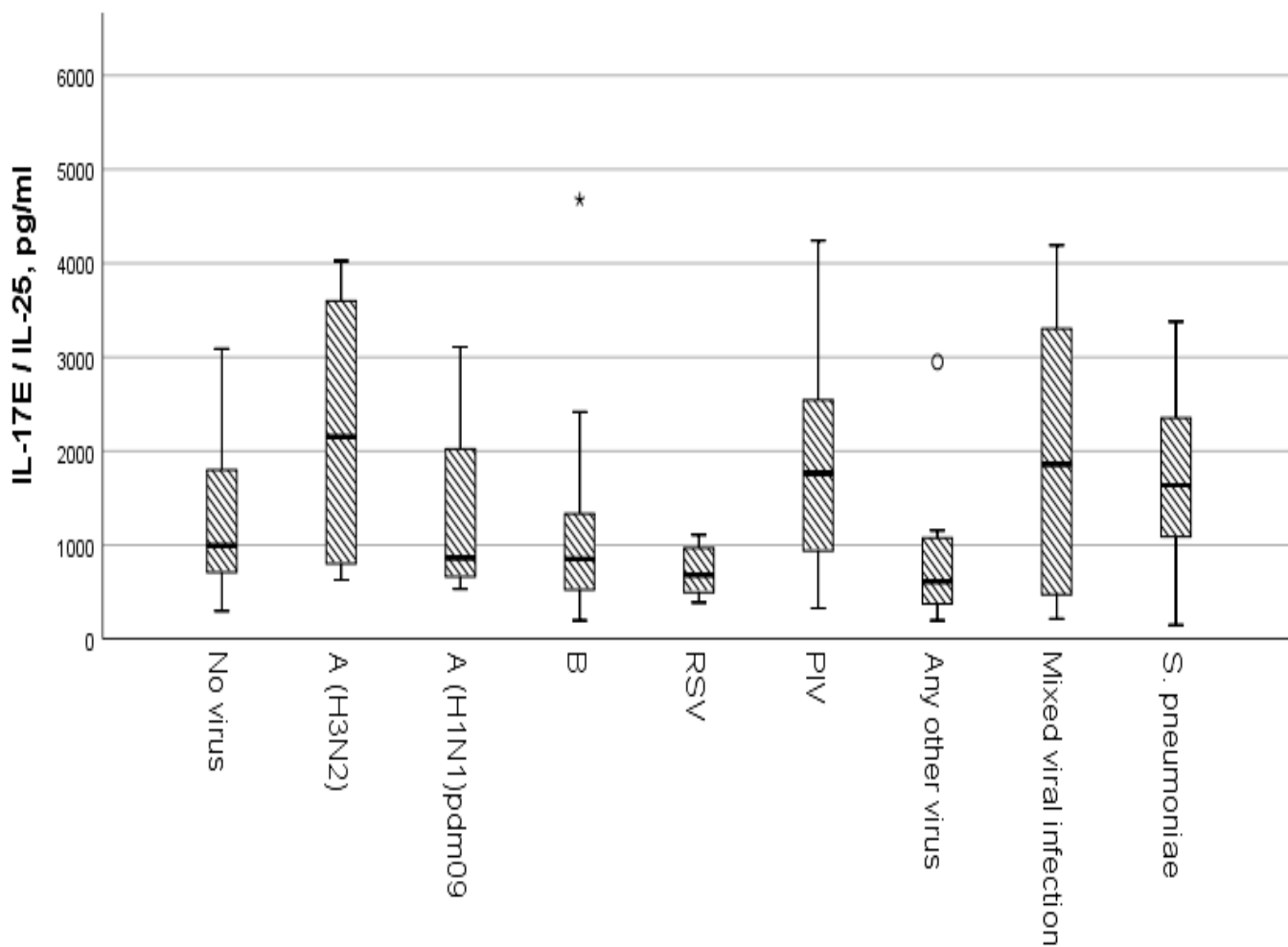
Γράφημα / Εικόνα 18. Μέση τιμή IL-1β ανά ιογενή λοίμωξη που ταυτοποιήθηκε. Τα επίπεδα κυτταροκίνης μετρήθηκαν σε pg/ml. Οι αστερίσκοι (*) και οι κύκλοι αναδεικνύουν τιμές έξω από το εύρος της σταθερής απόκλισης του μέσου (3 & 2 SE of mean αντίστοιχα).



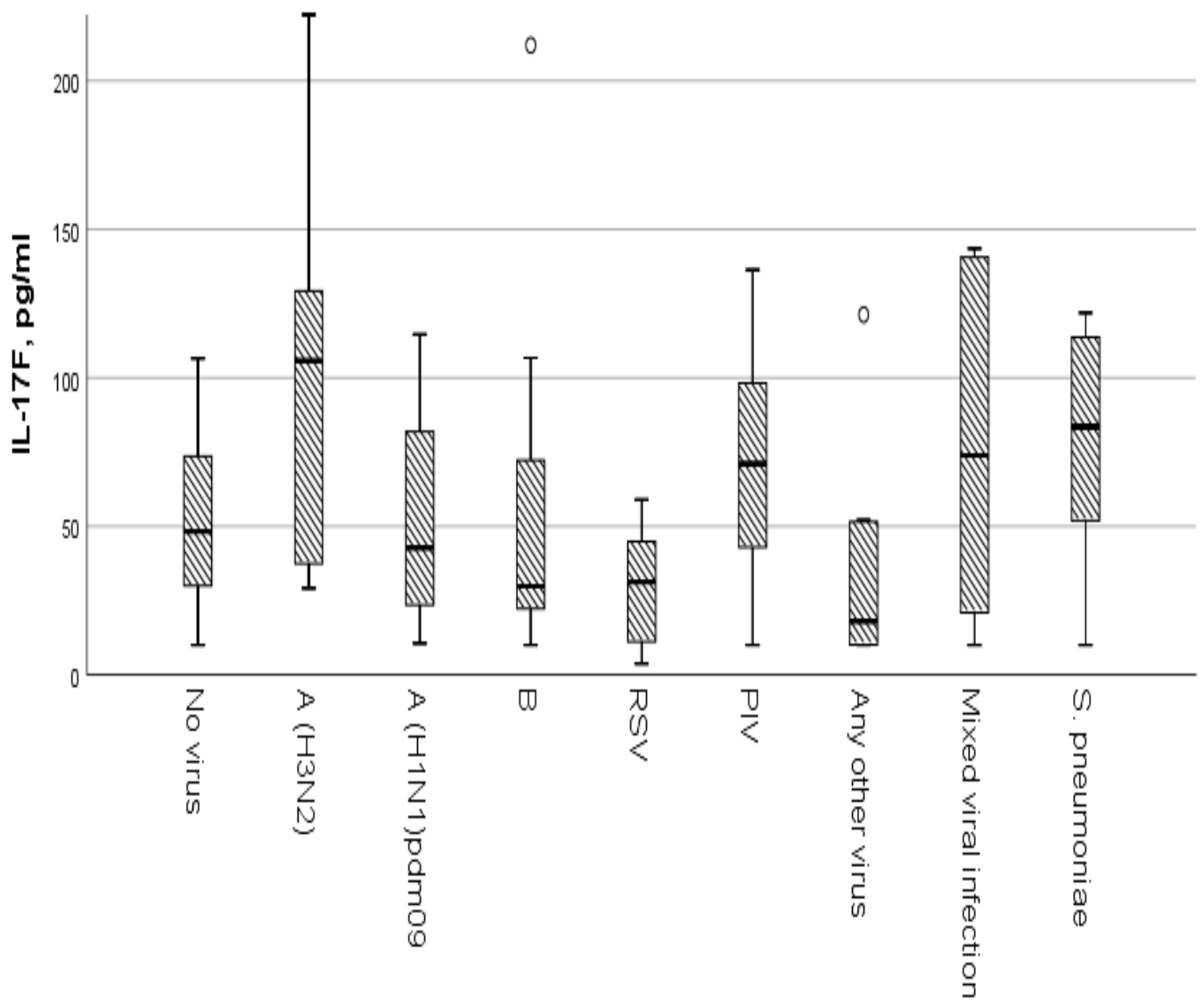
Γράφημα / Εικόνα 19. Μέση τιμή IL-6 ανά ιογενή λοίμωξη που ταυτοποιήθηκε. Τα επίπεδα κοτταροκίνης μετρήθηκαν σε pg/ml. Οι αστερίσκοι (*) και οι κύκλοι αναδεικνύουν τιμές έξω από το εύρος της σταθερής απόκλισης του μέσου (3 & 2 SE of mean αντίστοιχα)



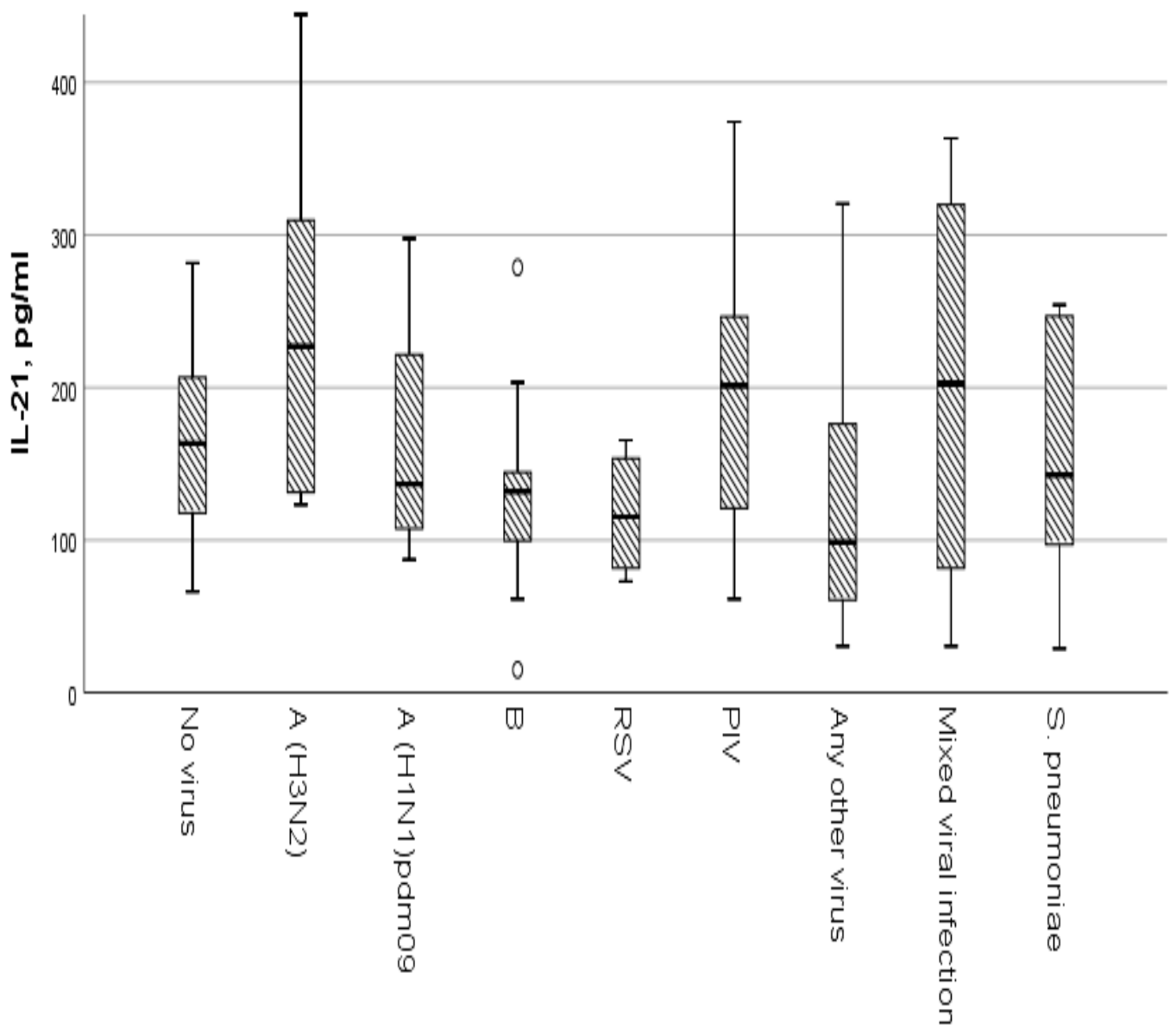
Γράφημα / Εικόνα 20. Μέση τιμή IL-17A ανά ιογενή λοίμωξη που ταυτοποιήθηκε. Τα επίπεδα κυτταροκίνης μετρήθηκαν σε pg/ml. Οι αστερίσκοι (*) και οι κύκλοι αναδεικνύουν τιμές έξω από το εύρος της σταθερής απόκλισης του μέσου (3 & 2 SE of mean αντίστοιχα).



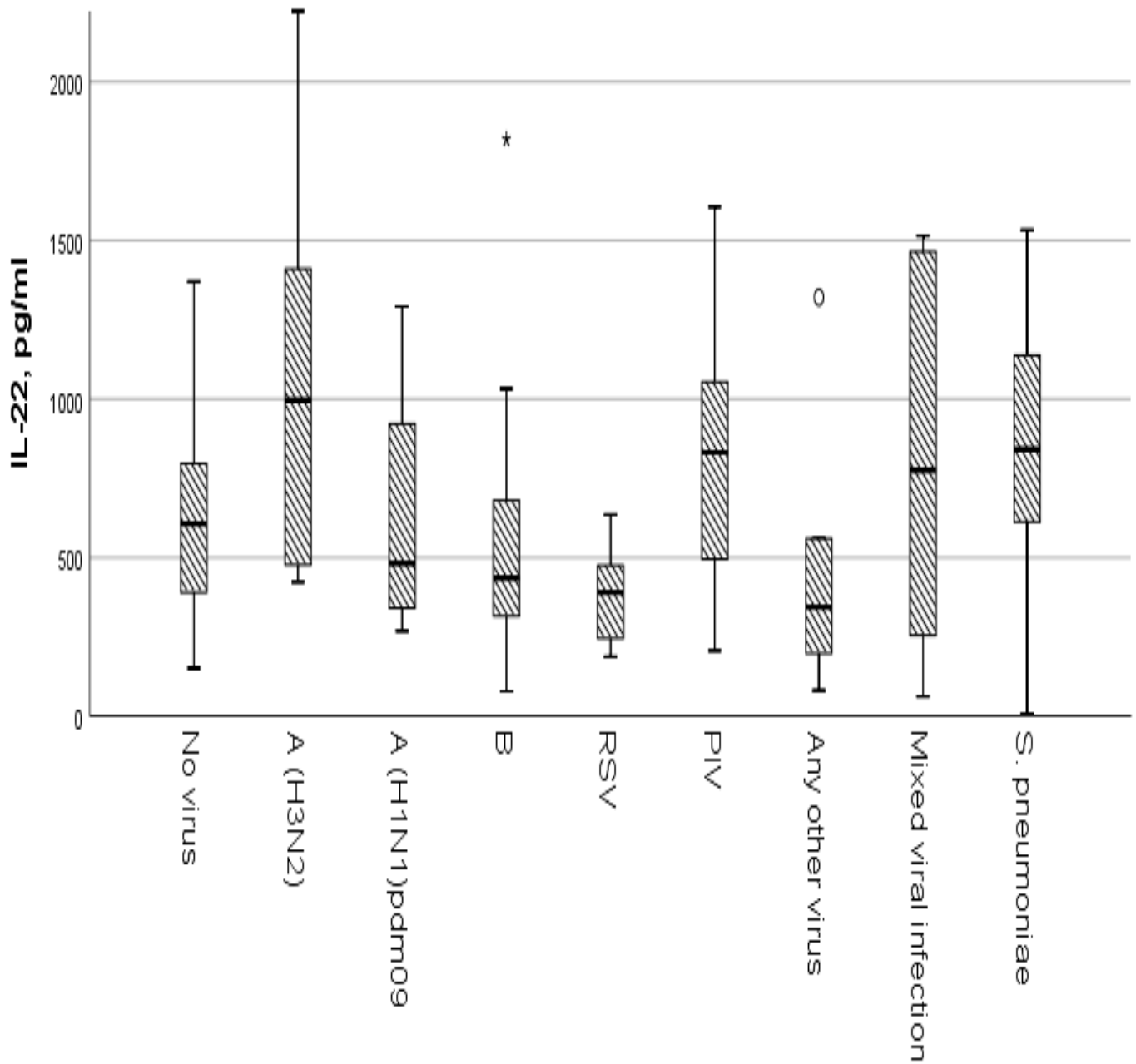
Γράφημα / Εικόνα 21. Μέση τιμή IL-17E/IL-25 ανά ιογενή λοίμωξη που ταυτοποιήθηκε. Τα επίπεδα κυτταροκίνης μετρήθηκαν σε pg/ml. Οι αστερίσκοι (*) και οι κύκλοι αναδεικνύουν τιμές έξω από το εύρος της σταθερής απόκλισης του μέσου (3 & 2 SE of mean αντίστοιχα)



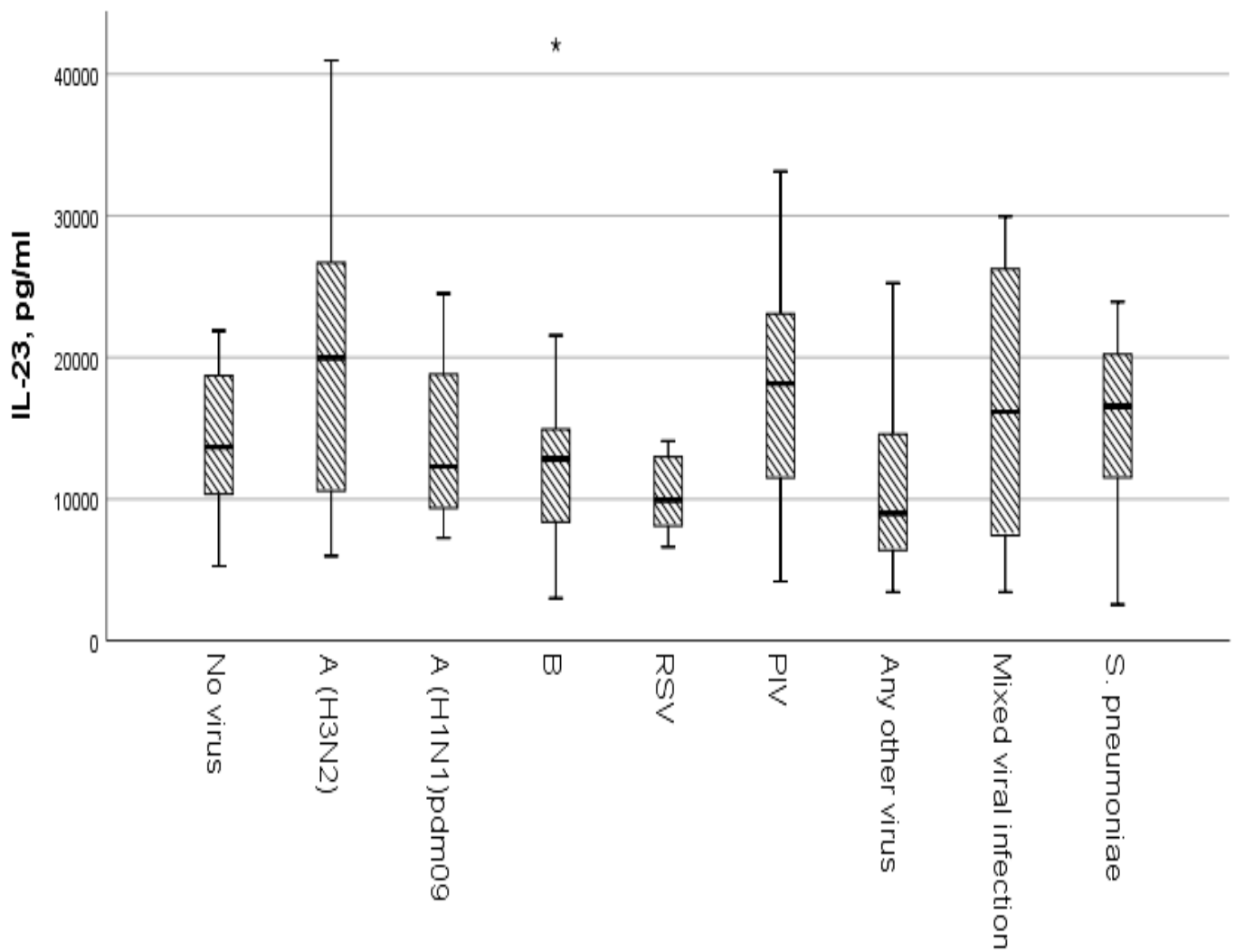
Γράφημα / Εικόνα 22. Μέση τιμή IL-17F ανά ιογενή λοίμωξη που ταυτοποιήθηκε. Τα επίπεδα κυτταροκίνης μετρήθηκαν σε pg/ml. Οι αστερίσκοι (*) και οι κύκλοι αναδεικνύουν τιμές έξω από το εύρος της σταθερής απόκλισης του μέσου (3 & 2 SE of mean αντίστοιχα)



Γράφημα / Εικόνα 23. Μέση τιμή IL-21 ανά ιογενή λοίμωξη που ταυτοποιήθηκε. Τα επίπεδα κυτταροκίνης μετρήθηκαν σε pg/ml. Οι αστερίσκοι (*) και οι κύκλοι αναδεικνύουν τιμές έξω από το εύρος της σταθερής απόκλισης του μέσου (3 & 2 SE of mean αντίστοιχα)



Γράφημα / Εικόνα 24. Μέση τιμή IL-22 ανά ιογενή λοίμωξη που ταυτοποιήθηκε. Τα επίπεδα κυτταροκίνης μετρήθηκαν σε pg/ml. Οι αστερίσκοι και οι κύκλοι αναδεικνύουν τιμές έξω από το εύρος της σταθερής απόκλισης του μέσου (3 & 2 SE of mean αντίστοιχα)



Γράφημα / Εικόνα 25. Μέση τιμή IL-23 ανά ιογενή λοίμωξη που ταυτοποιήθηκε. Τα επίπεδα κυτταροκίνης μετρήθηκαν σε pg/ml. Οι αστερίσκοι και οι κύκλοι αναδεικνύουν τιμές έξω από το εύρος της σταθερής απόκλισης του μέσου (3 & 2 SE of mean αντίστοιχα).

15.5 Συζήτηση-Συμπεράσματα

Αυξημένα επίπεδα κυρίων κυτταροκινών που συμμετέχουν στην Th17 απόκριση ανιχνεύθηκαν σε εργαστηριακά επιβεβαιωμένη γρίπη με τον τύπο A H3N2 σε σύγκριση με άλλους τύπους γρίπης, τον ιό *RSV* και άλλους αναπνευστικούς ιούς στην παρούσα μελέτη. Αυτή η εκσεσημασμένη Th17 απόκριση σε επίπεδο κυτταροκινών μπορεί να εμπλέκεται στην παθογένεση και τον ανοσιακό έλεγχο της οξείας λοίμωξης από τον ιό της γρίπης A H3N2. Παρόμοια ευρήματα για λοίμωξη με τους ιούς PIV είναι ενδεικτικά συμμετοχής του μονοπατιού της Th17 ανοσιακής απόκρισης στον έλεγχο της λοίμωξης από τους ιούς της παρα-ινφλουέντσας.

Δεν είναι σαφές πώς η IL-17 εμπλέκεται στην ανοσολογική απόκριση σε λοιμώξεις από τους ιούς της γρίπης ή τους ιούς της παρα-ινφλουέντσας (PIV).

Ένας σημαντικός ρόλος για την μεσολαβούμενη από την IL-17 φλεγμονή έχει προταθεί για την κάθαρση από μικροβιακά παθογόνα [751]. Αντίθετα μη ελεγχόμενη σηματοδότηση μέσω αυτού του μονοπατιού έχει ενοχοποιηθεί για αυτοάνοσα νοσήματα, ακόμη και με πρόοδο κακοηθειών [751]. Εντός αυτής της οικογένειας κυτταροκινών κάποιες έχουν σαφείς και συγκεκριμένους ρόλους στην ανθρώπινη ανοσιακή απόκριση π.χ. η IL-17F εμπλέκεται σε μηχανισμούς άμυνας που έχουν σχέση με τους βλεννογόνους ενώ η IL-17E (IL-25) ενισχύει τις Th2 ανοσιακές αποκρίσεις [12, 752, 753]. Τα τελευταία έτη πολύ λίγες μελέτες έχουν εξετάσει τον ρόλο της Th17 απόκρισης σε λοιμώξεις από γρίπη σε ανθρώπους [69] και καμία μελέτη (όσο είναι δυνατόν να γνωρίζουμε) σε σχέση με άλλους ιούς που προσβάλλουν το αναπνευστικό σύστημα. Πρόσφατη βιβλιογραφία προτείνει ένα ρόλο της Th17 επίκτητης ανοσίας (adaptive immunity) στην κάθαρση των ιών της γρίπης από το αναπνευστικό σύστημα [90].

Το ανοσιακό σύστημα ασθενών που πάσχουν από γρίπη αποκρίνεται με την απελευθέρωση σειράς προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών [69, 754, 755]. Μεταξύ αυτού του φλεγμονώδους καταρράκτη [756], η IL-6 φαίνεται να διαδραματίζει ένα κύριο ρόλο στην γένεση της κλινικής συμπτωματολογίας και στα τοπικά φλεγμονώδη φαινόμενα [757-760]. Η κλινική σημασία αυτής της κυτταροκίνης έγκειται στην χημειοτακτική της δράση σε ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα και μακροφάγα τα οποία προσελκύει στον τόπο της λοίμωξης [756]. Τα επίπεδα της συσχετίζονται με την ανάπτυξη σοβαρότερης νόσου και άλλα ανεπιθύμητα συμβάντα ανάλογα με την παθογονικότητα του ιού και την υπόλοιπη ανοσιακή απόκριση του ξενιστή. Ο ρόλος της IL-17 σε αυτήν την διαδικασία δεν έχει ξεκαθαριστεί επαρκώς, εν τούτοις η σημασία της αναγνωρίζεται όλο και περισσότερο [12, 90, 92, 761-764].

Κάποιες μελέτες δεν έχουν δείξει θετικές συσχετίσεις με μόνο ήπια αύξηση των επιπέδων της [760]. Δύο μελέτες ασθενών με σοβαρή νόσο από το πανδημικό στέλεχος της γρίπης ανέδειξαν υψηλότερα επίπεδα IL-17A σε ηπιότερα περιστατικά ένα εύρημα συμβατό με αυξημένη κάθαρση του ιού (viral clearance) [92, 763]. Σε μία μελέτη ανευρέθηκε εκσεσημασμένη καταστολή της επίκτητης (adaptive) Th1/Th17 ανοσίας έναντι της A(HN1)rdm09 γρίπης συγκριτικά με την εποχική γρίπη A και B. [69].

Σε άλλη μελέτη παιδιατρικών λοιμώξεων με το νέο πανδημικό στέλεχος A H1N1 rdm09, παρατηρήθηκαν υψηλότερα επίπεδα IFN-α και IL-6 σε αυτούς τους ασθενείς σε σύγκριση με μάρτυρες με πνευμονία που αποδόθηκε σε άλλες αιτίες. Επιπλέον, υψηλότερη IL-6 συσχετίστηκε με την βαρύτητα της νόσου [765]. Ωστόσο σε αυτήν την μελέτη τα επίπεδα IFN-γ και IL-17 δεν διέφεραν μεταξύ ασθενών με ήπια και σοβαρότερη μορφή της νόσου [765].

Σε άλλη ερευνητική προσπάθεια που εξέτασε 72 ασθενείς και συνέκρινε επίπεδα κυτταροκινών σε γρίπη τύπου Α έναντι γρίπης τύπου Β, τα επίπεδα IL-17Α (η κύρια κυτταροκίνη της Th17 απόκρισης) μαζί με τα επίπεδα IL-6 ήταν σημαντικά υψηλότερα στην γρίπη τύπου Β [766].

Μία αύξηση της IL-17 σε ασθενείς που έπασχαν από διάχυτη κυψελιδική βλάβη παρατηρήθηκε σε μία πειραματική μελέτη που εξέτασε την ιστική παθολογία στον πνεύμονα ασθενών που πέθαναν από λοίμωξη με το πανδημικό στέλεχος Α (H1N1) [767].

Σε αντίστοιχη εργασία που εξέτασε ασθενείς πάσχοντες από το πρόσφατο πανδημικό στέλεχος στο Πεκίνο της Κίνας, ανευρέθηκαν αυξημένα επίπεδα IL-17, μεσολαβητών της Th17 απάντησης και κυτταροκινών που ανταποκρίνονται στην σηματοδότηση της IL-17. Οι ίδιοι συγγραφείς πραγματοποίησαν πειράματα σε ποντίκια με το πανδημικό στέλεχος Α H1N1pdm09 τα οποία ανέδειξαν ηπιότερη νόσο σε ζώα με έλλειψη IL-17 ή ζώα στα οποία χορηγήθηκαν αναστολείς της IL-17 [91].

Από την άλλη πλευρά, η προς τα κάτω ρύθμιση των αποκρίσεων των T-κυττάρων σε σοβαρή γρίπη μπορεί να οδηγήσει σε λειτουργική βλάβη της Th17 απόκρισης, καθυστέρηση στην ιική κάθαρση, παρατεταμένη προφλεγμονώδη αντίδραση και περαιτέρω δυσλειτουργία της επίκτητης (adaptive) ανοσίας. Διάφοροι παράγοντες επηρεάζουν αυτή την αλληλεπίδραση, όπως η παθογονικότητα του εμπλεκόμενου στελέχους του ιού και παράγοντες του ξενιστή [69].

Όσον αφορά τις παρατηρήσεις μας για τον RSV, περιορισμένη βιβλιογραφία υποδηλώνει ένα ρόλο για τις Th17 κυτταροκίνες στην παθογονικότητα του RSV [228, 768-771].

Σε μία μελέτη με βρέφη τα επίπεδα IL-17A και IL-23 συσχετίστηκαν με μείωση των κλινικών συμπτωμάτων της αναπνευστικής δυσχέρειας [772]. Χαμηλότερα επίπεδα των κυτταροκινών της Th17 απόκρισης σε ασθενείς με RSV νόσο στην δική μας μελέτη, ίσως συνέβαλλαν σε μια αδυναμία του ανοσιακού συστήματος να ελέγξει κατάλληλα την απόκριση του ξενιστή στον ιό, με αποτέλεσμα την σοβαρότερη εικόνα της νόσου και έναν πιο άρρωστο πληθυσμό που είχε ανάγκη νοσηλείας για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

Τα πλεονεκτήματα της μελέτης μας περιλαμβάνουν: α) την πραγματοποίηση για πρώτη φορά στην βιβλιογραφία μιας συγκριτικής μελέτης της Th17 απόκρισης σε επίπεδο κυτταροκινών σε ένα ευρύ φάσμα ιογενών λοιμώξεων του αναπνευστικού, και β) την ανίχνευση μιας σαφούς συσχέτισεως μεταξύ κυτταροκινών αυτής της οικογένειας με λοιμώξεις από γρίπη και PIV. Τα ευρήματα από τη μελέτη μας μπορούν να βοηθήσουν στην ανάπτυξη και δοκιμή υποθέσεων σχετικά με τη χρήση αυτής της οικογένειας κυτταροκινών ως θεραπευτικού στόχου σε λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος από γρίπη ή PIV ή σχετικά με τη χρήση των επιπέδων αυτών των κυτταροκινών ως βιοδείκτη (biomarker) συσχετιζόμενου με την βαρύτητα της νόσου σε ορισμένες ιογενείς λοιμώξεις του ανωτέρου αναπνευστικού όπως η γρίπη A H3N2.

Ένας σημαντικός περιορισμός της μελέτης μας είναι η πιλοτική της φύση και ο μικρός αριθμός παρατηρήσεων. Για παράδειγμα, δεν μπορούσαμε να επιβεβαιώσουμε, όπως φάνηκε από άλλους, μια ισχυρότερη - σε σύγκριση με άλλους ιούς - φλεγμονώδη απόκριση στη μόλυνση με τον ιό γρίπης A (H1N1) pdm09 ίσως λόγω περιορισμένου αριθμού παρατηρήσεων σε ασθενείς που επλήγησαν από τον πανδημικό ιό. Επιπλέον, δεν μελετήσαμε τη δυναμική εξέλιξη αυτών των δεικτών κατά τη διάρκεια της ιογενούς λοίμωξης. Έτσι η μελέτη μας αντικατοπτρίζει ένα στιγμιότυπο της ανοσιακής απόκρισης σε ασθενείς που κατά τεκμήριο είχαν ήπια έως μέτρια σοβαρή νόσο που

τους οδήγησε στα ΤΕΠ ενός τριτοβάθμιου νοσοκομείου. Είναι πιθανό να χάσαμε ασθενείς με ήπιες εικόνες που απομάκρυναν γρήγορα τον ιό από τον οργανισμό τους (όπως μερικοί από τους ασθενείς χωρίς ανίχνευση ιού στη μελέτη μας), χάνοντας έτσι το πλήρες φάσμα της Th17 απόκρισης στις ιογενείς λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος. Επιπλέον, παρόλο που καταγράψαμε προσεκτικά και αναλύσαμε δεδομένα σχετικά με μεταβλητές που ενδέχεται να επηρεάσουν δυσμενώς μια αποτελεσματική ανοσιακή απόκριση (π.χ. συννοσηρότητες), δεν μπορούμε να αποκλείσουμε την παρουσία άλλων άγνωστων παραγόντων που δεν καταγράψαμε και θα μπορούσαν να επηρεάσουν τις μελετηθείσες συσχετίσεις (residual confounding).

Συμπερασματικά, περιγράψαμε, σε μια πιλοτική μελέτη, τις συσχετίσεις επιπέδων κυτταροκινών της οικογένειας της IL-17 με συγκεκριμένες ιογενείς λοιμώξεις του αναπνευστικού που τεκμηριώθηκαν με μοριακή μέθοδο. Η μελλοντική επαλήθευση των αποτελεσμάτων της μελέτης μας, καθώς και η περαιτέρω εκμετάλλευση αυτού του μονοπατιού κυτταροκινών για διαγνωστικούς, θεραπευτικούς και προγνωστικούς σκοπούς μπορεί να βοηθήσει σε μεγάλο βαθμό στην διαχείριση των κοινών αλλά δυνητικά σοβαρών ιογενών λοιμώξεων του αναπνευστικού.

16. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην πρώτη επιδημιολογική μελέτη 604 ασθενών που επισκέφθηκαν τα ΤΕΠ μεγάλου τριτοβάθμιου νοσοκομείου ταυτοποιήσαμε με μοριακές μεθόδους τα αίτια ιογενών λοιμώξεων του αναπνευστικού και εξετάσαμε κλινικο-επιδημιολογικές συσχετίσεις. Η μελέτη επικεντρώθηκε στις μικτές ιογενείς λοιμώξεις του αναπνευστικού για τις οποίες λίγα στοιχεία είναι δημοσιευμένα στην βιβλιογραφία. Ένας σημαντικός αριθμός μικτών ιογενών αναπνευστικών λοιμώξεων παρατηρήθηκε στην τρέχουσα μελέτη που αξιολόγησε τόσο τους ενήλικες όσο και τα παιδιά. Οι περισσότερες μικτές λοιμώξεις που παρατηρήθηκαν ήταν συλλοιμώξεις από τους ιούς RSV και γρίπης. Οι μικτές ιογενείς λοιμώξεις συσχετίζονταν με νεαρή ηλικία και αυξημένα ποσοστά πυρετού, αλλά δεν συνδέονταν με αυξημένα ποσοστά νοσηλείας. Δεν μπορέσαμε να συσχετίσουμε σε στατιστικά σημαντικό βαθμό την παρουσία μικτών ιογενών λοιμώξεων με υποκείμενες συν-νοσηρότητες. Ωστόσο, οι μικτές ιογενείς λοιμώξεις φάνηκε να εμφανίζονται συχνότερα από τις μεμονωμένες ιογενείς λοιμώξεις σε ασθενείς με σοβαρά υποκείμενα νοσήματα όπως ασθενείς με ΧΑΠ και ασθενείς με καρδιαγγειακή νόσο.

Σε δεύτερη πιλοτική μελέτη με 76 ασθενείς περιγράψαμε, τις συσχετίσεις επιπέδων κυτταροκινών της οικογένειας της IL-17 με συγκεκριμένες ιογενείς λοιμώξεις του αναπνευστικού που τεκμηριώθηκαν με μοριακή μέθοδο. Αυξημένα επίπεδα κυρίων κυτταροκινών που συμμετέχουν στην Th17 απόκριση ανιχνεύθηκαν σε εργαστηριακά επιβεβαιωμένη γρίπη με τον τύπο A H3N2 σε σύγκριση με άλλους τύπους γρίπης, τον ιό RSV και άλλους αναπνευστικούς ιούς στην παρούσα μελέτη. Αυτή η εκσεσημασμένη Th17 απόκριση σε επίπεδο κυτταροκινών μπορεί να εμπλέκεται στην παθογένεση και τον ανοσιακό έλεγχο της οξείας λοίμωξης από τον ιό της γρίπης A H3N2. Παρόμοια ευρήματα για λοίμωξη με τους ιούς PIV είναι

ενδεικτικά συμμετοχής του μονοπατιού της Th17 ανοσιακής απόκρισης στον έλεγχο της λοίμωξης από τους ιούς της παρα-ινφλουέντσας. Μελλοντική εκμετάλλευση αυτού του μονοπατιού κυτταροκινών για διαγνωστικούς, θεραπευτικούς και προγνωστικούς σκοπούς μπορεί να βοηθήσει σε μεγάλο βαθμό στην διαχείριση των κοινών αλλά δυνητικά σοβαρών ιογενών λοιμώξεων του αναπνευστικού και είναι απαραίτητη.

17. ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ ΣΤΗΝ ΑΓΓΛΙΚΗ (SHORT SUMMARIES IN ENGLISH)

17.1 Short overall summary

In a first epidemiological study of 604 patients who visited a Tertiary Hospital ER, we identified the causes of viral respiratory infections by molecular methods and examined clinical-epidemiological correlations. The study focused on mixed viral respiratory infections, for which little evidence is published in the literature. A significant number of respiratory infections with mixed viral infection were observed in the current study that evaluated both adults and children. Most of the mixed infections observed were co-infections with RSV and influenza viruses.

Mixed viral infections were associated with younger age and increased rates of fever but were not associated with increased rates of hospitalization. We could not statistically associate the presence of mixed viral infections with underlying co-morbidities. However, mixed viral infections appeared to be more common than individual viral infections in patients with severe underlying diseases such as COPD patients and patients with cardiovascular disease.

In a second pilot study of 76 patients, we described the correlations of levels of cytokines belonging to the IL-17 family of cytokine levels with specific viral respiratory infections documented by a molecular method. Elevated levels of major cytokines participating in the Th17 response were detected in laboratory confirmed type A H3N2 influenza compared to other types of influenza, RSV virus and other respiratory viruses in this study.

This marked Th17 response at the cytokine level may be involved in the pathogenesis and immune control of acute influenza A H3N2 infection. Similar findings for infection with PIV viruses are indicative of involvement of the Th17 immune response pathway in the control of parainfluenza virus infection. Future

exploitation of this cytokine pathway for diagnostic, therapeutic and prognostic purposes is essential and can greatly assist in the management of common but potentially serious viral respiratory infections.

17.2 Abstract of 1st study

Title: “*Mixed Viral Infections of the Respiratory Tract; an Epidemiological Study During Consecutive Winter Seasons*”

Introduction

The current study aimed to describe the molecular epidemiology of mixed respiratory viral infections during consecutive winter seasons in a tertiary care hospital.

Methods

Patients with symptoms of respiratory tract infection were evaluated during the 2009-2011 and 2013-15 winter seasons. A clinical microarray technique was used for viral detection. Clinical and epidemiological data were correlated with mixed viral detection and the need for hospitalization.

Results

In 332 out of 604 (54.4%) evaluated patients (17.6% children) a respiratory virus was identified. Mixed viral infections were diagnosed in 68/332 (20.5%) patients with virus detection (66.2% mixed *Influenza-RSV* infections). Mixed viral infections were more commonly detected in children (OR 3.7; 95% CI 1.9-5.6, $p < 0.01$) and patients with comorbidities. In logistic regression analyses, mixed viral infections were associated with younger age (mean age 30.4 years vs. 41.8 years, $p \leq 0.001$) and increased rates of fever (OR: 2.7; 95% CI 1.04-7.2, $p < 0.05$) but no adverse outcomes or increased rates of hospitalization.

Conclusions

High rates of mixed viral infections were noted during all winter seasons (especially *Influenza* and *RSV*) and were more common in younger patients. The clinical significance of mixed respiratory viral infection needs further elucidation.

17.3 Abstract of 2nd study

Title: *“Th17 Serum Cytokines in Relation to Laboratory Confirmed Respiratory Viral Infection; a pilot study”*

Background

Th17 cytokines are associated with modulation of inflammation and may be beneficial in clearing influenza infection in experimental models. The Th17 cytokine profile was evaluated in a pilot study of respiratory virus infections.

Methods

Consecutive patients with symptoms of respiratory tract infection visiting the ER of a tertiary care hospital during the winter influenza season of 2014-15 were evaluated. CLART® PneumoVir kit, (Genomica, Spain) was used for viral detection of all known respiratory viruses. Th17 cytokine profile was evaluated with the MILLIPLEX® MAP Human TH17 Magnetic Bead Panel. Correlation of the TH17 profile with viral detection was performed with univariate and multivariate analysis.

Results

Seventy-six patients were evaluated (median age 56 yrs, 51.3% female); a respiratory virus was identified in 60 (78.9%) pts; 45% had confirmed influenza. Influenza A H3N2 correlated with higher levels of GM-CSF, Interleukin 1-beta, IL-17A, IL-17E, IL-17F, IL-21, IL-22 and IL-23 (p<0.05 by ANOVA) compared to RSV. Parainfluenza virus (PIV) similarly had higher levels of GMCSF, IL-1b, IL-17A, IL-22 compared to those detected in RSV, influenza B and any other virus infection (p<0.05, ANOVA). Increasing age (beta-coefficient = 1.11, 95% CI 1.04-1.2, P< 0.01) as well as IL-17A

levels (beta-coefficient = 1.03, 95% CI 1.001-1.05, p = 0.04) predicted hospital admission.

Conclusion

Main Th17 cell effector cytokines were upregulated in laboratory confirmed A (H3N2) influenza and PIV. Excessive amounts of Th17 cytokines may be implicated in the pathogenesis and immune control of acute influenza and PIV infection in humans and may predict severity of disease.

18. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Honkinen M, Lahti E, Osterback R, Ruuskanen O, Waris M: **Viruses and bacteria in sputum samples of children with community-acquired pneumonia.** *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2012, **18**(3):300-307.
2. Ruuskanen O, Lahti E, Jennings LC, Murdoch DR: **Viral pneumonia.** *Lancet* 2011, **377**(9773):1264-1275.
3. McClain MT, Henao R, Williams J, Nicholson B, Veldman T, Hudson L, Tsalik EL, Lambkin-Williams R, Gilbert A, Mann A *et al*: **Differential evolution of peripheral cytokine levels in symptomatic and asymptomatic responses to experimental influenza virus challenge.** *Clinical and experimental immunology* 2016, **183**(3):441-451.
4. Braciale TJ, Sun J, Kim TS: **Regulating the adaptive immune response to respiratory virus infection.** *Nature reviews Immunology* 2012, **12**(4):295-305.
5. **Horst Ibelgaufts. Cytokines in Cytokines & Cells Online Pathfinder Encyclopedia Version 31.4 (Spring/Summer 2013 Edition).**
6. **Konstantinides PI, Dourakis SP. The role of cytokines in chronic hepatitis C.** *Arch Hellen Med*, **30**(6), November-December 2013, 659-674. , .
7. Steinke JW, Borish L: **3. Cytokines and chemokines.** *The Journal of allergy and clinical immunology* 2006, **117**(2 Suppl Mini-Primer):S441-445.
8. Weaver CT, Harrington LE, Mangan PR, Gavrieli M, Murphy KM: **Th17: an effector CD4 T cell lineage with regulatory T cell ties.** *Immunity* 2006, **24**(6):677-688.
9. Harrington LE, Mangan PR, Weaver CT: **Expanding the effector CD4 T-cell repertoire: the Th17 lineage.** *Current opinion in immunology* 2006, **18**(3):349-356.
10. Dong C: **Regulation and pro-inflammatory function of interleukin-17 family cytokines.** *Immunological reviews* 2008, **226**:80-86.
11. Miossec P: **IL-17 and Th17 cells in human inflammatory diseases.** *Microbes and infection / Institut Pasteur* 2009, **11**(5):625-630.
12. Miossec P, Korn T, Kuchroo VK: **Interleukin-17 and type 17 helper T cells.** *The New England journal of medicine* 2009, **361**(9):888-898.
13. Fauci AS: **Seasonal and pandemic influenza preparedness: science and countermeasures.** *The Journal of infectious diseases* 2006, **194** Suppl 2:S73-76.
14. Adlhoch C, Snacken R, Melidou A, Ionescu S, Penttinen P, The European Influenza Surveillance N: **Dominant influenza A(H3N2) and B/Yamagata virus circulation in EU/EEA, 2016/17 and 2017/18 seasons, respectively.** *Euro Surveill* 2018, **23**(13).
15. Garten R, Blanton L, Elal AIA, Alabi N, Barnes J, Biggerstaff M, Brammer L, Budd AP, Burns E, Cummings CN *et al*: **Update: Influenza Activity in the United States During the 2017-18 Season and Composition of the 2018-19 Influenza Vaccine.** *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2018, **67**(22):634-642.
16. Gething MJ, Bye J, Skehel J, Waterfield M: **Cloning and DNA sequence of double-stranded copies of haemagglutinin genes from H2 and H3 strains elucidates antigenic shift and drift in human influenza virus.** *Nature* 1980, **287**(5780):301-306.
17. **Antigenic shift and drift.** *Nature* 1980, **283**(5747):524-525.
18. Boni MF: **Vaccination and antigenic drift in influenza.** *Vaccine* 2008, **26** Suppl 3:C8-14.
19. Centers for Disease C, Prevention: **Update: novel influenza A (H1N1) virus infections - worldwide, May 6, 2009.** *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2009, **58**(17):453-458.
20. Chang LY, Shih SR, Shao PL, Huang DT, Huang LM: **Novel swine-origin influenza virus A (H1N1): the first pandemic of the 21st century.** *J Formos Med Assoc* 2009, **108**(7):526-532.

21. Cordova-Villalobos JA, Sarti E, Arzoz-Padres J, Manuell-Lee G, Mendez JR, Kuri-Morales P: **The influenza A(H1N1) epidemic in Mexico. Lessons learned.** *Health Res Policy Syst* 2009, **7**:21.
22. Jain S, Kamimoto L, Bramley AM, Schmitz AM, Benoit SR, Louie J, Sugerman DE, Druckenmiller JK, Ritger KA, Chugh R *et al*: **Hospitalized patients with 2009 H1N1 influenza in the United States, April-June 2009.** *The New England journal of medicine* 2009, **361**(20):1935-1944.
23. Lipsitch M, Riley S, Cauchemez S, Ghani AC, Ferguson NM: **Managing and reducing uncertainty in an emerging influenza pandemic.** *The New England journal of medicine* 2009, **361**(2):112-115.
24. Mubareka S, Lowen AC, Steel J, Coates AL, Garcia-Sastre A, Palese P: **Transmission of influenza virus via aerosols and fomites in the guinea pig model.** *The Journal of infectious diseases* 2009, **199**(6):858-865.
25. Brankston G, Gitterman L, Hirji Z, Lemieux C, Gardam M: **Transmission of influenza A in human beings.** *The Lancet Infectious diseases* 2007, **7**(4):257-265.
26. Cox NJ, Subbarao K: **Influenza.** *Lancet* 1999, **354**(9186):1277-1282.
27. Cowling BJ, Chan KH, Fang VJ, Lau LLH, So HC, Fung ROP, Ma ESK, Kwong ASK, Chan CW, Tsui WWS *et al*: **Comparative epidemiology of pandemic and seasonal influenza A in households.** *The New England journal of medicine* 2010, **362**(23):2175-2184.
28. von Mollendorf C, Hellferscee O, Valley-Omar Z, Treurnicht FK, Walaza S, Martinson NA, Lebina L, Mothlaoleng K, Mahlase G, Variava E *et al*: **Influenza viral shedding in a prospective cohort of HIV-infected and -uninfected children and adults in 2 provinces of South Africa, 2012-2014.** *The Journal of infectious diseases* 2018.
29. Fraaij PL, Schutten M, Javouhey E, Burleigh L, Outlaw R, Kumar D, Boucher CA: **Viral shedding and susceptibility to oseltamivir in hospitalized immunocompromised patients with influenza in the Influenza Resistance Information Study (IRIS).** *Antiviral therapy* 2015, **20**(6):633-642.
30. Meschi S, Selleri M, Lalle E, Bordi L, Valli MB, Ferraro F, Ippolito G, Petrosillo N, Lauria FN, Capobianchi MR: **Duration of viral shedding in hospitalized patients infected with pandemic H1N1.** *BMC infectious diseases* 2011, **11**:140.
31. Pinsky BA, Mix S, Rowe J, Ikemoto S, Baron EJ: **Long-term shedding of influenza A virus in stool of immunocompromised child.** *Emerging infectious diseases* 2010, **16**(7):1165-1167.
32. Gooskens J, Jonges M, Claas EC, Meijer A, Kroes AC: **Prolonged influenza virus infection during lymphocytopenia and frequent detection of drug-resistant viruses.** *The Journal of infectious diseases* 2009, **199**(10):1435-1441.
33. Hurt AC, Leang SK, Tiedemann K, Butler J, Mechinaud F, Kelso A, Downie P, Barr IG: **Progressive emergence of an oseltamivir-resistant A(H3N2) virus over two courses of oseltamivir treatment in an immunocompromised paediatric patient.** *Influenza and other respiratory viruses* 2013, **7**(6):904-908.
34. Renaud C, Boudreault AA, Kuypers J, Lofy KH, Corey L, Boeckh MJ, Englund JA: **H275Y mutant pandemic (H1N1) 2009 virus in immunocompromised patients.** *Emerging infectious diseases* 2011, **17**(4):653-660; quiz 765.
35. Carr S, Ilyushina NA, Franks J, Adderson EE, Caniza M, Govorkova EA, Webster RG: **Oseltamivir-resistant influenza A and B viruses pre- and postantiviral therapy in children and young adults with cancer.** *The Pediatric infectious disease journal* 2011, **30**(4):284-288.
36. Kossyvakis A, Mentis AA, Tryfinopoulou K, Pogka V, Kalliaropoulos A, Antalis E, Lytras T, Meijer A, Tsiodras S, Karakitsos P *et al*: **Antiviral susceptibility profile of influenza A viruses; keep an eye on immunocompromised patients under prolonged**

- treatment.** *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology* 2017, **36**(2):361-371.
37. Nicholson KG: **Clinical features of influenza.** *Semin Respir Infect* 1992, **7**(1):26-37.
 38. Martin CM, Kunin CM, Gottlieb LS, Barnes MW, Liu C, Finland M: **Asian influenza A in Boston, 1957-1958. I. Observations in thirty-two influenza-associated fatal cases.** *AMA Arch Intern Med* 1959, **103**(4):515-531.
 39. Bisno AL, Griffin JP, Van Epps KA, Niell HB, Rytel MW: **Pneumonia and Hong Kong influenza: a prospective study of the 1968-1969 epidemic.** *The American journal of the medical sciences* 1971, **261**(5):251-263.
 40. Schwarzmann SW, Adler JL, Sullivan RJ, Jr., Marine WM: **Bacterial pneumonia during the Hong Kong influenza epidemic of 1968-1969.** *Archives of internal medicine* 1971, **127**(6):1037-1041.
 41. Jafarinejad H, Moghoofei M, Mostafaei S, Salimian J, Azimzadeh Jamalkandi S, Ahmadi A: **Worldwide prevalence of viral infection in AECOPD patients: A meta-analysis.** *Microbial pathogenesis* 2017, **113**:190-196.
 42. Biancardi E, Fennell M, Rawlinson W, Thomas PS: **Viruses are frequently present as the infecting agent in acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease in patients presenting to hospital.** *Intern Med J* 2016, **46**(10):1160-1165.
 43. Dimopoulos G, Lerikou M, Tsiodras S, Chranioti A, Perros E, Anagnostopoulou U, Armaganidis A, Karakitsos P: **Viral epidemiology of acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease.** *Pulmonary pharmacology & therapeutics* 2012, **25**(1):12-18.
 44. Warren-Gash C, Blackburn R, Whitaker H, McMenamin J, Hayward AC: **Laboratory-confirmed respiratory infections as triggers for acute myocardial infarction and stroke: a self-controlled case series analysis of national linked datasets from Scotland.** *The European respiratory journal* 2018, **51**(3).
 45. Kwong JC, Schwartz KL, Campitelli MA, Chung H, Crowcroft NS, Karnauchow T, Katz K, Ko DT, McGeer AJ, McNally D *et al*: **Acute Myocardial Infarction after Laboratory-Confirmed Influenza Infection.** *The New England journal of medicine* 2018, **378**(4):345-353.
 46. Hjalmarsson A, Blomqvist P, Brytting M, Linde A, Skoldenberg B: **Encephalitis after influenza in Sweden 1987-1998: a rare complication of a common infection.** *Eur Neurol* 2009, **61**(5):289-294.
 47. Ekstrand JJ: **Neurologic complications of influenza.** *Semin Pediatr Neurol* 2012, **19**(3):96-100.
 48. Landau YE, Grisar-Soen G, Reif S, Fattal-Valevski A: **Pediatric Neurologic Complications Associated With Influenza A H1N1.** *Pediatric neurology* 2011, **44**(1):47-51.
 49. Studahl M: **Influenza virus and CNS manifestations.** *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2003, **28**(3):225-232.
 50. Salonen O, Koshkiniemi M, Saari A, Myllyla V, Pyhala R, Airaksinen L, Vaheri A: **Myelitis associated with influenza A virus infection.** *Journal of neurovirology* 1997, **3**(1):83-85.
 51. Siskin M, Rao S, Rapkiewicz A, Bangalore S, Garshick M: **A Case of Cardiogenic Shock Secondary to Complement-Mediated Myopericarditis From Influenza B Infection.** *Can J Cardiol* 2017, **33**(10):1335 e1331-1335 e1333.
 52. Davoudi AR, Maleki AR, Beykmohammadi AR, Tayebi A: **Fulminant myopericarditis in an immunocompetent adult due to pandemic 2009 (H1N1) influenza A virus infection.** *Scandinavian journal of infectious diseases* 2012, **44**(6):470-472.

53. Jang JY, Chang HJ, Jang Y, Han SH, Bang WD, Cho SS, Oh CM, Yu HT, Shim CY, Ha JW *et al*: **Constrictive Pericarditis Accompanied by Swine-Origin Influenza A (H1N1) Infection**. *Korean Circ J* 2010, **40**(10):539-542.
54. Proby CM, Hackett D, Gupta S, Cox TM: **Acute myopericarditis in influenza A infection**. *Q J Med* 1986, **60**(233):887-892.
55. Chartrand C, Leeflang MM, Minion J, Brewer T, Pai M: **Accuracy of rapid influenza diagnostic tests: a meta-analysis**. *Annals of internal medicine* 2012, **156**(7):500-511.
56. Merckx J, Wali R, Schiller I, Caya C, Gore GC, Chartrand C, Dendukuri N, Papenburg J: **Diagnostic Accuracy of Novel and Traditional Rapid Tests for Influenza Infection Compared With Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction: A Systematic Review and Meta-analysis**. *Annals of internal medicine* 2017, **167**(6):394-409.
57. McKimm-Breschkin JL, Jiang S, Hui DS, Beigel JH, Govorkova EA, Lee N: **Prevention and treatment of respiratory viral infections: Presentations on antivirals, traditional therapies and host-directed interventions at the 5th ISIRV Antiviral Group conference**. *Antiviral research* 2018, **149**:118-142.
58. Chang C, Ramphul K: **Amantadine**. In: *StatPearls*. edn. Treasure Island (FL); 2018.
59. Iwasaki A, Pillai PS: **Innate immunity to influenza virus infection**. *Nature reviews Immunology* 2014, **14**(5):315-328.
60. Gazit R, Gruda R, Elboim M, Arnon TI, Katz G, Achdout H, Hanna J, Qimron U, Landau G, Greenbaum E *et al*: **Lethal influenza infection in the absence of the natural killer cell receptor gene Ncr1**. *Nature immunology* 2006, **7**(5):517-523.
61. Betakova T, Kostrabova A, Lachova V, Turianova L: **Cytokines Induced During Influenza Virus Infection**. *Current pharmaceutical design* 2017, **23**(18):2616-2622.
62. Marion T, Elbahesh H, Thomas PG, DeVincenzo JP, Webby R, Schughart K: **Respiratory Mucosal Proteome Quantification in Human Influenza Infections**. *PloS one* 2016, **11**(4):e0153674.
63. Sun G, Ota C, Kitaoka S, Chiba Y, Takayanagi M, Kitamura T, Yamamoto K, Fujie H, Mikami H, Uematsu M *et al*: **Elevated serum levels of neutrophil elastase in patients with influenza virus-associated encephalopathy**. *Journal of the neurological sciences* 2015, **349**(1-2):190-195.
64. Chi Y, Zhu Y, Wen T, Cui L, Ge Y, Jiao Y, Wu T, Ge A, Ji H, Xu K *et al*: **Cytokine and chemokine levels in patients infected with the novel avian influenza A (H7N9) virus in China**. *The Journal of infectious diseases* 2013, **208**(12):1962-1967.
65. Davey RT, Jr., Lynfield R, Dwyer DE, Losso MH, Cozzi-Lepri A, Wentworth D, Lane HC, Dewar R, Rupert A, Metcalf JA *et al*: **The association between serum biomarkers and disease outcome in influenza A(H1N1)pdm09 virus infection: results of two international observational cohort studies**. *PloS one* 2013, **8**(2):e57121.
66. Bradley-Stewart A, Jolly L, Adamson W, Gunson R, Frew-Gillespie C, Templeton K, Aitken C, Carman W, Cameron S, McSharry C: **Cytokine responses in patients with mild or severe influenza A(H1N1)pdm09**. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2013, **58**(1):100-107.
67. Oshansky CM, Gartland AJ, Wong SS, Jeevan T, Wang D, Roddam PL, Caniza MA, Hertz T, Devincenzo JP, Webby RJ *et al*: **Mucosal immune responses predict clinical outcomes during influenza infection independently of age and viral load**. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2014, **189**(4):449-462.
68. Yang ZF, Mok CK, Liu XQ, Li XB, He JF, Guan WD, Xu YH, Pan WQ, Chen LY, Lin YP *et al*: **Clinical, virological and immunological features from patients infected with re-emergent avian-origin human H7N9 influenza disease of varying severity in Guangdong province**. *PloS one* 2015, **10**(2):e0117846.

69. Lee N, Wong CK, Chan PK, Chan MC, Wong RY, Lun SW, Ngai KL, Lui GC, Wong BC, Lee SK *et al*: **Cytokine response patterns in severe pandemic 2009 H1N1 and seasonal influenza among hospitalized adults.** *PloS one* 2011, **6**(10):e26050.
70. Nakamura R, Maeda N, Shibata K, Yamada H, Kase T, Yoshikai Y: **Interleukin-15 is critical in the pathogenesis of influenza a virus-induced acute lung injury.** *Journal of virology* 2010, **84**(11):5574-5582.
71. Cole KE, Strick CA, Paradis TJ, Ogborne KT, Loetscher M, Gladue RP, Lin W, Boyd JG, Moser B, Wood DE *et al*: **Interferon-inducible T cell alpha chemoattractant (I-TAC): a novel non-ELR CXC chemokine with potent activity on activated T cells through selective high affinity binding to CXCR3.** *The Journal of experimental medicine* 1998, **187**(12):2009-2021.
72. Qin S, Rottman JB, Myers P, Kassam N, Weinblatt M, Loetscher M, Koch AE, Moser B, Mackay CR: **The chemokine receptors CXCR3 and CCR5 mark subsets of T cells associated with certain inflammatory reactions.** *The Journal of clinical investigation* 1998, **101**(4):746-754.
73. Sallusto F: **The role of chemokines and chemokine receptors in T cell priming and Th1/Th2-mediated responses.** *Haematologica* 1999, **84** Suppl EHA-4:28-31.
74. Sallusto F, Lanzavecchia A, Mackay CR: **Chemokines and chemokine receptors in T-cell priming and Th1/Th2-mediated responses.** *Immunol Today* 1998, **19**(12):568-574.
75. Cruikshank WW, Long A, Tarpy RE, Kornfeld H, Carroll MP, Teran L, Holgate ST, Center DM: **Early identification of interleukin-16 (lymphocyte chemoattractant factor) and macrophage inflammatory protein 1 alpha (MIP1 alpha) in bronchoalveolar lavage fluid of antigen-challenged asthmatics.** *American journal of respiratory cell and molecular biology* 1995, **13**(6):738-747.
76. Deng A, Chen S, Li Q, Lyu SC, Clayberger C, Krensky AM: **Granulysin, a cytolytic molecule, is also a chemoattractant and proinflammatory activator.** *Journal of immunology* 2005, **174**(9):5243-5248.
77. Lee B, Robinson KM, McHugh KJ, Scheller EV, Mandalapu S, Chen C, Di YP, Clay ME, Enelow RI, Dubin PJ *et al*: **Influenza-induced type I interferon enhances susceptibility to gram-negative and gram-positive bacterial pneumonia in mice.** *American journal of physiology Lung cellular and molecular physiology* 2015, **309**(2):L158-167.
78. Nakamura S, Davis KM, Weiser JN: **Synergistic stimulation of type I interferons during influenza virus coinfection promotes Streptococcus pneumoniae colonization in mice.** *The Journal of clinical investigation* 2011, **121**(9):3657-3665.
79. Li W, Moltedo B, Moran TM: **Type I interferon induction during influenza virus infection increases susceptibility to secondary Streptococcus pneumoniae infection by negative regulation of gammadelta T cells.** *Journal of virology* 2012, **86**(22):12304-12312.
80. Robinson KM, Lee B, Scheller EV, Mandalapu S, Enelow RI, Kolls JK, Alcorn JF: **The role of IL-27 in susceptibility to post-influenza Staphylococcus aureus pneumonia.** *Respiratory research* 2015, **16**:10.
81. Ramana CV, DeBerge MP, Kumar A, Alia CS, Durbin JE, Enelow RI: **Inflammatory impact of IFN-gamma in CD8+ T cell-mediated lung injury is mediated by both Stat1-dependent and -independent pathways.** *American journal of physiology Lung cellular and molecular physiology* 2015, **308**(7):L650-657.
82. Prabhu N, Ho AW, Wong KH, Hutchinson PE, Chua YL, Kandasamy M, Lee DC, Sivasankar B, Kemeny DM: **Gamma interferon regulates contraction of the influenza virus-specific CD8 T cell response and limits the size of the memory population.** *Journal of virology* 2013, **87**(23):12510-12522.

83. Sun K, Metzger DW: **Inhibition of pulmonary antibacterial defense by interferon-gamma during recovery from influenza infection.** *Nature medicine* 2008, **14**(5):558-564.
84. Planet PJ, Parker D, Cohen TS, Smith H, Leon JD, Ryan C, Hammer TJ, Fierer N, Chen EI, Prince AS: **Lambda Interferon Restructures the Nasal Microbiome and Increases Susceptibility to Staphylococcus aureus Superinfection.** *mBio* 2016, **7**(1):e01939-01915.
85. Peiris JS, Yu WC, Leung CW, Cheung CY, Ng WF, Nicholls JM, Ng TK, Chan KH, Lai ST, Lim WL *et al*: **Re-emergence of fatal human influenza A subtype H5N1 disease.** *Lancet* 2004, **363**(9409):617-619.
86. Chan MC, Cheung CY, Chui WH, Tsao SW, Nicholls JM, Chan YO, Chan RW, Long HT, Poon LL, Guan Y *et al*: **Proinflammatory cytokine responses induced by influenza A (H5N1) viruses in primary human alveolar and bronchial epithelial cells.** *Respiratory research* 2005, **6**:135.
87. Monteerarat Y, Sakabe S, Ngamurulert S, Srichatraphimuk S, Jiamtom W, Chaichuen K, Thitithanyanont A, Permpikul P, Songserm T, Puthavathana P *et al*: **Induction of TNF-alpha in human macrophages by avian and human influenza viruses.** *Archives of virology* 2010, **155**(8):1273-1279.
88. Aoyagi T, Newstead MW, Zeng X, Kunkel SL, Kaku M, Standiford TJ: **IL-36 receptor deletion attenuates lung injury and decreases mortality in murine influenza pneumonia.** *Mucosal immunology* 2017, **10**(4):1043-1055.
89. Walsh KB, Teijaro JR, Rosen H, Oldstone MB: **Quelling the storm: utilization of sphingosine-1-phosphate receptor signaling to ameliorate influenza virus-induced cytokine storm.** *Immunologic research* 2011, **51**(1):15-25.
90. Kudva A, Scheller EV, Robinson KM, Crowe CR, Choi SM, Slight SR, Khader SA, Dubin PJ, Enelow RI, Kolls JK *et al*: **Influenza A inhibits Th17-mediated host defense against bacterial pneumonia in mice.** *Journal of immunology* 2011, **186**(3):1666-1674.
91. Li C, Yang P, Sun Y, Li T, Wang C, Wang Z, Zou Z, Yan Y, Wang W, Wang C *et al*: **IL-17 response mediates acute lung injury induced by the 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus.** *Cell research* 2012, **22**(3):528-538.
92. Bermejo-Martin JF, Ortiz de Lejarazu R, Pumarola T, Rello J, Almansa R, Ramirez P, Martin-Loeches I, Varillas D, Gallegos MC, Seron C *et al*: **Th1 and Th17 hypercytokinemia as early host response signature in severe pandemic influenza.** *Critical care* 2009, **13**(6):R201.
93. Gilca R, De Serres G, Tremblay M, Vachon ML, Leblanc E, Bergeron MG, Dery P, Boivin G: **Distribution and clinical impact of human respiratory syncytial virus genotypes in hospitalized children over 2 winter seasons.** *The Journal of infectious diseases* 2006, **193**(1):54-58.
94. Papadopoulos NG, Gourgiotis D, Javadyan A, Bossios A, Kallergi K, Psarras S, Tsolia MN, Kafetzis D: **Does respiratory syncytial virus subtype influences the severity of acute bronchiolitis in hospitalized infants?** *Respiratory medicine* 2004, **98**(9):879-882.
95. Lowther SA, Shay DK, Holman RC, Clarke MJ, Kaufman SF, Anderson LJ: **Bronchiolitis-associated hospitalizations among American Indian and Alaska Native children.** *The Pediatric infectious disease journal* 2000, **19**(1):11-17.
96. Shay DK, Holman RC, Newman RD, Liu LL, Stout JW, Anderson LJ: **Bronchiolitis-associated hospitalizations among US children, 1980-1996.** *Jama* 1999, **282**(15):1440-1446.
97. Englund JA, Sullivan CJ, Jordan MC, Dehner LP, Vercellotti GM, Balfour HH, Jr.: **Respiratory syncytial virus infection in immunocompromised adults.** *Annals of internal medicine* 1988, **109**(3):203-208.

98. O'Shea MK, Ryan MA, Hawksworth AW, Alsip BJ, Gray GC: **Symptomatic respiratory syncytial virus infection in previously healthy young adults living in a crowded military environment.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2005, **41**(3):311-317.
99. Thompson WW, Shay DK, Weintraub E, Brammer L, Cox N, Anderson LJ, Fukuda K: **Mortality associated with influenza and respiratory syncytial virus in the United States.** *Jama* 2003, **289**(2):179-186.
100. Hall CB, Douglas RG, Jr., Geiman JM: **Quantitative shedding patterns of respiratory syncytial virus in infants.** *The Journal of infectious diseases* 1975, **132**(2):151-156.
101. Hoffman SJ, Laham FR, Polack FP: **Mechanisms of illness during respiratory syncytial virus infection: the lungs, the virus and the immune response.** *Microbes and infection / Institut Pasteur* 2004, **6**(8):767-772.
102. Johnson JE, Gonzales RA, Olson SJ, Wright PF, Graham BS: **The histopathology of fatal untreated human respiratory syncytial virus infection.** *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 2007, **20**(1):108-119.
103. Henderson FW, Collier AM, Clyde WA, Jr., Denny FW: **Respiratory-syncytial-virus infections, reinfections and immunity. A prospective, longitudinal study in young children.** *The New England journal of medicine* 1979, **300**(10):530-534.
104. Glezen WP, Taber LH, Frank AL, Kasel JA: **Risk of primary infection and reinfection with respiratory syncytial virus.** *American journal of diseases of children* 1986, **140**(6):543-546.
105. Heiskanen-Kosma T, Korppi M, Jokinen C, Kurki S, Heiskanen L, Juvonen H, Kallinen S, Sten M, Tarkiainen A, Ronnberg PR *et al*: **Etiology of childhood pneumonia: serologic results of a prospective, population-based study.** *The Pediatric infectious disease journal* 1998, **17**(11):986-991.
106. Anas N, Boettrich C, Hall CB, Brooks JG: **The association of apnea and respiratory syncytial virus infection in infants.** *The Journal of pediatrics* 1982, **101**(1):65-68.
107. Bruhn FW, Mokrohisky ST, McIntosh K: **Apnea associated with respiratory syncytial virus infection in young infants.** *The Journal of pediatrics* 1977, **90**(3):382-386.
108. Church NR, Anas NG, Hall CB, Brooks JG: **Respiratory syncytial virus-related apnea in infants. Demographics and outcome.** *American journal of diseases of children* 1984, **138**(3):247-250.
109. Hall CB, Hall WJ, Speers DM: **Clinical and physiological manifestations of bronchiolitis and pneumonia. Outcome of respiratory syncytial virus.** *American journal of diseases of children* 1979, **133**(8):798-802.
110. Arms JL, Ortega H, Reid S: **Chronological and clinical characteristics of apnea associated with respiratory syncytial virus infection: a retrospective case series.** *Clinical pediatrics* 2008, **47**(9):953-958.
111. Ralston S, Hill V: **Incidence of apnea in infants hospitalized with respiratory syncytial virus bronchiolitis: a systematic review.** *The Journal of pediatrics* 2009, **155**(5):728-733.
112. Mansbach JM, Piedra PA, Teach SJ, Sullivan AF, Forgey T, Clark S, Espinola JA, Camargo CA, Jr., Investigators M-: **Prospective multicenter study of viral etiology and hospital length of stay in children with severe bronchiolitis.** *Arch Pediatr Adolesc Med* 2012, **166**(8):700-706.
113. Richard N, Komurian-Pradel F, Javouhey E, Perret M, Rajoharison A, Bagnaud A, Billaud G, Vernet G, Lina B, Floret D *et al*: **The impact of dual viral infection in infants admitted to a pediatric intensive care unit associated with severe bronchiolitis.** *The Pediatric infectious disease journal* 2008, **27**(3):213-217.

114. Stempel HE, Martin ET, Kuypers J, Englund JA, Zerr DM: **Multiple viral respiratory pathogens in children with bronchiolitis.** *Acta paediatrica* 2009, **98**(1):123-126.
115. Miron D, Srugo I, Kra-Oz Z, Keness Y, Wolf D, Amirav I, Kassis I: **Sole pathogen in acute bronchiolitis: is there a role for other organisms apart from respiratory syncytial virus?** *The Pediatric infectious disease journal* 2010, **29**(1):e7-e10.
116. Midulla F, Scagnolari C, Bonci E, Pierangeli A, Antonelli G, De Angelis D, Berardi R, Moretti C: **Respiratory syncytial virus, human bocavirus and rhinovirus bronchiolitis in infants.** *Archives of disease in childhood* 2010, **95**(1):35-41.
117. Calvo C, Garcia-Garcia ML, Pozo F, Carvajal O, Perez-Brena P, Casas I: **Clinical characteristics of human bocavirus infections compared with other respiratory viruses in Spanish children.** *The Pediatric infectious disease journal* 2008, **27**(8):677-680.
118. Calvo C, Garcia-Garcia ML, Blanco C, Vazquez MC, Frias ME, Perez-Brena P, Casas I: **Multiple simultaneous viral infections in infants with acute respiratory tract infections in Spain.** *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2008, **42**(3):268-272.
119. Allander T, Tammi MT, Eriksson M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A, Andersson B: **Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2005, **102**(36):12891-12896.
120. Mansbach JM, McAdam AJ, Clark S, Hain PD, Flood RG, Acholonu U, Camargo CA, Jr.: **Prospective multicenter study of the viral etiology of bronchiolitis in the emergency department.** *Academic emergency medicine : official journal of the Society for Academic Emergency Medicine* 2008, **15**(2):111-118.
121. Lina B, Valette M, Foray S, Luciani J, Stagnara J, See DM, Aymard M: **Surveillance of community-acquired viral infections due to respiratory viruses in Rhone-Alpes (France) during winter 1994 to 1995.** *Journal of clinical microbiology* 1996, **34**(12):3007-3011.
122. Hall CB, Long CE, Schnabel KC: **Respiratory syncytial virus infections in previously healthy working adults.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2001, **33**(6):792-796.
123. American Academy of Pediatrics Subcommittee on D, Management of B: **Diagnosis and management of bronchiolitis.** *Pediatrics* 2006, **118**(4):1774-1793.
124. Shaw KN, Bell LM, Sherman NH: **Outpatient assessment of infants with bronchiolitis.** *American journal of diseases of children* 1991, **145**(2):151-155.
125. Wang EE, Law BJ, Boucher FD, Stephens D, Robinson JL, Dobson S, Langley JM, MacDonald J, MacDonald NE, Mitchell I: **Pediatric Investigators Collaborative Network on Infections in Canada (PICNIC) study of admission and management variation in patients hospitalized with respiratory syncytial viral lower respiratory tract infection.** *The Journal of pediatrics* 1996, **129**(3):390-395.
126. MacDonald NE, Hall CB, Suffin SC, Alexson C, Harris PJ, Manning JA: **Respiratory syncytial viral infection in infants with congenital heart disease.** *The New England journal of medicine* 1982, **307**(7):397-400.
127. Hall CB, Powell KR, MacDonald NE, Gala CL, Menegus ME, Suffin SC, Cohen HJ: **Respiratory syncytial viral infection in children with compromised immune function.** *The New England journal of medicine* 1986, **315**(2):77-81.
128. Meissner HC: **Selected populations at increased risk from respiratory syncytial virus infection.** *The Pediatric infectious disease journal* 2003, **22**(2 Suppl):S40-44; discussion S44-45.

129. Levine DA, Platt SL, Dayan PS, Macias CG, Zorc JJ, Krief W, Schor J, Bank D, Fefferman N, Shaw KN *et al*: **Risk of serious bacterial infection in young febrile infants with respiratory syncytial virus infections.** *Pediatrics* 2004, **113**(6):1728-1734.
130. Bilavsky E, Shouval DS, Yarden-Bilavsky H, Fisch N, Ashkenazi S, Amir J: **A prospective study of the risk for serious bacterial infections in hospitalized febrile infants with or without bronchiolitis.** *The Pediatric infectious disease journal* 2008, **27**(3):269-270.
131. Kuppermann N, Bank DE, Walton EA, Senac MO, Jr., McCaslin I: **Risks for bacteremia and urinary tract infections in young febrile children with bronchiolitis.** *Arch Pediatr Adolesc Med* 1997, **151**(12):1207-1214.
132. Melendez E, Harper MB: **Utility of sepsis evaluation in infants 90 days of age or younger with fever and clinical bronchiolitis.** *The Pediatric infectious disease journal* 2003, **22**(12):1053-1056.
133. Purcell K, Fergie J: **Concurrent serious bacterial infections in 2396 infants and children hospitalized with respiratory syncytial virus lower respiratory tract infections.** *Arch Pediatr Adolesc Med* 2002, **156**(4):322-324.
134. Bloomfield P, Dalton D, Karleka A, Kesson A, Duncan G, Isaacs D: **Bacteraemia and antibiotic use in respiratory syncytial virus infections.** *Archives of disease in childhood* 2004, **89**(4):363-367.
135. Titus MO, Wright SW: **Prevalence of serious bacterial infections in febrile infants with respiratory syncytial virus infection.** *Pediatrics* 2003, **112**(2):282-284.
136. Purcell K, Fergie J: **Lack of usefulness of an abnormal white blood cell count for predicting a concurrent serious bacterial infection in infants and young children hospitalized with respiratory syncytial virus lower respiratory tract infection.** *The Pediatric infectious disease journal* 2007, **26**(4):311-315.
137. Ralston S, Hill V, Waters A: **Occult serious bacterial infection in infants younger than 60 to 90 days with bronchiolitis: a systematic review.** *Arch Pediatr Adolesc Med* 2011, **165**(10):951-956.
138. Willson DF, Landrigan CP, Horn SD, Smout RJ: **Complications in infants hospitalized for bronchiolitis or respiratory syncytial virus pneumonia.** *The Journal of pediatrics* 2003, **143**(5 Suppl):S142-149.
139. Kneyber MC, Brandenburg AH, de Groot R, Joosten KF, Rothbarth PH, Ott A, Moll HA: **Risk factors for respiratory syncytial virus associated apnoea.** *European journal of pediatrics* 1998, **157**(4):331-335.
140. Hall CB, Powell KR, Schnabel KC, Gala CL, Pincus PH: **Risk of secondary bacterial infection in infants hospitalized with respiratory syncytial viral infection.** *The Journal of pediatrics* 1988, **113**(2):266-271.
141. Thorburn K, Harigopal S, Reddy V, Taylor N, van Saene HK: **High incidence of pulmonary bacterial co-infection in children with severe respiratory syncytial virus (RSV) bronchiolitis.** *Thorax* 2006, **61**(7):611-615.
142. Duttweiler L, Nadal D, Frey B: **Pulmonary and systemic bacterial co-infections in severe RSV bronchiolitis.** *Archives of disease in childhood* 2004, **89**(12):1155-1157.
143. Willwerth BM, Harper MB, Greenes DS: **Identifying hospitalized infants who have bronchiolitis and are at high risk for apnea.** *Annals of emergency medicine* 2006, **48**(4):441-447.
144. Simoes EA, Groothuis JR, Carbonell-Estrany X, Rieger CH, Mitchell I, Fredrick LM, Kimpen JL, Palivizumab Long-Term Respiratory Outcomes Study G: **Palivizumab prophylaxis, respiratory syncytial virus, and subsequent recurrent wheezing.** *The Journal of pediatrics* 2007, **151**(1):34-42, 42 e31.
145. Stein RT, Sherrill D, Morgan WJ, Holberg CJ, Halonen M, Taussig LM, Wright AL, Martinez FD: **Respiratory syncytial virus in early life and risk of wheeze and allergy by age 13 years.** *Lancet* 1999, **354**(9178):541-545.

146. Sigurs N, Bjarnason R, Sigurbergsson F, Kjellman B: **Respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy is an important risk factor for asthma and allergy at age 7.** *American journal of respiratory and critical care medicine* 2000, **161**(5):1501-1507.
147. Hall CB, Hall WJ, Gala CL, MaGill FB, Leddy JP: **Long-term prospective study in children after respiratory syncytial virus infection.** *The Journal of pediatrics* 1984, **105**(3):358-364.
148. Sigurs N, Gustafsson PM, Bjarnason R, Lundberg F, Schmidt S, Sigurbergsson F, Kjellman B: **Severe respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy and asthma and allergy at age 13.** *American journal of respiratory and critical care medicine* 2005, **171**(2):137-141.
149. Henderson J, Hilliard TN, Sherriff A, Stalker D, Al Shammari N, Thomas HM: **Hospitalization for RSV bronchiolitis before 12 months of age and subsequent asthma, atopy and wheeze: a longitudinal birth cohort study.** *Pediatric allergy and immunology : official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology* 2005, **16**(5):386-392.
150. Sigurs N, Bjarnason R, Sigurbergsson F, Kjellman B, Bjorksten B: **Asthma and immunoglobulin E antibodies after respiratory syncytial virus bronchiolitis: a prospective cohort study with matched controls.** *Pediatrics* 1995, **95**(4):500-505.
151. Martinez FD: **Respiratory syncytial virus bronchiolitis and the pathogenesis of childhood asthma.** *The Pediatric infectious disease journal* 2003, **22**(2 Suppl):S76-82.
152. Gern JE: **Viral respiratory infection and the link to asthma.** *The Pediatric infectious disease journal* 2008, **27**(10 Suppl):S97-103.
153. Carroll KN, Wu P, Gebretsadik T, Griffin MR, Dupont WD, Mitchel EF, Hartert TV: **Season of infant bronchiolitis and estimates of subsequent risk and burden of early childhood asthma.** *The Journal of allergy and clinical immunology* 2009, **123**(4):964-966.
154. Bartlett NW, McLean GR, Chang YS, Johnston SL: **Genetics and epidemiology: asthma and infection.** *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2009, **9**(5):395-400.
155. Haber N: **Respiratory syncytial virus infection in elderly adults.** *Med Mal Infect* 2018.
156. Walsh EE: **Respiratory Syncytial Virus Infection: An Illness for All Ages.** *Clinics in chest medicine* 2017, **38**(1):29-36.
157. Ramirez JA: **RSV infection in the adult population.** *Manag Care* 2008, **17**(11 Suppl 12):13-15, discussion 18-19.
158. Falsey AR, Hennessey PA, Formica MA, Cox C, Walsh EE: **Respiratory syncytial virus infection in elderly and high-risk adults.** *The New England journal of medicine* 2005, **352**(17):1749-1759.
159. Azar MM, Landry ML: **Detection of Influenza A and B Viruses and Respiratory Syncytial Virus by Use of Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988 (CLIA)-Waived Point-of-Care Assays: a Paradigm Shift to Molecular Tests.** *Journal of clinical microbiology* 2018, **56**(7).
160. Arbefeville S, Thonen-Kerr E, Ferrieri P: **Prospective and Retrospective Evaluation of the Performance of the FDA-Approved Cepheid Xpert Flu/RSV XC Assay.** *Lab Med* 2017, **48**(4):e53-e56.
161. Mesquita FDS, Oliveira DBL, Crema D, Pinez CMN, Colmanetti TC, Thomazelli LM, Gilio AE, Vieira SE, Martinez MB, Botosso VF *et al*: **Rapid antigen detection test for respiratory syncytial virus diagnosis as a diagnostic tool.** *J Pediatr (Rio J)* 2017, **93**(3):246-252.
162. Jung BK, Choi SH, Lee JH, Lee J, Lim CS: **Performance evaluation of four rapid antigen tests for the detection of Respiratory syncytial virus.** *Journal of medical virology* 2016, **88**(10):1720-1724.

163. Sanbonmatsu-Gamez S, Perez-Ruiz M, Lara-Oya A, Pedrosa-Corral I, Riazzo-Damas C, Navarro-Mari JM: **Analytical performance of the automated multianalyte point-of-care mariPOC(R) for the detection of respiratory viruses.** *Diagn Microbiol Infect Dis* 2015, **83**(3):252-256.
164. Kanwar N, Hassan F, Nguyen A, Selvarangan R: **Head-to-head comparison of the diagnostic accuracies of BD Veritor System RSV and Quidel(R) Sofia(R) RSV FIA systems for respiratory syncytial virus (RSV) diagnosis.** *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2015, **65**:83-86.
165. Bruning AH, van Dijk K, van Eijk HW, Koen G, van Woensel JB, Krusinga FH, Pajkrt D, Wolthers KC: **Evaluation of a rapid antigen detection point-of-care test for respiratory syncytial virus and influenza in a pediatric hospitalized population in the Netherlands.** *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014, **80**(4):292-293.
166. Choudhary ML, Anand SP, Heydari M, Rane G, Potdar VA, Chadha MS, Mishra AC: **Development of a multiplex one step RT-PCR that detects eighteen respiratory viruses in clinical specimens and comparison with real time RT-PCR.** *Journal of virological methods* 2013, **189**(1):15-19.
167. Puppe W, Weigl JA, Aron G, Grondahl B, Schmitt HJ, Niesters HG, Groen J: **Evaluation of a multiplex reverse transcriptase PCR ELISA for the detection of nine respiratory tract pathogens.** *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2004, **30**(2):165-174.
168. Null D, Jr., Pollara B, Dennehy PH, Steichen J, Sanchez PJ, Givner LB, Carlin D, Landry B, Top FH, Jr., Connor E: **Safety and immunogenicity of palivizumab (Synagis) administered for two seasons.** *The Pediatric infectious disease journal* 2005, **24**(11):1021-1023.
169. Oh PI, Lanctjt KL, Yoon A, Lee DS, Paes BA, Simmons BS, Parison D, Manzi P, Composs I: **Palivizumab prophylaxis for respiratory syncytial virus in Canada: utilization and outcomes.** *The Pediatric infectious disease journal* 2002, **21**(6):512-518.
170. Sorrentino M, Powers T: **Effectiveness of palivizumab: evaluation of outcomes from the 1998 to 1999 respiratory syncytial virus season. The Palivizumab Outcomes Study Group.** *The Pediatric infectious disease journal* 2000, **19**(11):1068-1071.
171. Feltes TF, Sondheimer HM, Tulloh RM, Harris BS, Jensen KM, Losonsky GA, Griffin MP, Motavizumab Cardiac Study G: **A randomized controlled trial of motavizumab versus palivizumab for the prophylaxis of serious respiratory syncytial virus disease in children with hemodynamically significant congenital heart disease.** *Pediatric research* 2011, **70**(2):186-191.
172. **Reduction of respiratory syncytial virus hospitalization among premature infants and infants with bronchopulmonary dysplasia using respiratory syncytial virus immune globulin prophylaxis. The PREVENT Study Group.** *Pediatrics* 1997, **99**(1):93-99.
173. Russell CD, Unger SA, Walton M, Schwarze J: **The Human Immune Response to Respiratory Syncytial Virus Infection.** *Clinical microbiology reviews* 2017, **30**(2):481-502.
174. Hall CB, Walsh EE, Long CE, Schnabel KC: **Immunity to and frequency of reinfection with respiratory syncytial virus.** *The Journal of infectious diseases* 1991, **163**(4):693-698.
175. Ye Q, Shao WX, Shang SQ, Pan YX, Shen HQ, Chen XJ: **Epidemiological characteristics and immune status of children with Respiratory Syncytial Virus.** *Journal of medical virology* 2015, **87**(2):323-329.
176. Alonso Fernandez J, Roine I, Vasquez A, Caneo M: **Soluble interleukin-2 receptor (sCD25) and interleukin-10 plasma concentrations are associated with severity of**

- primary respiratory syncytial virus (RSV) infection.** *European cytokine network 2005*, **16**(1):81-90.
177. Fernandez JA, Tapia L, Palomino MA, Larranaga C, Pena M, Jaramillo H: **Plasma interferon-gamma, interleukin-10 and soluble markers of immune activation in infants with primary adenovirus (ADV) and respiratory syncytial virus (RSV) infection.** *European cytokine network 2005*, **16**(1):35-40.
 178. Chung HL, Park HJ, Kim SY, Kim SG: **Age-related difference in immune responses to respiratory syncytial virus infection in young children.** *Pediatric allergy and immunology : official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology* 2007, **18**(2):94-99.
 179. Bont L, Heijnen CJ, Kavelaars A, van Aalderen WM, Brus F, Draaisma JT, Geelen SM, van Vught HJ, Kimpen JL: **Peripheral blood cytokine responses and disease severity in respiratory syncytial virus bronchiolitis.** *The European respiratory journal* 1999, **14**(1):144-149.
 180. Aberle JH, Aberle SW, Dworzak MN, Mandl CW, Rebhandl W, Vollnhofer G, Kundi M, Popow-Kraupp T: **Reduced interferon-gamma expression in peripheral blood mononuclear cells of infants with severe respiratory syncytial virus disease.** *American journal of respiratory and critical care medicine* 1999, **160**(4):1263-1268.
 181. Pinto RA, Arredondo SM, Bono MR, Gaggero AA, Diaz PV: **T helper 1/T helper 2 cytokine imbalance in respiratory syncytial virus infection is associated with increased endogenous plasma cortisol.** *Pediatrics* 2006, **117**(5):e878-886.
 182. Hattori S, Shimojo N, Mashimo T, Inoue Y, Ono Y, Kohno Y, Okamoto Y, Hata A, Suzuki Y: **Relationship between RANTES polymorphisms and respiratory syncytial virus bronchiolitis in a Japanese infant population.** *Japanese journal of infectious diseases* 2011, **64**(3):242-245.
 183. Bermejo-Martin JF, Garcia-Arevalo MC, Alonso A, De Lejarazu RO, Pino M, Resino S, Tenorio A, Bernardo D, Leon AJ, Garrote JA *et al*: **Persistence of proinflammatory response after severe respiratory syncytial virus disease in children.** *The Journal of allergy and clinical immunology* 2007, **119**(6):1547-1550.
 184. Bermejo-Martin JF, Garcia-Arevalo MC, De Lejarazu RO, Ardura J, Eiros JM, Alonso A, Matias V, Pino M, Bernardo D, Arranz E *et al*: **Predominance of Th2 cytokines, CXC chemokines and innate immunity mediators at the mucosal level during severe respiratory syncytial virus infection in children.** *European cytokine network 2007*, **18**(3):162-167.
 185. Diaz PV, Gaggero AA, Pinto RA, Mamani R, Uasapud PA, Bono MR: **[Levels of inflammatory cytokines and plasma cortisol in respiratory syncytial virus bronchiolitis].** *Rev Med Chil* 2013, **141**(5):574-581.
 186. Tabarani CM, Bonville CA, Suryadevara M, Branigan P, Wang D, Huang D, Rosenberg HF, Domachowske JB: **Novel inflammatory markers, clinical risk factors and virus type associated with severe respiratory syncytial virus infection.** *The Pediatric infectious disease journal* 2013, **32**(12):e437-442.
 187. Faber TE, Groen H, Welfing M, Jansen KJ, Bont LJ: **Specific increase in local IL-17 production during recovery from primary RSV bronchiolitis.** *Journal of medical virology* 2012, **84**(7):1084-1088.
 188. van Benten IJ, van Drunen CM, Koopman LP, KleinJan A, van Middelkoop BC, de Waal L, Osterhaus AD, Neijens HJ, Fokkens WJ: **RSV-induced bronchiolitis but not upper respiratory tract infection is accompanied by an increased nasal IL-18 response.** *Journal of medical virology* 2003, **71**(2):290-297.
 189. Garofalo RP, Hintz KH, Hill V, Ogra PL, Welliver RC, Sr.: **Production of interferon gamma in respiratory syncytial virus infection of humans is not associated with interleukins 12 and 18.** *Journal of medical virology* 2004, **73**(2):289-294.

190. Mella C, Suarez-Arrabal MC, Lopez S, Stephens J, Fernandez S, Hall MW, Ramilo O, Mejias A: **Innate immune dysfunction is associated with enhanced disease severity in infants with severe respiratory syncytial virus bronchiolitis.** *The Journal of infectious diseases* 2013, **207**(4):564-573.
191. Hassan MA, Eldin AM, Ahmed MM: **T - helper2 /T - helper1 imbalance in respiratory syncytial virus bronchiolitis in relation to disease severity and outcome.** *Egypt J Immunol* 2008, **15**(2):153-160.
192. Diaz PV, Pinto RA, Mamani R, Uasapud PA, Bono MR, Gaggero AA, Guerrero J, Goecke A: **Increased expression of the glucocorticoid receptor beta in infants with RSV bronchiolitis.** *Pediatrics* 2012, **130**(4):e804-811.
193. Vieira RA, Diniz EM, Ceccon ME: **Correlation between inflammatory mediators in the nasopharyngeal secretion and in the serum of children with lower respiratory tract infection caused by respiratory syncytial virus and disease severity.** *J Bras Pneumol* 2010, **36**(1):59-66.
194. Sung RY, Hui SH, Wong CK, Lam CW, Yin J: **A comparison of cytokine responses in respiratory syncytial virus and influenza A infections in infants.** *European journal of pediatrics* 2001, **160**(2):117-122.
195. Kristjansson S, Bjarnarson SP, Wennergren G, Palsdottir AH, Arnadottir T, Haraldsson A, Jonsdottir I: **Respiratory syncytial virus and other respiratory viruses during the first 3 months of life promote a local TH2-like response.** *The Journal of allergy and clinical immunology* 2005, **116**(4):805-811.
196. Midulla F, Tromba V, Lo Russo L, Mileto F, Sabatino G, Sgarrella M, Panuska JR, Manganuzzi L, Korn D, Moretti C: **Cytokines in the nasal washes of children with respiratory syncytial virus bronchiolitis.** *International journal of immunopathology and pharmacology* 2006, **19**(1):231-235.
197. Saravia J, You D, Shrestha B, Jaligama S, Siefker D, Lee GI, Harding JN, Jones TL, Rovnaghi C, Bagga B *et al*: **Respiratory Syncytial Virus Disease Is Mediated by Age-Variable IL-33.** *PLoS pathogens* 2015, **11**(10):e1005217.
198. Kerrin A, Fitch P, Errington C, Kerr D, Waxman L, Riding K, McCormack J, Mehendele F, McSorley H, MacKenzie K *et al*: **Differential lower airway dendritic cell patterns may reveal distinct endotypes of RSV bronchiolitis.** *Thorax* 2017, **72**(7):620-627.
199. McNamara PS, Flanagan BF, Baldwin LM, Newland P, Hart CA, Smyth RL: **Interleukin 9 production in the lungs of infants with severe respiratory syncytial virus bronchiolitis.** *Lancet* 2004, **363**(9414):1031-1037.
200. Bertrand P, Lay MK, Piedimonte G, Brockmann PE, Palavecino CE, Hernandez J, Leon MA, Kalergis AM, Bueno SM: **Elevated IL-3 and IL-12p40 levels in the lower airway of infants with RSV-induced bronchiolitis correlate with recurrent wheezing.** *Cytokine* 2015, **76**(2):417-423.
201. Bennett BL, Garofalo RP, Cron SG, Hosakote YM, Atmar RL, Macias CG, Piedra PA: **Immunopathogenesis of respiratory syncytial virus bronchiolitis.** *The Journal of infectious diseases* 2007, **195**(10):1532-1540.
202. Chung HL, Kim WT, Kim JK, Choi EJ, Lee JH, Lee GH, Kim SG: **Relationship between atopic status and nasal interleukin 10 and 11 levels in infants with respiratory syncytial virus bronchiolitis.** *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology* 2005, **94**(2):267-272.
203. Sheeran P, Jafri H, Carubelli C, Saavedra J, Johnson C, Krisher K, Sanchez PJ, Ramilo O: **Elevated cytokine concentrations in the nasopharyngeal and tracheal secretions of children with respiratory syncytial virus disease.** *The Pediatric infectious disease journal* 1999, **18**(2):115-122.

204. McNamara PS, Flanagan BF, Selby AM, Hart CA, Smyth RL: **Pro- and anti-inflammatory responses in respiratory syncytial virus bronchiolitis.** *The European respiratory journal* 2004, **23**(1):106-112.
205. Diaz PV, Valdivia G, Gaggero AA, Bono MR, Zepeda G, Rivas M, Uasapud P, Pinto RA, Boza ML, Guerrero J: **Pro-Inflammatory Cytokines in Nasopharyngeal Aspirate From Hospitalized Children With Respiratory Syncytial Virus Infection With or Without Rhinovirus Bronchiolitis, and Use of the Cytokines as Predictors of Illness Severity.** *Medicine (Baltimore)* 2015, **94**(39):e1512.
206. Brandenburg AH, Kleinjan A, van Het Land B, Moll HA, Timmerman HH, de Swart RL, Neijens HJ, Fokkens W, Osterhaus AD: **Type 1-like immune response is found in children with respiratory syncytial virus infection regardless of clinical severity.** *Journal of medical virology* 2000, **62**(2):267-277.
207. Walsh EE, Peterson DR, Kalkanoglu AE, Lee FE, Falsey AR: **Viral shedding and immune responses to respiratory syncytial virus infection in older adults.** *The Journal of infectious diseases* 2013, **207**(9):1424-1432.
208. DeVincenzo JP, Wilkinson T, Vaishnav A, Cehelsky J, Meyers R, Nochur S, Harrison L, Meeking P, Mann A, Moane E *et al*: **Viral load drives disease in humans experimentally infected with respiratory syncytial virus.** *American journal of respiratory and critical care medicine* 2010, **182**(10):1305-1314.
209. Garofalo RP, Patti J, Hintz KA, Hill V, Ogra PL, Welliver RC: **Macrophage inflammatory protein-1alpha (not T helper type 2 cytokines) is associated with severe forms of respiratory syncytial virus bronchiolitis.** *The Journal of infectious diseases* 2001, **184**(4):393-399.
210. Caballero MT, Serra ME, Acosta PL, Marzec J, Gibbons L, Salim M, Rodriguez A, Reynaldi A, Garcia A, Bado D *et al*: **TLR4 genotype and environmental LPS mediate RSV bronchiolitis through Th2 polarization.** *The Journal of clinical investigation* 2015, **125**(2):571-582.
211. Park JS, Kim YH, Kwon E, Callaway Z, Fujisawa T, Kim CK: **Comparison of nasal cytokine profiles of human metapneumovirus and respiratory syncytial virus.** *Asia Pac Allergy* 2017, **7**(4):206-212.
212. Roe MF, Bloxham DM, Cowburn AS, O'Donnell DR: **Changes in helper lymphocyte chemokine receptor expression and elevation of IP-10 during acute respiratory syncytial virus infection in infants.** *Pediatric allergy and immunology : official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology* 2011, **22**(2):229-234.
213. Legg JP, Hussain IR, Warner JA, Johnston SL, Warner JO: **Type 1 and type 2 cytokine imbalance in acute respiratory syncytial virus bronchiolitis.** *American journal of respiratory and critical care medicine* 2003, **168**(6):633-639.
214. Chen ZM, Mao JH, Du LZ, Tang YM: **Association of cytokine responses with disease severity in infants with respiratory syncytial virus infection.** *Acta paediatrica* 2002, **91**(9):914-922.
215. Pancham K, Perez GF, Huseni S, Jain A, Kurdi B, Rodriguez-Martinez CE, Preciado D, Rose MC, Nino G: **Premature infants have impaired airway antiviral IFNgamma responses to human metapneumovirus compared to respiratory syncytial virus.** *Pediatric research* 2015, **78**(4):389-394.
216. Cherukuri A, Patton K, Gasser RA, Jr., Zuo F, Woo J, Esser MT, Tang RS: **Adults 65 years old and older have reduced numbers of functional memory T cells to respiratory syncytial virus fusion protein.** *Clinical and vaccine immunology : CVI* 2013, **20**(2):239-247.

217. de Bree GJ, Heidema J, van Leeuwen EM, van Bleek GM, Jonkers RE, Jansen HM, van Lier RA, Out TA: **Respiratory syncytial virus-specific CD8+ memory T cell responses in elderly persons.** *The Journal of infectious diseases* 2005, **191**(10):1710-1718.
218. Looney RJ, Falsey AR, Walsh E, Campbell D: **Effect of aging on cytokine production in response to respiratory syncytial virus infection.** *The Journal of infectious diseases* 2002, **185**(5):682-685.
219. Choi J, Callaway Z, Kim HB, Fujisawa T, Kim CK: **The role of TNF-alpha in eosinophilic inflammation associated with RSV bronchiolitis.** *Pediatric allergy and immunology : official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology* 2010, **21**(3):474-479.
220. Noah TL, Ivins SS, Murphy P, Kazachkova I, Moats-Staats B, Henderson FW: **Chemokines and inflammation in the nasal passages of infants with respiratory syncytial virus bronchiolitis.** *Clinical immunology* 2002, **104**(1):86-95.
221. Noah TL, Becker S: **Chemokines in nasal secretions of normal adults experimentally infected with respiratory syncytial virus.** *Clinical immunology* 2000, **97**(1):43-49.
222. Brand HK, Ferwerda G, Preijers F, de Groot R, Neeleman C, Staal FJ, Warris A, Hermans PW: **CD4+ T-cell counts and interleukin-8 and CCL-5 plasma concentrations discriminate disease severity in children with RSV infection.** *Pediatric research* 2013, **73**(2):187-193.
223. Smyth RL, Mobbs KJ, O'Hea U, Ashby D, Hart CA: **Respiratory syncytial virus bronchiolitis: disease severity, interleukin-8, and virus genotype.** *Pediatric pulmonology* 2002, **33**(5):339-346.
224. Smyth RL, Fletcher JN, Thomas HM, Hart CA: **Immunological responses to respiratory syncytial virus infection in infancy.** *Archives of disease in childhood* 1997, **76**(3):210-214.
225. Adams O, Weis J, Jasinska K, Vogel M, Tenenbaum T: **Comparison of human metapneumovirus, respiratory syncytial virus and Rhinovirus respiratory tract infections in young children admitted to hospital.** *Journal of medical virology* 2015, **87**(2):275-280.
226. Assefa D, Amin N, Dozor AJ, Parton LA: **Attenuated interleukin-8/leukocyte immunoreponse in preterm infants compared with term infants hospitalized with respiratory syncytial virus bronchiolitis: a pilot study.** *Human immunology* 2011, **72**(9):708-711.
227. Li B, Wu FL, Feng XB, Sun DK, Cui QQ, Zhao ZX: **[Changes and the clinical significance of CD4(+) CD25(+) regulatory T cells and Th17 cells in peripheral blood of infants with respiratory syncytial virus bronchiolitis].** *Xi bao yu fen zi mian yi xue za zhi = Chinese journal of cellular and molecular immunology* 2012, **28**(4):426-428.
228. Stoppelenburg AJ, de Roock S, Hennis MP, Bont L, Boes M: **Elevated Th17 response in infants undergoing respiratory viral infection.** *The American journal of pathology* 2014, **184**(5):1274-1279.
229. Stoppelenburg AJ, Salimi V, Hennis M, Plantinga M, Huis in 't Veld R, Walk J, Meerding J, Coenjaerts F, Bont L, Boes M: **Local IL-17A potentiates early neutrophil recruitment to the respiratory tract during severe RSV infection.** *PloS one* 2013, **8**(10):e78461.
230. Nakayama T, Sonoda S, Urano T, Sasaki K, Maehara N, Makino S: **Detection of alpha-interferon in nasopharyngeal secretions and sera in children infected with respiratory syncytial virus.** *The Pediatric infectious disease journal* 1993, **12**(11):925-929.
231. Tao T, Durbin AP, Whitehead SS, Davoodi F, Collins PL, Murphy BR: **Recovery of a fully viable chimeric human parainfluenza virus (PIV) type 3 in which the hemagglutinin-neuraminidase and fusion glycoproteins have been replaced by those of PIV type 1.** *Journal of virology* 1998, **72**(4):2955-2961.

232. Moscona A: **Interaction of human parainfluenza virus type 3 with the host cell surface.** *The Pediatric infectious disease journal* 1997, **16**(10):917-924.
233. Huberman K, Peluso RW, Moscona A: **Hemagglutinin-neuraminidase of human parainfluenza 3: role of the neuraminidase in the viral life cycle.** *Virology* 1995, **214**(1):294-300.
234. Henrickson KJ, Savatski LL: **Genetic variation and evolution of human parainfluenza virus type 1 hemagglutinin neuraminidase: analysis of 12 clinical isolates.** *The Journal of infectious diseases* 1992, **166**(5):995-1005.
235. Castleman WL, Brundage-Anguish LJ, Kreitzer L, Neuenschwander SB: **Pathogenesis of bronchiolitis and pneumonia induced in neonatal and weanling rats by parainfluenza (Sendai) virus.** *The American journal of pathology* 1987, **129**(2):277-286.
236. Zhang L, Bukreyev A, Thompson CI, Watson B, Peeples ME, Collins PL, Pickles RJ: **Infection of ciliated cells by human parainfluenza virus type 3 in an in vitro model of human airway epithelium.** *Journal of virology* 2005, **79**(2):1113-1124.
237. Porter DD, Prince GA, Hemming VG, Porter HG: **Pathogenesis of human parainfluenza virus 3 infection in two species of cotton rats: Sigmodon hispidus develops bronchiolitis, while Sigmodon fulviventer develops interstitial pneumonia.** *Journal of virology* 1991, **65**(1):103-111.
238. Welliver RC, Wong DT, Sun M, McCarthy N: **Parainfluenza virus bronchiolitis. Epidemiology and pathogenesis.** *American journal of diseases of children* 1986, **140**(1):34-40.
239. Prince GA, Porter DD: **Treatment of parainfluenza virus type 3 bronchiolitis and pneumonia in a cotton rat model using topical antibody and glucocorticosteroid.** *The Journal of infectious diseases* 1996, **173**(3):598-608.
240. Russell E, Ison MG: **Parainfluenza Virus in the Hospitalized Adult.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2017, **65**(9):1570-1576.
241. Pinana JL, Hernandez-Boluda JC, Calabuig M, Ballester I, Marin M, Madrid S, Teruel A, Terol MJ, Navarro D, Solano C: **A risk-adapted approach to treating respiratory syncytial virus and human parainfluenza virus in allogeneic stem cell transplantation recipients with oral ribavirin therapy: A pilot study.** *Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society* 2017, **19**(4).
242. Essa S, Al-Tawalah H, AlShamali S, Al-Nakib W: **The potential influence of human parainfluenza viruses detected during hospitalization among critically ill patients in Kuwait, 2013-2015.** *Virology journal* 2017, **14**(1):19.
243. Helanterä I, Anttila VJ, Loginov R, Lempinen M: **Parainfluenza 3 Infections Early After Kidney or Simultaneous Pancreas-Kidney Transplantation.** *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 2017, **17**(3):809-812.
244. Ryan S, Gillespie E, Stuart RL: **A parainfluenza virus type 3 outbreak at a residential aged care facility: The role of microbiologic testing in early identification and antimicrobial stewardship.** *American journal of infection control* 2017, **45**(2):203-205.
245. Denny FW, Jr.: **The clinical impact of human respiratory virus infections.** *American journal of respiratory and critical care medicine* 1995, **152**(4 Pt 2):S4-12.
246. Ison MG: **Respiratory viral infections in transplant recipients.** *Antiviral therapy* 2007, **12**(4 Pt B):627-638.
247. Falsey AR, Walsh EE: **Viral pneumonia in older adults.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2006, **42**(4):518-524.
248. Ng W, Rajadurai VS, Pradeepkumar VK, Tan KW, Chan KP: **Parainfluenza type 3 viral outbreak in a neonatal nursery.** *Ann Acad Med Singapore* 1999, **28**(4):471-475.

249. Moisiuk SE, Robson D, Klass L, Kliewer G, Wasyluk W, Davi M, Plourde P: **Outbreak of parainfluenza virus type 3 in an intermediate care neonatal nursery.** *The Pediatric infectious disease journal* 1998, **17**(1):49-53.
250. Meissner HC, Murray SA, Kiernan MA, Snyderman DR, McIntosh K: **A simultaneous outbreak of respiratory syncytial virus and parainfluenza virus type 3 in a newborn nursery.** *The Journal of pediatrics* 1984, **104**(5):680-684.
251. McCarthy VP, Carlile JR, Reichelderfer PS, Clark JS: **Parainfluenza type 3 in newborns.** *The Pediatric infectious disease journal* 1987, **6**(2):217-218.
252. Singh-Naz N, Willy M, Riggs N: **Outbreak of parainfluenza virus type 3 in a neonatal nursery.** *The Pediatric infectious disease journal* 1990, **9**(1):31-33.
253. Abzug MJ, Beam AC, Gyorkos EA, Levin MJ: **Viral pneumonia in the first month of life.** *The Pediatric infectious disease journal* 1990, **9**(12):881-885.
254. Abedi GR, Prill MM, Langley GE, Wikswo ME, Weinberg GA, Curns AT, Schneider E: **Estimates of Parainfluenza Virus-Associated Hospitalizations and Cost Among Children Aged Less Than 5 Years in the United States, 1998-2010.** *J Pediatric Infect Dis Soc* 2016, **5**(1):7-13.
255. Zhao H, Harris RJ, Ellis J, Donati M, Pebody RG: **Epidemiology of parainfluenza infection in England and Wales, 1998-2013: any evidence of change?** *Epidemiology and infection* 2017, **145**(6):1210-1220.
256. Horton KC, Dueger EL, Kandeel A, Abdallat M, El-Kholy A, Al-Awaidey S, Kohlani AH, Amer H, El-Khal AL, Said M *et al*: **Viral etiology, seasonality and severity of hospitalized patients with severe acute respiratory infections in the Eastern Mediterranean Region, 2007-2014.** *PloS one* 2017, **12**(7):e0180954.
257. Kim YJ, Boeckh M, Englund JA: **Community respiratory virus infections in immunocompromised patients: hematopoietic stem cell and solid organ transplant recipients, and individuals with human immunodeficiency virus infection.** *Seminars in respiratory and critical care medicine* 2007, **28**(2):222-242.
258. Nichols WG, Corey L, Gooley T, Davis C, Boeckh M: **Parainfluenza virus infections after hematopoietic stem cell transplantation: risk factors, response to antiviral therapy, and effect on transplant outcome.** *Blood* 2001, **98**(3):573-578.
259. Vilchez RA, Dauber J, McCurry K, Iacono A, Kusne S: **Parainfluenza virus infection in adult lung transplant recipients: an emergent clinical syndrome with implications on allograft function.** *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 2003, **3**(2):116-120.
260. Kumar D, Husain S, Chen MH, Moussa G, Himswoth D, Manuel O, Studer S, Pakstis D, McCurry K, Doucette K *et al*: **A prospective molecular surveillance study evaluating the clinical impact of community-acquired respiratory viruses in lung transplant recipients.** *Transplantation* 2010, **89**(8):1028-1033.
261. Campbell AP, Chien JW, Kuypers J, Englund JA, Wald A, Guthrie KA, Corey L, Boeckh M: **Respiratory virus pneumonia after hematopoietic cell transplantation (HCT): associations between viral load in bronchoalveolar lavage samples, viral RNA detection in serum samples, and clinical outcomes of HCT.** *The Journal of infectious diseases* 2010, **201**(9):1404-1413.
262. Weinberg A, Lyu DM, Li S, Marquesen J, Zamora MR: **Incidence and morbidity of human metapneumovirus and other community-acquired respiratory viruses in lung transplant recipients.** *Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society* 2010, **12**(4):330-335.
263. Chemaly RF, Hanmod SS, Rathod DB, Ghantaji SS, Jiang Y, Doshi A, Vigil K, Adachi JA, Khoury AM, Tarrand J *et al*: **The characteristics and outcomes of parainfluenza virus**

- infections in 200 patients with leukemia or recipients of hematopoietic stem cell transplantation.** *Blood* 2012, **119**(12):2738-2745; quiz 2969.
264. Whimbey E, Bodey GP: **Viral pneumonia in the immunocompromised adult with neoplastic disease: the role of common community respiratory viruses.** *Semin Respir Infect* 1992, **7**(2):122-131.
265. Johnstone J, Majumdar SR, Fox JD, Marrie TJ: **Viral infection in adults hospitalized with community-acquired pneumonia: prevalence, pathogens, and presentation.** *Chest* 2008, **134**(6):1141-1148.
266. Angeles Marcos M, Camps M, Pumarola T, Antonio Martinez J, Martinez E, Mensa J, Garcia E, Penarroja G, Dambrava P, Casas I *et al*: **The role of viruses in the aetiology of community-acquired pneumonia in adults.** *Antiviral therapy* 2006, **11**(3):351-359.
267. Diederens BM, Van Der Eerden MM, Vlaspoolder F, Boersma WG, Kluytmans JA, Peeters MF: **Detection of respiratory viruses and Legionella spp. by real-time polymerase chain reaction in patients with community acquired pneumonia.** *Scandinavian journal of infectious diseases* 2009, **41**(1):45-50.
268. Hodson A, Kasliwal M, Streetly M, MacMahon E, Raj K: **A parainfluenza-3 outbreak in a SCT unit: sepsis with multi-organ failure and multiple co-pathogens are associated with increased mortality.** *Bone marrow transplantation* 2011, **46**(12):1545-1550.
269. Lewis VA, Champlin R, Englund J, Couch R, Goodrich JM, Rolston K, Przepiorka D, Mirza NQ, Yousuf HM, Luna M *et al*: **Respiratory disease due to parainfluenza virus in adult bone marrow transplant recipients.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 1996, **23**(5):1033-1037.
270. Abbas S, Raybould JE, Sastry S, de la Cruz O: **Respiratory viruses in transplant recipients: more than just a cold. Clinical syndromes and infection prevention principles.** *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases* 2017, **62**:86-93.
271. Maziarz RT, Sridharan P, Slater S, Meyers G, Post M, Erdman DD, Peret TC, Taplitz RA: **Control of an outbreak of human parainfluenza virus 3 in hematopoietic stem cell transplant recipients.** *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation* 2010, **16**(2):192-198.
272. Khalifah AP, Hachem RR, Chakinala MM, Schechtman KB, Patterson GA, Schuster DP, Mohanakumar T, Trulock EP, Walter MJ: **Respiratory viral infections are a distinct risk for bronchiolitis obliterans syndrome and death.** *American journal of respiratory and critical care medicine* 2004, **170**(2):181-187.
273. Billings JL, Hertz MI, Savik K, Wendt CH: **Respiratory viruses and chronic rejection in lung transplant recipients.** *The Journal of heart and lung transplantation : the official publication of the International Society for Heart Transplantation* 2002, **21**(5):559-566.
274. Fry AM, Curns AT, Harbour K, Hutwagner L, Holman RC, Anderson LJ: **Seasonal trends of human parainfluenza viral infections: United States, 1990-2004.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2006, **43**(8):1016-1022.
275. Senchi K, Matsunaga S, Hasegawa H, Kimura H, Ryo A: **Development of oligomannose-coated liposome-based nasal vaccine against human parainfluenza virus type 3.** *Frontiers in microbiology* 2013, **4**:346.
276. Liu WK, Liu Q, Chen DH, Liang HX, Chen XK, Huang WB, Qin S, Yang ZF, Zhou R: **Epidemiology and clinical presentation of the four human parainfluenza virus types.** *BMC infectious diseases* 2013, **13**:28.
277. Matsuse H, Kondo Y, Saeki S, Nakata H, Fukushima C, Mizuta Y, Kohno S: **Naturally occurring parainfluenza virus 3 infection in adults induces mild exacerbation of**

- asthma associated with increased sputum concentrations of cysteinyl leukotrienes.** *International archives of allergy and immunology* 2005, **138**(3):267-272.
278. Johnston NW: **The similarities and differences of epidemic cycles of chronic obstructive pulmonary disease and asthma exacerbations.** *Proc Am Thorac Soc* 2007, **4**(8):591-596.
279. Hansbro NG, Horvat JC, Wark PA, Hansbro PM: **Understanding the mechanisms of viral induced asthma: new therapeutic directions.** *Pharmacology & therapeutics* 2008, **117**(3):313-353.
280. Arisoy ES, Demmler GJ, Thakar S, Doerr C: **Meningitis due to parainfluenza virus type 3: report of two cases and review.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 1993, **17**(6):995-997.
281. Wilks D, Burns SM: **Myopericarditis associated with parainfluenza virus type 3 infection.** *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology* 1998, **17**(5):363-365.
282. Roman G, Phillips CA, Poser CM: **Parainfluenza virus type 3: isolation from CSF of a patient with Guillain-Barre syndrome.** *Jama* 1978, **240**(15):1613-1615.
283. Juozapaitis M, Zvirbliene A, Kucinskaite I, Sezaite I, Slibinskas R, Coiras M, de Ory Manchon F, Lopez-Huertas MR, Perez-Brena P, Stanilius J *et al*: **Synthesis of recombinant human parainfluenza virus 1 and 3 nucleocapsid proteins in yeast *Saccharomyces cerevisiae*.** *Virus research* 2008, **133**(2):178-186.
284. Kuypers J, Campbell AP, Cent A, Corey L, Boeckh M: **Comparison of conventional and molecular detection of respiratory viruses in hematopoietic cell transplant recipients.** *Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society* 2009, **11**(4):298-303.
285. Yoo SJ, Kuak EY, Shin BM: **Detection of 12 respiratory viruses with two-set multiplex reverse transcriptase-PCR assay using a dual priming oligonucleotide system.** *The Korean journal of laboratory medicine* 2007, **27**(6):420-427.
286. Brittain-Long R, Andersson LM, Olofsson S, Lindh M, Westin J: **Seasonal variations of 15 respiratory agents illustrated by the application of a multiplex polymerase chain reaction assay.** *Scandinavian journal of infectious diseases* 2012, **44**(1):9-17.
287. van de Pol AC, Wolfs TF, Jansen NJ, van Loon AM, Rossen JW: **Diagnostic value of real-time polymerase chain reaction to detect viruses in young children admitted to the paediatric intensive care unit with lower respiratory tract infection.** *Critical care* 2006, **10**(2):R61.
288. Wu KW, Wang SM, Shen CF, Ho TS, Wang JR, Liu CC: **Clinical and epidemiological characteristics of human parainfluenza virus infections of children in southern Taiwan.** *Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi* 2017.
289. Ko DH, Kim HS, Hyun J, Kim HS, Kim JS, Park KU, Song W: **Comparison of the Luminex xTAG Respiratory Viral Panel Fast v2 Assay With Anyplex II RV16 Detection Kit and AdvanSure RV Real-Time RT-PCR Assay for the Detection of Respiratory Viruses.** *Ann Lab Med* 2017, **37**(5):408-414.
290. Lee CK, Lee HK, Ng CW, Chiu L, Tang JW, Loh TP, Koay ES: **Comparison of Luminex NxTAG Respiratory Pathogen Panel and xTAG Respiratory Viral Panel FAST Version 2 for the Detection of Respiratory Viruses.** *Ann Lab Med* 2017, **37**(3):267-271.
291. Gwaltney JM, Jr., Scheld WM, Sande MA, Sydnor A: **The microbial etiology and antimicrobial therapy of adults with acute community-acquired sinusitis: a fifteen-year experience at the University of Virginia and review of other selected studies.** *The Journal of allergy and clinical immunology* 1992, **90**(3 Pt 2):457-461; discussion 462.

292. **Karron RA and Collins PL. Knipe DM; Howley PM; Griffin DE; Martin MA; Lamb RA; Roizman B; Strauss SE. 5th. Field's Virology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. 1497-1527. .**
293. Schomacker H, Schaap-Nutt A, Collins PL, Schmidt AC: **Pathogenesis of acute respiratory illness caused by human parainfluenza viruses.** *Current opinion in virology* 2012, **2**(3):294-299.
294. Burke CW, Bridges O, Brown S, Rahija R, Russell CJ: **Mode of parainfluenza virus transmission determines the dynamics of primary infection and protection from reinfection.** *PLoS pathogens* 2013, **9**(11):e1003786.
295. Aguayo-Hiraldo PI, Arasaratnam RJ, Tzannou I, Kuvalekar M, Lulla P, Naik S, Martinez CA, Piedra PA, Vera JF, Leen AM: **Characterizing the Cellular Immune Response to Parainfluenza Virus 3.** *The Journal of infectious diseases* 2017, **216**(2):153-161.
296. Tabain I, Ljubin-Sternak S, Cepin-Bogovic J, Markovinovic L, Knezovic I, Mlinaric-Galinovic G: **Adenovirus respiratory infections in hospitalized children: clinical findings in relation to species and serotypes.** *The Pediatric infectious disease journal* 2012, **31**(7):680-684.
297. Thaci B, Ulasov IV, Wainwright DA, Lesniak MS: **The challenge for gene therapy: innate immune response to adenoviruses.** *Oncotarget* 2011, **2**(3):113-121.
298. Sdiri-Loulizi K, Gharbi-Khelifi H, de Rougemont A, Hassine M, Chouchane S, Sakly N, Pothier P, Guediche MN, Aouni M, Ambert-Balay K: **Molecular epidemiology of human astrovirus and adenovirus serotypes 40/41 strains related to acute diarrhea in Tunisian children.** *Journal of medical virology* 2009, **81**(11):1895-1902.
299. Kopecky-Bromberg SA, Palese P: **Recombinant vectors as influenza vaccines.** *Current topics in microbiology and immunology* 2009, **333**:243-267.
300. Harvey AR, Hellstrom M, Rodger J: **Gene therapy and transplantation in the retinofugal pathway.** *Prog Brain Res* 2009, **175**:151-161.
301. Limbach KJ, Richie TL: **Viral vectors in malaria vaccine development.** *Parasite immunology* 2009, **31**(9):501-519.
302. Echavarria M: **Adenoviruses in immunocompromised hosts.** *Clinical microbiology reviews* 2008, **21**(4):704-715.
303. Faden H, Wynn RJ, Campagna L, Ryan RM: **Outbreak of adenovirus type 30 in a neonatal intensive care unit.** *The Journal of pediatrics* 2005, **146**(4):523-527.
304. Claas EC, Schilham MW, de Brouwer CS, Hubacek P, Echavarria M, Lankester AC, van Tol MJ, Kroes AC: **Internally controlled real-time PCR monitoring of adenovirus DNA load in serum or plasma of transplant recipients.** *Journal of clinical microbiology* 2005, **43**(4):1738-1744.
305. Damen M, Minnaar R, Glasius P, van der Ham A, Koen G, Wertheim P, Beld M: **Real-time PCR with an internal control for detection of all known human adenovirus serotypes.** *Journal of clinical microbiology* 2008, **46**(12):3997-4003.
306. Echavarria M, Forman M, van Tol MJ, Vossen JM, Charache P, Kroes AC: **Prediction of severe disseminated adenovirus infection by serum PCR.** *Lancet* 2001, **358**(9279):384-385.
307. Hara M, Takao S, Shimazu Y: **Comparison of throat swab and nasopharyngeal aspirate specimens for rapid detection of adenovirus.** *Diagn Microbiol Infect Dis* 2015, **82**(2):135-136.
308. Echavarria M, Sanchez JL, Kolavic-Gray SA, Polyak CS, Mitchell-Raymundo F, Innis BL, Vaughn D, Reynolds R, Binn LN: **Rapid detection of adenovirus in throat swab specimens by PCR during respiratory disease outbreaks among military recruits.** *Journal of clinical microbiology* 2003, **41**(2):810-812.

309. Kodama E, Shigeta S, Suzuki T, De Clercq E: **Application of a gastric cancer cell line (MKN-28) for anti-adenovirus screening using the MTT method.** *Antiviral research* 1996, **31**(3):159-164.
310. Heim A, Ebneth C, Harste G, Pring-Akerblom P: **Rapid and quantitative detection of human adenovirus DNA by real-time PCR.** *Journal of medical virology* 2003, **70**(2):228-239.
311. Lion T, Baumgartinger R, Watzinger F, Matthes-Martin S, Suda M, Preuner S, Futterknecht B, Lawitschka A, Peters C, Potschger U *et al*: **Molecular monitoring of adenovirus in peripheral blood after allogeneic bone marrow transplantation permits early diagnosis of disseminated disease.** *Blood* 2003, **102**(3):1114-1120.
312. Leruez-Ville M, Minard V, Lacaille F, Buzyn A, Abachin E, Blanche S, Freymuth F, Rouzioux C: **Real-time blood plasma polymerase chain reaction for management of disseminated adenovirus infection.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2004, **38**(1):45-52.
313. Neofytos D, Ojha A, Mookerjee B, Wagner J, Filicko J, Ferber A, Dessain S, Grosso D, Brunner J, Flomenberg N *et al*: **Treatment of adenovirus disease in stem cell transplant recipients with cidofovir.** *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation* 2007, **13**(1):74-81.
314. Lankester AC, Heemskerk B, Claas EC, Schilham MW, Beersma MF, Bredius RG, van Tol MJ, Kroes AC: **Effect of ribavirin on the plasma viral DNA load in patients with disseminating adenovirus infection.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2004, **38**(11):1521-1525.
315. Lankester AC, van Tol MJ, Claas EC, Vossen JM, Kroes AC: **Quantification of adenovirus DNA in plasma for management of infection in stem cell graft recipients.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2002, **34**(6):864-867.
316. Yusuf U, Hale GA, Carr J, Gu Z, Benaim E, Woodard P, Kasow KA, Horwitz EM, Leung W, Srivastava DK *et al*: **Cidofovir for the treatment of adenoviral infection in pediatric hematopoietic stem cell transplant patients.** *Transplantation* 2006, **81**(10):1398-1404.
317. Serrano RM, Darragh RK, Parent JJ: **Successful treatment of disseminated adenovirus infection with cidofovir and intravenous immunoglobulin in an infant following heart transplant.** *Cardiology in the young* 2018, **28**(6):888-889.
318. Refaat M, McNamara D, Teuteberg J, Kormos R, McCurry K, Shullo M, Toyoda Y, Bermudez C: **Successful cidofovir treatment in an adult heart transplant recipient with severe adenovirus pneumonia.** *The Journal of heart and lung transplantation : the official publication of the International Society for Heart Transplantation* 2008, **27**(6):699-700.
319. Averbuch D, Safadi R, Dar D, Wolf D, Cherniak M, Sorek R, Amit S: **Successful Brincidofovir Treatment of Metagenomics-Detected Adenovirus Infection in a Severely Ill STAT1-Deficient Patient.** *The Pediatric infectious disease journal* 2018.
320. Ramsay ID, Attwood C, Irish D, Griffiths PD, Kyriakou C, Lowe DM: **Disseminated adenovirus infection after allogeneic stem cell transplant and the potential role of brincidofovir - Case series and 10 year experience of management in an adult transplant cohort.** *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2017, **96**:73-79.
321. Toth K, Tollefson AE, Spencer JF, Ying B, Wold WSM: **Combination therapy with brincidofovir and valganciclovir against species C adenovirus infection in the immunosuppressed Syrian hamster model allows for substantial reduction of dose for both compounds.** *Antiviral research* 2017, **146**:121-129.

322. Hiwarkar P, Amrolia P, Sivaprakasam P, Lum SH, Doss H, O'Rafferty C, Petterson T, Patrick K, Silva J, Slatter M *et al*: **Brincidofovir is highly efficacious in controlling adenoviremia in pediatric recipients of hematopoietic cell transplant.** *Blood* 2017, **129**(14):2033-2037.
323. Chen RF, Lee CY: **Adenoviruses types, cell receptors and local innate cytokines in adenovirus infection.** *International reviews of immunology* 2014, **33**(1):45-53.
324. Hendrickx R, Stichling N, Koelen J, Kuryk L, Lipiec A, Greber UF: **Innate immunity to adenovirus.** *Human gene therapy* 2014, **25**(4):265-284.
325. Gregory SM, Nazir SA, Metcalf JP: **Implications of the innate immune response to adenovirus and adenoviral vectors.** *Future virology* 2011, **6**(3):357-374.
326. Nazir SA, Metcalf JP: **Innate immune response to adenovirus.** *Journal of investigative medicine : the official publication of the American Federation for Clinical Research* 2005, **53**(6):292-304.
327. Zhang P, Summer WR, Bagby GJ, Nelson S: **Innate immunity and pulmonary host defense.** *Immunological reviews* 2000, **173**:39-51.
328. Zsengeller Z, Otake K, Hossain SA, Berclaz PY, Trapnell BC: **Internalization of adenovirus by alveolar macrophages initiates early proinflammatory signaling during acute respiratory tract infection.** *Journal of virology* 2000, **74**(20):9655-9667.
329. Teigler JE, Iampietro MJ, Barouch DH: **Vaccination with adenovirus serotypes 35, 26, and 48 elicits higher levels of innate cytokine responses than adenovirus serotype 5 in rhesus monkeys.** *Journal of virology* 2012, **86**(18):9590-9598.
330. Moro MR, Bonville CA, Suryadevara M, Cummings E, Faddoul D, Kobayaa H, Branigan PJ, Domachowske JB: **Clinical features, adenovirus types, and local production of inflammatory mediators in adenovirus infections.** *The Pediatric infectious disease journal* 2009, **28**(5):376-380.
331. Diaz PV, Calhoun WJ, Hinton KL, Avendano LF, Gaggero A, Simon V, Arredondo SM, Pinto R, Diaz A: **Differential effects of respiratory syncytial virus and adenovirus on mononuclear cell cytokine responses.** *American journal of respiratory and critical care medicine* 1999, **160**(4):1157-1164.
332. Pitkaranta A, Hovi T: **Induction of interferon in human leukocyte cultures by natural pathogenic respiratory viruses.** *Journal of interferon research* 1993, **13**(6):423-426.
333. Pitkaranta A, Linnavuori K, Hovi T: **Virus-induced interferon production in human leukocytes: a low responder to one virus can be a high responder to another virus.** *Journal of interferon research* 1991, **11**(1):17-23.
334. Weber F, Wagner V, Kessler N, Haller O: **Induction of interferon synthesis by the PKR-inhibitory VA RNAs of adenoviruses.** *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research* 2006, **26**(1):1-7.
335. Schaack J: **Induction and inhibition of innate inflammatory responses by adenovirus early region proteins.** *Viral immunology* 2005, **18**(1):79-88.
336. Pahl JH, Verhoeven DH, Kwappenberg KM, Vellinga J, Lankester AC, van Tol MJ, Schilham MW: **Adenovirus type 35, but not type 5, stimulates NK cell activation via plasmacytoid dendritic cells and TLR9 signaling.** *Molecular immunology* 2012, **51**(1):91-100.
337. Leopold PL, Wendland RL, Vincent T, Crystal RG: **Neutralized adenovirus-immune complexes can mediate effective gene transfer via an Fc receptor-dependent infection pathway.** *Journal of virology* 2006, **80**(20):10237-10247.
338. van den Hoogen BG, de Jong JC, Groen J, Kuiken T, de Groot R, Fouchier RA, Osterhaus AD: **A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease.** *Nature medicine* 2001, **7**(6):719-724.

339. Feuillet F, Lina B, Rosa-Calatrava M, Boivin G: **Ten years of human metapneumovirus research.** *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2012, **53**(2):97-105.
340. Peret TC, Boivin G, Li Y, Couillard M, Humphrey C, Osterhaus AD, Erdman DD, Anderson LJ: **Characterization of human metapneumoviruses isolated from patients in North America.** *The Journal of infectious diseases* 2002, **185**(11):1660-1663.
341. Panda S, Mohakud NK, Pena L, Kumar S: **Human metapneumovirus: review of an important respiratory pathogen.** *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases* 2014, **25**:45-52.
342. Falsey AR, Erdman D, Anderson LJ, Walsh EE: **Human metapneumovirus infections in young and elderly adults.** *The Journal of infectious diseases* 2003, **187**(5):785-790.
343. Rohde G, Borg I, Arinir U, Kronsbein J, Rausse R, Bauer TT, Bufe A, Schultze-Werninghaus G: **Relevance of human metapneumovirus in exacerbations of COPD.** *Respiratory research* 2005, **6**:150.
344. McManus TE, Marley AM, Baxter N, Christie SN, O'Neill HJ, Elborn JS, Coyle PV, Kidney JC: **Respiratory viral infection in exacerbations of COPD.** *Respiratory medicine* 2008, **102**(11):1575-1580.
345. Boivin G, Abed Y, Pelletier G, Ruel L, Moisan D, Cote S, Peret TC, Erdman DD, Anderson LJ: **Virological features and clinical manifestations associated with human metapneumovirus: a new paramyxovirus responsible for acute respiratory-tract infections in all age groups.** *The Journal of infectious diseases* 2002, **186**(9):1330-1334.
346. Schildgen O, Geikowski T, Glatzel T, Schuster J, Simon A: **Frequency of human metapneumovirus in the upper respiratory tract of children with symptoms of an acute otitis media.** *European journal of pediatrics* 2005, **164**(6):400-401.
347. Suzuki A, Watanabe O, Okamoto M, Endo H, Yano H, Suetake M, Nishimura H: **Detection of human metapneumovirus from children with acute otitis media.** *The Pediatric infectious disease journal* 2005, **24**(7):655-657.
348. Jartti T, van den Hoogen B, Garofalo RP, Osterhaus AD, Ruuskanen O: **Metapneumovirus and acute wheezing in children.** *Lancet* 2002, **360**(9343):1393-1394.
349. Williams JV, Wang CK, Yang CF, Tollefson SJ, House FS, Heck JM, Chu M, Brown JB, Lintao LD, Quinto JD *et al*: **The role of human metapneumovirus in upper respiratory tract infections in children: a 20-year experience.** *The Journal of infectious diseases* 2006, **193**(3):387-395.
350. Williams JV, Edwards KM, Weinberg GA, Griffin MR, Hall CB, Zhu Y, Szilagyi PG, Wang CK, Yang CF, Silva D *et al*: **Population-based incidence of human metapneumovirus infection among hospitalized children.** *The Journal of infectious diseases* 2010, **201**(12):1890-1898.
351. Williams JV, Harris PA, Tollefson SJ, Halburnt-Rush LL, Pingsterhaus JM, Edwards KM, Wright PF, Crowe JE, Jr.: **Human metapneumovirus and lower respiratory tract disease in otherwise healthy infants and children.** *The New England journal of medicine* 2004, **350**(5):443-450.
352. Broughton S, Sylvester KP, Fox G, Zuckerman M, Smith M, Milner AD, Rafferty GF, Greenough A: **Lung function in prematurely born infants after viral lower respiratory tract infections.** *The Pediatric infectious disease journal* 2007, **26**(11):1019-1024.
353. Yang Z, Suzuki A, Watanabe O, Okamoto M, Ohmi A, Huang W, Nishimura H: **Outbreak of human metapneumovirus infection in a severe motor-and-intellectual disabilities ward in Japan.** *Japanese journal of infectious diseases* 2014, **67**(4):318-321.

354. Englund JA, Boeckh M, Kuypers J, Nichols WG, Hackman RC, Morrow RA, Fredricks DN, Corey L: **Brief communication: fatal human metapneumovirus infection in stem-cell transplant recipients.** *Annals of internal medicine* 2006, **144**(5):344-349.
355. Williams JV, Martino R, Rabella N, Otegui M, Parody R, Heck JM, Crowe JE, Jr.: **A prospective study comparing human metapneumovirus with other respiratory viruses in adults with hematologic malignancies and respiratory tract infections.** *The Journal of infectious diseases* 2005, **192**(6):1061-1065.
356. Hopkins P, McNeil K, Kermeen F, Musk M, McQueen E, Mackay I, Sloots T, Nissen M: **Human metapneumovirus in lung transplant recipients and comparison to respiratory syncytial virus.** *American journal of respiratory and critical care medicine* 2008, **178**(8):876-881.
357. Leung J, Esper F, Weibel C, Kahn JS: **Seroepidemiology of human metapneumovirus (hMPV) on the basis of a novel enzyme-linked immunosorbent assay utilizing hMPV fusion protein expressed in recombinant vesicular stomatitis virus.** *Journal of clinical microbiology* 2005, **43**(3):1213-1219.
358. Matsuzaki Y, Itagaki T, Abiko C, Aoki Y, Suto A, Mizuta K: **Clinical impact of human metapneumovirus genotypes and genotype-specific seroprevalence in Yamagata, Japan.** *Journal of medical virology* 2008, **80**(6):1084-1089.
359. Ebihara T, Endo R, Kikuta H, Ishiguro N, Yoshioka M, Ma X, Kobayashi K: **Seroprevalence of human metapneumovirus in Japan.** *Journal of medical virology* 2003, **70**(2):281-283.
360. Wyde PR, Chetty SN, Jewell AM, Boivin G, Piedra PA: **Comparison of the inhibition of human metapneumovirus and respiratory syncytial virus by ribavirin and immune serum globulin in vitro.** *Antiviral research* 2003, **60**(1):51-59.
361. Hamelin ME, Prince GA, Boivin G: **Effect of ribavirin and glucocorticoid treatment in a mouse model of human metapneumovirus infection.** *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2006, **50**(2):774-777.
362. Wilkesmann A, Schildgen O, Eis-Hubinger AM, Geikowski T, Glatzel T, Lentze MJ, Bode U, Simon A: **Human metapneumovirus infections cause similar symptoms and clinical severity as respiratory syncytial virus infections.** *European journal of pediatrics* 2006, **165**(7):467-475.
363. Kitanovski L, Kopriva S, Pokorn M, Dolnicar MB, Rajic V, Stefanovic M, Jazbec J: **Treatment of severe human metapneumovirus (hMPV) pneumonia in an immunocompromised child with oral ribavirin and IVIG.** *J Pediatr Hematol Oncol* 2013, **35**(7):e311-313.
364. Andrejeva J, Childs KS, Young DF, Carlos TS, Stock N, Goodbourn S, Randall RE: **The V proteins of paramyxoviruses bind the IFN-inducible RNA helicase, mda-5, and inhibit its activation of the IFN-beta promoter.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2004, **101**(49):17264-17269.
365. Horvath CM: **Silencing STATs: lessons from paramyxovirus interferon evasion.** *Cytokine & growth factor reviews* 2004, **15**(2-3):117-127.
366. Horvath CM: **Weapons of STAT destruction. Interferon evasion by paramyxovirus V protein.** *European journal of biochemistry / FEBS* 2004, **271**(23-24):4621-4628.
367. Bao X, Liu T, Spetch L, Kolli D, Garofalo RP, Casola A: **Airway epithelial cell response to human metapneumovirus infection.** *Virology* 2007, **368**(1):91-101.
368. Dinwiddie DL, Harrod KS: **Human metapneumovirus inhibits IFN-alpha signaling through inhibition of STAT1 phosphorylation.** *American journal of respiratory cell and molecular biology* 2008, **38**(6):661-670.
369. Chen Y, Deng X, Deng J, Zhou J, Ren Y, Liu S, Prusak DJ, Wood TG, Bao X: **Functional motifs responsible for human metapneumovirus M2-2-mediated innate immune evasion.** *Virology* 2016, **499**:361-368.

370. Ren J, Liu G, Go J, Kolli D, Zhang G, Bao X: **Human metapneumovirus M2-2 protein inhibits innate immune response in monocyte-derived dendritic cells.** *PLoS one* 2014, **9**(3):e91865.
371. Ren J, Kolli D, Liu T, Xu R, Garofalo RP, Casola A, Bao X: **Human metapneumovirus inhibits IFN-beta signaling by downregulating Jak1 and Tyk2 cellular levels.** *PLoS one* 2011, **6**(9):e24496.
372. Kolli D, Bao X, Casola A: **Human metapneumovirus antagonism of innate immune responses.** *Viruses* 2012, **4**(12):3551-3571.
373. Laham FR, Israele V, Casellas JM, Garcia AM, Lac Prugent CM, Hoffman SJ, Hauer D, Thumar B, Name MI, Pascual A *et al*: **Differential production of inflammatory cytokines in primary infection with human metapneumovirus and with other common respiratory viruses of infancy.** *The Journal of infectious diseases* 2004, **189**(11):2047-2056.
374. Melendi GA, Laham FR, Monsalvo AC, Casellas JM, Israele V, Polack NR, Kleeberger SR, Polack FP: **Cytokine profiles in the respiratory tract during primary infection with human metapneumovirus, respiratory syncytial virus, or influenza virus in infants.** *Pediatrics* 2007, **120**(2):e410-415.
375. Skiadopoulos MH, Biacchesi S, Buchholz UJ, Riggs JM, Surman SR, Amaro-Carambot E, McAuliffe JM, Elkins WR, St Claire M, Collins PL *et al*: **The two major human metapneumovirus genetic lineages are highly related antigenically, and the fusion (F) protein is a major contributor to this antigenic relatedness.** *Journal of virology* 2004, **78**(13):6927-6937.
376. Kuiken T, van den Hoogen BG, van Riel DA, Laman JD, van Amerongen G, Sprong L, Fouchier RA, Osterhaus AD: **Experimental human metapneumovirus infection of cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*) results in virus replication in ciliated epithelial cells and pneumocytes with associated lesions throughout the respiratory tract.** *The American journal of pathology* 2004, **164**(6):1893-1900.
377. Williams JV, Tollefson SJ, Johnson JE, Crowe JE, Jr.: **The cotton rat (*Sigmodon hispidus*) is a permissive small animal model of human metapneumovirus infection, pathogenesis, and protective immunity.** *Journal of virology* 2005, **79**(17):10944-10951.
378. Wyde PR, Chetty SN, Jewell AM, Schoonover SL, Piedra PA: **Development of a cotton rat-human metapneumovirus (hMPV) model for identifying and evaluating potential hMPV antivirals and vaccines.** *Antiviral research* 2005, **66**(1):57-66.
379. Alvarez R, Harrod KS, Shieh WJ, Zaki S, Tripp RA: **Human metapneumovirus persists in BALB/c mice despite the presence of neutralizing antibodies.** *Journal of virology* 2004, **78**(24):14003-14011.
380. Guerrero-Plata A, Baron S, Poast JS, Adegboyega PA, Casola A, Garofalo RP: **Activity and regulation of alpha interferon in respiratory syncytial virus and human metapneumovirus experimental infections.** *Journal of virology* 2005, **79**(16):10190-10199.
381. Alvarez R, Tripp RA: **The immune response to human metapneumovirus is associated with aberrant immunity and impaired virus clearance in BALB/c mice.** *Journal of virology* 2005, **79**(10):5971-5978.
382. Bosis S, Esposito S, Osterhaus AD, Tremolati E, Begliatti E, Tagliabue C, Corti F, Principi N, Niesters HG: **Association between high nasopharyngeal viral load and disease severity in children with human metapneumovirus infection.** *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2008, **42**(3):286-290.

383. Martin ET, Kuypers J, Heugel J, Englund JA: **Clinical disease and viral load in children infected with respiratory syncytial virus or human metapneumovirus.** *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008, **62**(4):382-388.
384. Lusebrink J, Wittleben F, Schildgen V, Schildgen O: **Human bocavirus - insights into a newly identified respiratory virus.** *Viruses* 2009, **1**(1):3-12.
385. Allander T, Jartti T, Gupta S, Niesters HG, Lehtinen P, Osterback R, Vuorinen T, Waris M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A *et al*: **Human bocavirus and acute wheezing in children.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2007, **44**(7):904-910.
386. Babkin IV, Tyumentsev AI, Tikunov AY, Zhirakovskaia EV, Netesov SV, Tikunova NV: **A study of the human bocavirus replicative genome structures.** *Virus research* 2015, **195**:196-202.
387. Qi ZY, Qu XW, Liu WP, Xie ZP, Gao HC, Zheng LS, Kuang ZZ, Yu JP, Duan ZJ: **[Genome cloning and phylogenetic analysis of human bocavirus capsid gene].** *Bing du xue bao = Chinese journal of virology / [bian ji, Bing du xue bao bian ji wei yuan hui]* 2007, **23**(6):447-453.
388. Lin F, Hou JY, Zheng MQ, Wu F, Zeng AP, Li H, Zheng CH, Chen H, Li XY, Rao GF *et al*: **[Characterization of the cytopathic effect in human bronchial epithelial cell after Human Bocavirus Infection (HBoV)].** *Zhonghua shi yan he lin chuang bing du xue za zhi = Zhonghua shiyan he linchuang bingduxue zazhi = Chinese journal of experimental and clinical virology* 2008, **22**(2):107-109.
389. Deng X, Yan Z, Luo Y, Xu J, Cheng F, Li Y, Engelhardt JF, Qiu J: **In vitro modeling of human bocavirus 1 infection of polarized primary human airway epithelia.** *Journal of virology* 2013.
390. Naghipour M, Cuevas LE, Bakhshinejad T, Dove W, Hart CA: **Human bocavirus in Iranian children with acute respiratory infections.** *Journal of medical virology* 2007, **79**(5):539-543.
391. Volz S, Schildgen O, Muller A, Tillmann RL, Eis-Hubinger AM, Kupfer B, Bode U, Lentze ML, Simon A: **[The human bocavirus: pathogen in airway infections?].** *Dtsch Med Wochenschr* 2007, **132**(28-29):1529-1533.
392. Wang Y, Gonzalez R, Zhou H, Li J, Li Y, Paranhos-Baccala G, Vernet G, Guo L, Wang J: **Detection of human bocavirus 3 in China.** *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology* 2011, **30**(6):799-805.
393. Arnold JC, Singh KK, Spector SA, Sawyer MH: **Human bocavirus: prevalence and clinical spectrum at a children's hospital.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2006, **43**(3):283-288.
394. Sloots TP, McErlean P, Speicher DJ, Arden KE, Nissen MD, Mackay IM: **Evidence of human coronavirus HKU1 and human bocavirus in Australian children.** *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2006, **35**(1):99-102.
395. Kesebir D, Vazquez M, Weibel C, Shapiro ED, Ferguson D, Landry ML, Kahn JS: **Human bocavirus infection in young children in the United States: molecular epidemiological profile and clinical characteristics of a newly emerging respiratory virus.** *The Journal of infectious diseases* 2006, **194**(9):1276-1282.
396. Pozo F, Garcia-Garcia ML, Calvo C, Cuesta I, Perez-Brena P, Casas I: **High incidence of human bocavirus infection in children in Spain.** *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2007, **40**(3):224-228.
397. Bharaj P, Sullender WM, Kabra SK, Broor S: **Human bocavirus infection in children with acute respiratory tract infection in India.** *Journal of medical virology* 2010, **82**(5):812-816.

398. Ghietto LM, Camara A, Camara J, Adamo MP: **High frequency of human bocavirus 1 DNA in infants and adults with lower acute respiratory infection.** *Journal of medical microbiology* 2012, **61**(Pt 4):548-551.
399. Garcia-Garcia ML, Calvo C, Pozo F, Villadangos PA, Perez-Brena P, Casas I: **Spectrum of respiratory viruses in children with community-acquired pneumonia.** *The Pediatric infectious disease journal* 2012, **31**(8):808-813.
400. Garcia-Garcia ML, Calvo C, Pozo F, Perez-Brena P, Quevedo S, Bracamonte T, Casas I: **Human bocavirus detection in nasopharyngeal aspirates of children without clinical symptoms of respiratory infection.** *The Pediatric infectious disease journal* 2008, **27**(4):358-360.
401. Endo R, Ishiguro N, Kikuta H, Teramoto S, Shirkoohi R, Ma X, Ebihara T, Ishiko H, Ariga T: **Seroepidemiology of human bocavirus in Hokkaido prefecture, Japan.** *Journal of clinical microbiology* 2007, **45**(10):3218-3223.
402. von Linstow ML, Hogh M, Hogh B: **Clinical and epidemiologic characteristics of human bocavirus in Danish infants: results from a prospective birth cohort study.** *The Pediatric infectious disease journal* 2008, **27**(10):897-902.
403. Martin ET, Taylor J, Kuypers J, Magaret A, Wald A, Zerr D, Englund JA: **Detection of bocavirus in saliva of children with and without respiratory illness.** *Journal of clinical microbiology* 2009, **47**(12):4131-4132.
404. Ma X, Endo R, Ishiguro N, Ebihara T, Ishiko H, Ariga T, Kikuta H: **Detection of human bocavirus in Japanese children with lower respiratory tract infections.** *Journal of clinical microbiology* 2006, **44**(3):1132-1134.
405. Arden KE, McErlean P, Nissen MD, Sloots TP, Mackay IM: **Frequent detection of human rhinoviruses, paramyxoviruses, coronaviruses, and bocavirus during acute respiratory tract infections.** *Journal of medical virology* 2006, **78**(9):1232-1240.
406. Foulongne V, Olejnik Y, Perez V, Elaerts S, Rodiere M, Segondy M: **Human bocavirus in French children.** *Emerging infectious diseases* 2006, **12**(8):1251-1253.
407. Kim JS, Lim CS, Kim YK, Lee KN, Lee CK: **Human bocavirus in patients with respiratory tract infection.** *The Korean journal of laboratory medicine* 2011, **31**(3):179-184.
408. Lu QB, Wo Y, Wang HY, Huang DD, Zhao J, Zhang XA, Zhang YY, Liu EM, Liu W, Cao WC: **Epidemic and molecular evolution of human bocavirus in hospitalized children with acute respiratory tract infection.** *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology* 2015, **34**(1):75-81.
409. Schildgen O, Muller A, Allander T, Mackay IM, Volz S, Kupfer B, Simon A: **Human bocavirus: passenger or pathogen in acute respiratory tract infections?** *Clinical microbiology reviews* 2008, **21**(2):291-304, table of contents.
410. Weissbrich B, Neske F, Schubert J, Tollmann F, Blath K, Blessing K, Kreth HW: **Frequent detection of bocavirus DNA in German children with respiratory tract infections.** *BMC infectious diseases* 2006, **6**:109.
411. Chung JY, Han TH, Kim SW, Kim CK, Hwang ES: **Detection of viruses identified recently in children with acute wheezing.** *Journal of medical virology* 2007, **79**(8):1238-1243.
412. Christensen A, Nordbo SA, Krokstad S, Rognlien AG, Dollner H: **Human bocavirus commonly involved in multiple viral airway infections.** *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2008, **41**(1):34-37.
413. Gerna G, Piralla A, Campanini G, Marchi A, Stronati M, Rovida F: **The human bocavirus role in acute respiratory tract infections of pediatric patients as defined by viral load quantification.** *The new microbiologica* 2007, **30**(4):383-392.

414. Esposito S, Bosis S, Niesters HG, Tremolati E, Sabatini C, Porta A, Fossali E, Osterhaus AD, Principi N: **Impact of human bocavirus on children and their families.** *Journal of clinical microbiology* 2008, **46**(4):1337-1342.
415. Lau SK, Yip CC, Que TL, Lee RA, Au-Yeung RK, Zhou B, So LY, Lau YL, Chan KH, Woo PC *et al*: **Clinical and molecular epidemiology of human bocavirus in respiratory and fecal samples from children in Hong Kong.** *The Journal of infectious diseases* 2007, **196**(7):986-993.
416. Brieu N, Guyon G, Rodiere M, Segondy M, Foulongne V: **Human bocavirus infection in children with respiratory tract disease.** *The Pediatric infectious disease journal* 2008, **27**(11):969-973.
417. Blessing K, Neske F, Herre U, Kreth HW, Weissbrich B: **Prolonged detection of human bocavirus DNA in nasopharyngeal aspirates of children with respiratory tract disease.** *The Pediatric infectious disease journal* 2009, **28**(11):1018-1019.
418. Hamza IA, Jurzik L, Wilhelm M, Uberla K: **Detection and quantification of human bocavirus in river water.** *The Journal of general virology* 2009, **90**(Pt 11):2634-2637.
419. Rasanen S, Lappalainen S, Kaikkonen S, Hamalainen M, Salminen M, Vesikari T: **Mixed viral infections causing acute gastroenteritis in children in a waterborne outbreak.** *Epidemiology and infection* 2010, **138**(9):1227-1234.
420. Longtin J, Bastien M, Gilca R, Leblanc E, de Serres G, Bergeron MG, Boivin G: **Human bocavirus infections in hospitalized children and adults.** *Emerging infectious diseases* 2008, **14**(2):217-221.
421. Ringshausen FC, Tan AY, Allander T, Borg I, Arinir U, Kronsbein J, Hauptmeier BM, Schultze-Werninghaus G, Rohde G: **Frequency and clinical relevance of human bocavirus infection in acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease.** *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2009, **4**:111-117.
422. Garbino J, Gerbase MW, Wunderli W, Kolarova L, Nicod LP, Rochat T, Kaiser L: **Respiratory viruses and severe lower respiratory tract complications in hospitalized patients.** *Chest* 2004, **125**(3):1033-1039.
423. Fry AM, Lu X, Chittaganpitch M, Peret T, Fischer J, Dowell SF, Anderson LJ, Erdman D, Olsen SJ: **Human bocavirus: a novel parvovirus epidemiologically associated with pneumonia requiring hospitalization in Thailand.** *The Journal of infectious diseases* 2007, **195**(7):1038-1045.
424. Bastien N, Brandt K, Dust K, Ward D, Li Y: **Human Bocavirus infection, Canada.** *Emerging infectious diseases* 2006, **12**(5):848-850.
425. Chow BD, Huang YT, Esper FP: **Evidence of human bocavirus circulating in children and adults, Cleveland, Ohio.** *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2008, **43**(3):302-306.
426. Tozer SJ, Lambert SB, Whiley DM, Bialasiewicz S, Lyon MJ, Nissen MD, Sloots TP: **Detection of human bocavirus in respiratory, fecal, and blood samples by real-time PCR.** *Journal of medical virology* 2009, **81**(3):488-493.
427. Maggi F, Andreoli E, Pifferi M, Meschi S, Rocchi J, Bendinelli M: **Human bocavirus in Italian patients with respiratory diseases.** *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2007, **38**(4):321-325.
428. Arnold JC, Singh KK, Spector SA, Sawyer MH: **Undiagnosed respiratory viruses in children.** *Pediatrics* 2008, **121**(3):e631-637.
429. Beder LB, Hotomi M, Ogami M, Yamauchi K, Shimada J, Billal DS, Ishiguro N, Yamanaka N: **Clinical and microbiological impact of human bocavirus on children with acute otitis media.** *European journal of pediatrics* 2009, **168**(11):1365-1372.
430. Pettigrew MM, Gent JF, Pyles RB, Miller AL, Nokso-Koivisto J, Chonmaitree T: **Viral-bacterial interactions and risk of acute otitis media complicating upper respiratory tract infection.** *Journal of clinical microbiology* 2011, **49**(11):3750-3755.

431. Dina J, Vabret A, Gouarin S, Petitjean J, Lecoq J, Brouard J, Arion A, Lafay-Delaire F, Freymuth F: **Detection of human bocavirus in hospitalised children.** *Journal of paediatrics and child health* 2009, **45**(3):149-153.
432. Simon A, Groneck P, Kupfer B, Kaiser R, Plum G, Tillmann RL, Muller A, Schildgen O: **Detection of bocavirus DNA in nasopharyngeal aspirates of a child with bronchiolitis.** *The Journal of infection* 2007, **54**(3):e125-127.
433. Bastien N, Chui N, Robinson JL, Lee BE, Dust K, Hart L, Li Y: **Detection of human bocavirus in Canadian children in a 1-year study.** *Journal of clinical microbiology* 2007, **45**(2):610-613.
434. Garcia-Garcia ML, Calvo Rey C, Pozo Sanchez F, Vazquez Alvarez MC, Gonzalez Vergaz A, Perez-Brena P, Casas Flecha I: **[Human bocavirus infections in Spanish 0-14 year-old: clinical and epidemiological characteristics of an emerging respiratory virus].** *Anales de pediatria* 2007, **67**(3):212-219.
435. Hengst M, Hausler M, Honnef D, Scheithauer S, Ritter K, Kleines M: **[Human Bocavirus-infection (HBoV): an important cause of severe viral obstructive bronchitis in children].** *Klinische Padiatrie* 2008, **220**(5):296-301.
436. Don M, Soderlund-Venermo M, Valent F, Lahtinen A, Hedman L, Canciani M, Hedman K, Korppi M: **Serologically verified human bocavirus pneumonia in children.** *Pediatric pulmonology* 2010, **45**(2):120-126.
437. Moriyama Y, Hamada H, Okada M, Tsuchiya N, Maru H, Shirato Y, Maeda Y, Hirose Y, Yoshida M, Omura Y *et al*: **Distinctive clinical features of human bocavirus in children younger than 2 years.** *European journal of pediatrics* 2010, **169**(9):1087-1092.
438. Schneider H, Adams O, Weiss C, Merz U, Schrotten H, Tenenbaum T: **Clinical Characteristics of Children with Viral Single- and Co-Infections and a Petechial Rash.** *The Pediatric infectious disease journal* 2012.
439. Edner N, Castillo-Rodas P, Falk L, Hedman K, Soderlund-Venermo M, Allander T: **Life-threatening respiratory tract disease with human bocavirus-1 infection in a 4-year-old child.** *Journal of clinical microbiology* 2012, **50**(2):531-532.
440. Korner RW, Soderlund-Venermo M, van Koningsbruggen-Rietschel S, Kaiser R, Malecki M, Schildgen O: **Severe human bocavirus infection, Germany.** *Emerging infectious diseases* 2011, **17**(12):2303-2305.
441. Terrosi C, Fabbiani M, Cellesi C, Cusi MG: **Human bocavirus detection in an atopic child affected by pneumonia associated with wheezing.** *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2007, **40**(1):43-45.
442. Deng Y, Liu EM, Zhao XD, Ding Y, Li QB, Luo ZX, Wang LJ, Huang Y, Yang XQ: **[Clinical characteristics of 12 persistently wheezing children with human bocavirus infection].** *Zhonghua er ke za zhi Chinese journal of pediatrics* 2007, **45**(10):732-735.
443. Vallet C, Pons-Catalano C, Mandelcwaig A, Wang A, Raymond J, Lebon P, Gendrel D: **Human bocavirus: a cause of severe asthma exacerbation in children.** *The Journal of pediatrics* 2009, **155**(2):286-288.
444. Durigon GS, Oliveira DB, Vollet SB, Storni JG, Felicio MC, Finelli C, Piera J, Magalhaes M, Caldeira RN, Barbosa ML *et al*: **Hospital-acquired human bocavirus in infants.** *The Journal of hospital infection* 2010, **76**(2):171-173.
445. Cheng WX, Jin Y, Duan ZJ, Xu ZQ, Qi HM, Zhang Q, Yu JM, Zhu L, Jin M, Liu N *et al*: **Human bocavirus in children hospitalized for acute gastroenteritis: a case-control study.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2008, **47**(2):161-167.
446. Vicente D, Cilla G, Montes M, Perez-Yarza EG, Perez-Trallero E: **Human bocavirus, a respiratory and enteric virus.** *Emerging infectious diseases* 2007, **13**(4):636-637.

447. Lee JI, Chung JY, Han TH, Song MO, Hwang ES: **Detection of human bocavirus in children hospitalized because of acute gastroenteritis.** *The Journal of infectious diseases* 2007, **196**(7):994-997.
448. Huang Y, Mao P, Wang H: **Detection of, and frequent co-infection with, human bocavirus in faecal specimens from children in Wuhan, China.** *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2010, **16**(5):490-492.
449. Zeng M, Wang XH, Yu H, Zhu QR: **[Clinical relevance of human bocavirus with acute respiratory tract infection and diarrhea in children: a prospective case-control study].** *Zhonghua er ke za zhi Chinese journal of pediatrics* 2010, **48**(8):580-584.
450. Catalano-Pons C, Giraud C, Rozenberg F, Meritet JF, Lebon P, Gendrel D: **Detection of human bocavirus in children with Kawasaki disease.** *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2007, **13**(12):1220-1222.
451. Bowles NE, Hirono K, Yu X, Ichida F: **Absence of parvoviral genomes in endothelial cells of Kawasaki disease patients with coronary artery lesions.** *The Pediatric infectious disease journal* 2009, **28**(4):345.
452. Lehmann C, Klar R, Lindner J, Lindner P, Wolf H, Gerling S: **Kawasaki disease lacks association with human coronavirus NL63 and human bocavirus.** *The Pediatric infectious disease journal* 2009, **28**(6):553-554.
453. Santos RA, Nogueira CS, Granja S, Baptista JB, Ribeiro ML, Rocha MG: **Kawasaki disease and human bocavirus--potential association?** *Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi* 2011, **44**(3):235-237.
454. Mitui MT, Tabib SM, Matsumoto T, Khanam W, Ahmed S, Mori D, Akhter N, Yamada K, Kabir L, Nishizono A *et al*: **Detection of human bocavirus in the cerebrospinal fluid of children with encephalitis.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2012, **54**(7):964-967.
455. Martin ET, Kuypers J, McRoberts JP, Englund JA, Zerr DM: **Human Bocavirus 1 Primary Infection and Shedding in Infants.** *The Journal of infectious diseases* 2015, **212**(4):516-524.
456. Koskenvuo M, Mottonen M, Waris M, Allander T, Salmi TT, Ruuskanen O: **Human bocavirus in children with acute lymphoblastic leukemia.** *European journal of pediatrics* 2008, **167**(9):1011-1015.
457. Schenk T, Maier B, Hufnagel M, Strahm B, Kontny U, Neumann-Haefelin D, Falcone V: **Persistence of human bocavirus DNA in immunocompromised children.** *The Pediatric infectious disease journal* 2011, **30**(1):82-84.
458. Wagner JC, Pyles RB, Miller AL, Nokso-Koivisto J, Loeffelholz MJ, Chonmaitree T: **Determining Persistence of Bocavirus DNA in the Respiratory Tract of Children by Pyrosequencing.** *The Pediatric infectious disease journal* 2016, **35**(5):471-476.
459. Schenk T, Strahm B, Kontny U, Hufnagel M, Neumann-Haefelin D, Falcone V: **Disseminated bocavirus infection after stem cell transplant.** *Emerging infectious diseases* 2007, **13**(9):1425-1427.
460. Kainulainen L, Waris M, Soderlund-Venermo M, Allander T, Hedman K, Ruuskanen O: **Hepatitis and human bocavirus primary infection in a child with T-cell deficiency.** *Journal of clinical microbiology* 2008, **46**(12):4104-4105.
461. de Vries JJ, Bredius RG, van Rheenen PF, Smiers FJ, Scholvinck EH, Vossen AC, Claas EC, Niesters HG: **Human bocavirus in an immunocompromised child presenting with severe diarrhea.** *Journal of clinical microbiology* 2009, **47**(4):1241-1243.
462. Choi JH, Chung YS, Kim KS, Lee WJ, Chung IY, Oh HB, Kang C: **Development of real-time PCR assays for detection and quantification of human bocavirus.** *Journal of*

- clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2008, **42**(3):249-253.
463. Schenk T, Huck B, Forster J, Berner R, Neumann-Haefelin D, Falcone V: **Human bocavirus DNA detected by quantitative real-time PCR in two children hospitalized for lower respiratory tract infection.** *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology* 2007, **26**(2):147-149.
464. Lin F, Zeng A, Yang N, Lin H, Yang E, Wang S, Pintel D, Qiu J: **Quantification of human bocavirus in lower respiratory tract infections in China.** *Infect Agent Cancer* 2007, **2**:3.
465. Kantola K, Hedman L, Allander T, Jartti T, Lehtinen P, Ruuskanen O, Hedman K, Soderlund-Venermo M: **Serodiagnosis of human bocavirus infection.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2008, **46**(4):540-546.
466. Don M, Soderlund-Venermo M, Hedman K, Ruuskanen O, Allander T, Korppi M: **Don't forget serum in the diagnosis of human bocavirus infection.** *The Journal of infectious diseases* 2011, **203**(7):1031-1032; author reply 1032-1033.
467. Nascimento-Carvalho CM, Cardoso MR, Meriluoto M, Kempainen K, Kantola K, Ruuskanen O, Hedman K, Soderlund-Venermo M: **Human bocavirus infection diagnosed serologically among children admitted to hospital with community-acquired pneumonia in a tropical region.** *Journal of medical virology* 2012, **84**(2):253-258.
468. Lindner J, Karalar L, Zehentmeier S, Plentz A, Pfister H, Struff W, Kertai M, Segerer H, Modrow S: **Humoral immune response against human bocavirus VP2 virus-like particles.** *Viral immunology* 2008, **21**(4):443-449.
469. Hao YX, Gao JM, Jin Y, Li XL, Li JS, Xie ZP, Ao YY, Chen XQ, Chen KN, Duan ZJ: **[Optimizing expression of the capsid protein VP2 from human Bocavirus and establish it's seroepidemiology assying methord].** *Zhonghua shi yan he lin chuang bing du xue za zhi = Zhonghua shiyan he linchuang bingduxue zazhi = Chinese journal of experimental and clinical virology* 2012, **26**(1):18-21.
470. Hustedt JW, Christie C, Hustedt MM, Esposito D, Vazquez M: **Seroepidemiology of human bocavirus infection in Jamaica.** *PLoS one* 2012, **7**(5):e38206.
471. Guido M, Zizza A, Bredl S, Lindner J, De Donno A, Quattrocchi M, Grima P, Modrow S, Seroepidemiology G: **Seroepidemiology of human bocavirus in Apulia, Italy.** *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2012, **18**(4):E74-76.
472. Kahn JS, Kesebir D, Cotmore SF, D'Abramo A, Jr., Cosby C, Weibel C, Tattersall P: **Seroepidemiology of human bocavirus defined using recombinant virus-like particles.** *The Journal of infectious diseases* 2008, **198**(1):41-50.
473. Cecchini S, Negrete A, Virag T, Graham BS, Cohen JI, Kotin RM: **Evidence of prior exposure to human bocavirus as determined by a retrospective serological study of 404 serum samples from adults in the United States.** *Clinical and vaccine immunology : CVI* 2009, **16**(5):597-604.
474. Kantola K, Hedman L, Arthur J, Alibeto A, Delwart E, Jartti T, Ruuskanen O, Hedman K, Soderlund-Venermo M: **Seroepidemiology of human bocaviruses 1-4.** *The Journal of infectious diseases* 2011, **204**(9):1403-1412.
475. Tyumentsev AI, Tikunova NV, Tikunov AY, Babkin IV: **Recombination in the evolution of human bocavirus.** *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases* 2014, **28**:11-14.

476. Arthur JL, Higgins GD, Davidson GP, Givney RC, Ratcliff RM: **A novel bocavirus associated with acute gastroenteritis in Australian children.** *PLoS pathogens* 2009, **5**(4):e1000391.
477. Nawaz S, Allen DJ, Aladin F, Gallimore C, Iturriza-Gomara M: **Human bocaviruses are not significantly associated with gastroenteritis: results of retesting archive DNA from a case control study in the UK.** *PLoS one* 2012, **7**(7):e41346.
478. Meriluoto M, Hedman L, Tanner L, Simell V, Makinen M, Simell S, Mykkanen J, Korpelainen J, Ruuskanen O, Ilonen J *et al*: **Association of human bocavirus 1 infection with respiratory disease in childhood follow-up study, Finland.** *Emerging infectious diseases* 2012, **18**(2):264-271.
479. Lukkarinen H, Soderlund-Venermo M, Vuorinen T, Allander T, Hedman K, Simell O, Ruuskanen O, Jartti T: **Human bocavirus 1 may suppress rhinovirus-associated immune response in wheezing children.** *The Journal of allergy and clinical immunology* 2014, **133**(1):256-258 e251-254.
480. Chung JY, Han TH, Kim JS, Kim SW, Park CG, Hwang ES: **Th1 and Th2 cytokine levels in nasopharyngeal aspirates from children with human bocavirus bronchiolitis.** *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2008, **43**(2):223-225.
481. Luo H, Zhang Z, Zheng Z, Ke X, Zhang X, Li Q, Liu Y, Bai B, Mao P, Hu Q *et al*: **Human bocavirus VP2 upregulates IFN-beta pathway by inhibiting ring finger protein 125-mediated ubiquitination of retinoic acid-inducible gene-I.** *Journal of immunology* 2013, **191**(2):660-669.
482. Qiu J, Soderlund-Venermo M, Young NS: **Human Parvoviruses.** *Clinical microbiology reviews* 2017, **30**(1):43-113.
483. Khalfaoui S, Eichhorn V, Karagiannidis C, Bayh I, Brockmann M, Pieper M, Windisch W, Schildgen O, Schildgen V: **Lung Infection by Human Bocavirus Induces the Release of Profibrotic Mediator Cytokines In Vivo and In Vitro.** *PLoS one* 2016, **11**(1):e0147010.
484. Hirose Y, Hamada H, Wakui T, Ogawa T, Terai M: **Characteristic systemic cytokine responses in children with human bocavirus-positive lower respiratory tract infection.** *Microbiology and immunology* 2014, **58**(3):215-218.
485. Kumar A, Filippone C, Lahtinen A, Hedman L, Soderlund-Venermo M, Hedman K, Franssila R: **Comparison of Th-cell immunity against human bocavirus and parvovirus B19: proliferation and cytokine responses are similar in magnitude but more closely interrelated with human bocavirus.** *Scandinavian journal of immunology* 2011, **73**(2):135-140.
486. Tanir Basaranoglu S, Aykac K, Ozsurekci Y, Bajin I, Tavil B, Gumruk F, Ceyhan M: **Human Bocavirus: Can It Trigger Hemophagocytic Lymphohistiocytosis?** *J Pediatr Hematol Oncol* 2017, **39**(8):e504-e507.
487. Deng X, Yan Z, Cheng F, Engelhardt JF, Qiu J: **Replication of an Autonomous Human Parvovirus in Non-dividing Human Airway Epithelium Is Facilitated through the DNA Damage and Repair Pathways.** *PLoS pathogens* 2016, **12**(1):e1005399.
488. Deng X, Xu P, Zou W, Shen W, Peng J, Liu K, Engelhardt JF, Yan Z, Qiu J: **DNA Damage Signaling Is Required for Replication of Human Bocavirus 1 DNA in Dividing HEK293 Cells.** *Journal of virology* 2017, **91**(1).
489. Abdel-Moneim AS, El-Fol HA, Kamel MM, Soliman AS, Mahdi EA, El-Gammal AS, Mahran TZ: **Screening of human bocavirus in surgically excised cancer specimens.** *Archives of virology* 2016, **161**(8):2095-2102.
490. Winther B, Gwaltney JM, Jr., Mygind N, Hendley JO: **Viral-induced rhinitis.** *American journal of rhinology* 1998, **12**(1):17-20.
491. Hendley JO: **Clinical virology of rhinoviruses.** *Advances in virus research* 1999, **54**:453-466.

492. Hendley JO: **Rhinovirus colds: immunology and pathogenesis.** *European journal of respiratory diseases Supplement* 1983, **128 (Pt 1)**:340-344.
493. Busse WW: **Role and contribution of viral respiratory infections to asthma.** *Allergy* 1993, **48**(17 Suppl):57-61; discussion 62-54.
494. Saraya T, Kurai D, Ishii H, Ito A, Sasaki Y, Niwa S, Kiyota N, Tsukagoshi H, Kozawa K, Goto H *et al*: **Epidemiology of virus-induced asthma exacerbations: with special reference to the role of human rhinovirus.** *Frontiers in microbiology* 2014, **5**:226.
495. Friedlander SL, Busse WW: **The role of rhinovirus in asthma exacerbations.** *The Journal of allergy and clinical immunology* 2005, **116**(2):267-273.
496. Velissariou IM, Papadopoulos NG: **The role of respiratory viruses in the pathogenesis of pediatric asthma.** *Pediatr Ann* 2006, **35**(9):637-642.
497. Papadopoulos NG, Psarras S, Manoussakis E, Saxoni-Papageorgiou P: **The role of respiratory viruses in the origin and exacerbations of asthma.** *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2003, **3**(1):39-44.
498. Busse WW, Gern JE, Dick EC: **The role of respiratory viruses in asthma.** *Ciba Foundation symposium* 1997, **206**:208-213; discussion 213-209.
499. Buensalido JA, Valencia JC. **Rhinovirus (common cold).** Edited by Wallace MR. Medscape online medical database, Available from: <https://emedicine.medscape.com/article/227820-overview>. Accessed on July 31st 2018.
500. Heymann PW, Platts-Mills TA, Johnston SL: **Role of viral infections, atopy and antiviral immunity in the etiology of wheezing exacerbations among children and young adults.** *The Pediatric infectious disease journal* 2005, **24**(11 Suppl):S217-222, discussion S220-211.
501. Proud D, Naclerio RM, Gwaltney JM, Hendley JO: **Kinins are generated in nasal secretions during natural rhinovirus colds.** *The Journal of infectious diseases* 1990, **161**(1):120-123.
502. Hendley JO: **The host response, not the virus, causes the symptoms of the common cold.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 1998, **26**(4):847-848.
503. Hendley JO, Gwaltney JM, Jr.: **Mechanisms of transmission of rhinovirus infections.** *Epidemiologic reviews* 1988, **10**:243-258.
504. Gwaltney JM, Jr., Hendley JO: **Transmission of experimental rhinovirus infection by contaminated surfaces.** *American journal of epidemiology* 1982, **116**(5):828-833.
505. Winther B, Gwaltney JM, Jr., Mygind N, Turner RB, Hendley JO: **Sites of rhinovirus recovery after point inoculation of the upper airway.** *Jama* 1986, **256**(13):1763-1767.
506. Schuler BA, Schreiber MT, Li L, Mokry M, Kingdon ML, Raugi DN, Smith C, Hameister C, Racaniello VR, Hall DJ: **Major and minor group rhinoviruses elicit differential signaling and cytokine responses as a function of receptor-mediated signal transduction.** *PLoS one* 2014, **9**(4):e93897.
507. Casasnovas JM: **The dynamics of receptor recognition by human rhinoviruses.** *Trends in microbiology* 2000, **8**(6):251-254.
508. Bella J, Rossmann MG: **Review: rhinoviruses and their ICAM receptors.** *J Struct Biol* 1999, **128**(1):69-74.
509. Staunton DE, Merluzzi VJ, Rothlein R, Barton R, Marlin SD, Springer TA: **A cell adhesion molecule, ICAM-1, is the major surface receptor for rhinoviruses.** *Cell* 1989, **56**(5):849-853.
510. Royston L, Tapparel C: **Rhinoviruses and Respiratory Enteroviruses: Not as Simple as ABC.** *Viruses* 2016, **8**(1).
511. Eccles R: **Understanding the symptoms of the common cold and influenza.** *The Lancet Infectious diseases* 2005, **5**(11):718-725.

512. Turner RB: **Epidemiology, pathogenesis, and treatment of the common cold.** *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology* 1997, **78**(6):531-539; quiz 539-540.
513. Tyrrell DA, Cohen S, Schlarb JE: **Signs and symptoms in common colds.** *Epidemiology and infection* 1993, **111**(1):143-156.
514. Jacques J, Bouscambert-Duchamp M, Moret H, Carquin J, Brodard V, Lina B, Motte J, Andreoletti L: **Association of respiratory picornaviruses with acute bronchiolitis in French infants.** *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2006, **35**(4):463-466.
515. Juven T, Mertsola J, Waris M, Leinonen M, Meurman O, Roivainen M, Eskola J, Saikku P, Ruuskanen O: **Etiology of community-acquired pneumonia in 254 hospitalized children.** *The Pediatric infectious disease journal* 2000, **19**(4):293-298.
516. McIntosh K: **Community-acquired pneumonia in children.** *The New England journal of medicine* 2002, **346**(6):429-437.
517. Faux CE, Arden KE, Lambert SB, Nissen MD, Nolan TM, Chang AB, Sloots TP, Mackay IM: **Usefulness of published PCR primers in detecting human rhinovirus infection.** *Emerging infectious diseases* 2011, **17**(2):296-298.
518. Gambarino S, Costa C, Elia M, Sidoti F, Mantovani S, Gruosso V, Bergallo M, Cavallo R: **Development of a RT real-time PCR for the detection and quantification of human rhinoviruses.** *Mol Biotechnol* 2009, **42**(3):350-357.
519. Do DH, Laus S, Leber A, Marcon MJ, Jordan JA, Martin JM, Wadowsky RM: **A one-step, real-time PCR assay for rapid detection of rhinovirus.** *J Mol Diagn* 2010, **12**(1):102-108.
520. Buecher C, Mardy S, Wang W, Duong V, Vong S, Naughtin M, Vabret A, Freymuth F, Deubel V, Buchy P: **Use of a multiplex PCR/RT-PCR approach to assess the viral causes of influenza-like illnesses in Cambodia during three consecutive dry seasons.** *Journal of medical virology* 2010, **82**(10):1762-1772.
521. Chen EC, Miller SA, DeRisi JL, Chiu CY: **Using a pan-viral microarray assay (Virochip) to screen clinical samples for viral pathogens.** *J Vis Exp* 2011(50).
522. Turner RB, Wecker MT, Pohl G, Witek TJ, McNally E, St George R, Winther B, Hayden FG: **Efficacy of tremacamra, a soluble intercellular adhesion molecule 1, for experimental rhinovirus infection: a randomized clinical trial.** *Jama* 1999, **281**(19):1797-1804.
523. Hayden FG, Coats T, Kim K, Hassman HA, Blatter MM, Zhang B, Liu S: **Oral pleconaril treatment of picornavirus-associated viral respiratory illness in adults: efficacy and tolerability in phase II clinical trials.** *Antiviral therapy* 2002, **7**(1):53-65.
524. Hayden FG, Herrington DT, Coats TL, Kim K, Cooper EC, Villano SA, Liu S, Hudson S, Pevear DC, Collett M *et al*: **Efficacy and safety of oral pleconaril for treatment of colds due to picornaviruses in adults: results of 2 double-blind, randomized, placebo-controlled trials.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2003, **36**(12):1523-1532.
525. Hayden FG, Turner RB, Gwaltney JM, Chi-Burris K, Gersten M, Hsyu P, Patick AK, Smith GJ, 3rd, Zalman LS: **Phase II, randomized, double-blind, placebo-controlled studies of rupintrivir nasal spray 2-percent suspension for prevention and treatment of experimentally induced rhinovirus colds in healthy volunteers.** *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2003, **47**(12):3907-3916.
526. Guedan A, Swieboda D, Charles M, Toussaint M, Johnston SL, Asfor A, Panjwani A, Tuthill TJ, Danahay H, Raynham T *et al*: **Investigation of the Role of Protein Kinase D in Human Rhinovirus Replication.** *Journal of virology* 2017, **91**(9).

527. Lee JJ, Shim A, Jeong JY, Lee SY, Ko HJ, Cho HJ: **Development of intranasal nanovehicles of itraconazole and their immunological activities for the therapy of rhinovirus infection.** *Colloids Surf B Biointerfaces* 2016, **143**:336-341.
528. Lessler J, Reich NG, Brookmeyer R, Perl TM, Nelson KE, Cummings DA: **Incubation periods of acute respiratory viral infections: a systematic review.** *The Lancet Infectious diseases* 2009, **9**(5):291-300.
529. Melchjorsen J, Sorensen LN, Paludan SR: **Expression and function of chemokines during viral infections: from molecular mechanisms to in vivo function.** *Journal of leukocyte biology* 2003, **74**(3):331-343.
530. Message SD, Johnston SL: **Host defense function of the airway epithelium in health and disease: clinical background.** *Journal of leukocyte biology* 2004, **75**(1):5-17.
531. Doyle WJ, Casselbrant ML, Li-Korotky HS, Doyle AP, Lo CY, Turner R, Cohen S: **The interleukin 6 -174 C/C genotype predicts greater rhinovirus illness.** *The Journal of infectious diseases* 2010, **201**(2):199-206.
532. Naclerio RM, Proud D, Lichtenstein LM, Kagey-Sobotka A, Hendley JO, Sorrentino J, Gwaltney JM: **Kinins are generated during experimental rhinovirus colds.** *The Journal of infectious diseases* 1988, **157**(1):133-142.
533. Proud D, Reynolds CJ, Lacapra S, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM, Naclerio RM: **Nasal provocation with bradykinin induces symptoms of rhinitis and a sore throat.** *The American review of respiratory disease* 1988, **137**(3):613-616.
534. Wiehler S, Proud D: **Interleukin-17A modulates human airway epithelial responses to human rhinovirus infection.** *American journal of physiology Lung cellular and molecular physiology* 2007, **293**(2):L505-515.
535. Hendley JO, Gwaltney JM, Jr.: **Viral titers in nasal lining fluid compared to viral titers in nasal washes during experimental rhinovirus infection.** *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2004, **30**(4):326-328.
536. Douglas RG, Jr., Cate TR, Gerone PJ, Couch RB: **Quantitative rhinovirus shedding patterns in volunteers.** *The American review of respiratory disease* 1966, **94**(2):159-167.
537. D'Alessio DJ, Peterson JA, Dick CR, Dick EC: **Transmission of experimental rhinovirus colds in volunteer married couples.** *The Journal of infectious diseases* 1976, **133**(1):28-36.
538. Wark PA, Johnston SL, Bucchieri F, Powell R, Puddicombe S, Laza-Stanca V, Holgate ST, Davies DE: **Asthmatic bronchial epithelial cells have a deficient innate immune response to infection with rhinovirus.** *The Journal of experimental medicine* 2005, **201**(6):937-947.
539. Carstens EB: **Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses (2009).** *Archives of virology* 2010, **155**(1):133-146.
540. McIntosh KPJ: **Coronaviruses** In: *Clinical Virology*. 3rd edn. Edited by Richman D, Whitley RJ, Hayden FG. Washington, DC: ASM Press; 2009.
541. Vijgen L, Keyaerts E, Moes E, Maes P, Duson G, Van Ranst M: **Development of one-step, real-time, quantitative reverse transcriptase PCR assays for absolute quantitation of human coronaviruses OC43 and 229E.** *Journal of clinical microbiology* 2005, **43**(11):5452-5456.
542. Jones BA, Grace D, Kock R, Alonso S, Rushton J, Said MY, McKeever D, Mutua F, Young J, McDermott J *et al*: **Zoonosis emergence linked to agricultural intensification and environmental change.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2013, **110**(21):8399-8404.

543. Pene F, Merlat A, Vabret A, Rozenberg F, Buzyn A, Dreyfus F, Cariou A, Freymuth F, Lebon P: **Coronavirus 229E-related pneumonia in immunocompromised patients.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2003, **37**(7):929-932.
544. Walsh EE, Shin JH, Falsey AR: **Clinical impact of human coronaviruses 229E and OC43 infection in diverse adult populations.** *The Journal of infectious diseases* 2013, **208**(10):1634-1642.
545. Gorse GJ, O'Connor TZ, Hall SL, Vitale JN, Nichol KL: **Human coronavirus and acute respiratory illness in older adults with chronic obstructive pulmonary disease.** *The Journal of infectious diseases* 2009, **199**(6):847-857.
546. van der Hoek L: **Human coronaviruses: what do they cause?** *Antiviral therapy* 2007, **12**(4 Pt B):651-658.
547. Graham RL, Donaldson EF, Baric RS: **A decade after SARS: strategies for controlling emerging coronaviruses.** *Nat Rev Microbiol* 2013, **11**(12):836-848.
548. Peiris JS, Chu CM, Cheng VC, Chan KS, Hung IF, Poon LL, Law KI, Tang BS, Hon TY, Chan CS *et al*: **Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus-associated SARS pneumonia: a prospective study.** *Lancet* 2003, **361**(9371):1767-1772.
549. Peiris JS, Yuen KY, Osterhaus AD, Stohr K: **The severe acute respiratory syndrome.** *The New England journal of medicine* 2003, **349**(25):2431-2441.
550. Peiris JS, Guan Y, Yuen KY: **Severe acute respiratory syndrome.** *Nature medicine* 2004, **10**(12 Suppl):S88-97.
551. Frieman M, Baric R: **Mechanisms of severe acute respiratory syndrome pathogenesis and innate immunomodulation.** *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR* 2008, **72**(4):672-685, Table of Contents.
552. Wang M, Yan M, Xu H, Liang W, Kan B, Zheng B, Chen H, Zheng H, Xu Y, Zhang E *et al*: **SARS-CoV infection in a restaurant from palm civet.** *Emerging infectious diseases* 2005, **11**(12):1860-1865.
553. Hu B, Ge X, Wang LF, Shi Z: **Bat origin of human coronaviruses.** *Virology journal* 2015, **12**:221.
554. **Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV);key facts, 19 February 2018, World Health Organization. Available at: [http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-\(mers-cov\)](http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-(mers-cov)), Accessed on July 30th 2018.**
555. Kim Y, Cheon S, Min CK, Sohn KM, Kang YJ, Cha YJ, Kang JI, Han SK, Ha NY, Kim G *et al*: **Spread of Mutant Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus with Reduced Affinity to Human CD26 during the South Korean Outbreak.** *mBio* 2016, **7**(2):e00019.
556. Oboho IK, Tomczyk SM, Al-Asmari AM, Banjar AA, Al-Mugti H, Aloraini MS, Alkhalidi KZ, Almohammadi EL, Alraddadi BM, Gerber SI *et al*: **2014 MERS-CoV outbreak in Jeddah--a link to health care facilities.** *The New England journal of medicine* 2015, **372**(9):846-854.
557. Korean Society of Infectious D, Korean Society for Healthcare-associated Infection C, Prevention: **An Unexpected Outbreak of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Infection in the Republic of Korea, 2015.** *Infect Chemother* 2015, **47**(2):120-122.
558. Kossyvakis A, Tao Y, Lu X, Pogka V, Tsiodras S, Emmanouil M, Mentis AF, Tong S, Erdman DD, Antoniadis A: **Laboratory investigation and phylogenetic analysis of an imported Middle East respiratory syndrome coronavirus case in Greece.** *PloS one* 2015, **10**(4):e0125809.
559. Spanakis N, Tsiodras S, Haagmans BL, Raj VS, Pontikis K, Koutsoukou A, Koulouris NG, Osterhaus AD, Koopmans MP, Tsakris A: **Virological and serological analysis of a**

- recent Middle East respiratory syndrome coronavirus infection case on a triple combination antiviral regimen. *Int J Antimicrob Agents* 2014, **44**(6):528-532.
560. Tsiodras S, Baka A, Mentis A, Iliopoulos D, Dedoukou X, Papamavrou G, Karadima S, Emmanouil M, Kossyvakis A, Spanakis N *et al*: **A case of imported Middle East Respiratory Syndrome coronavirus infection and public health response, Greece, April 2014.** *Euro Surveill* 2014, **19**(16):20782.
561. McIntosh K, Kapikian AZ, Turner HC, Hartley JW, Parrott RH, Chanock RM: **Seroepidemiologic studies of coronavirus infection in adults and children.** *American journal of epidemiology* 1970, **91**(6):585-592.
562. Vabret A, Dina J, Gouarin S, Petitjean J, Tripey V, Brouard J, Freymuth F: **Human (non-severe acute respiratory syndrome) coronavirus infections in hospitalised children in France.** *Journal of paediatrics and child health* 2008, **44**(4):176-181.
563. Gaunt ER, Hardie A, Claas EC, Simmonds P, Templeton KE: **Epidemiology and clinical presentations of the four human coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 detected over 3 years using a novel multiplex real-time PCR method.** *Journal of clinical microbiology* 2010, **48**(8):2940-2947.
564. Reed SE: **The behaviour of recent isolates of human respiratory coronavirus in vitro and in volunteers: evidence of heterogeneity among 229E-related strains.** *Journal of medical virology* 1984, **13**(2):179-192.
565. Heikkinen T, Jarvinen A: **The common cold.** *Lancet* 2003, **361**(9351):51-59.
566. Bradburne AF, Bynoe ML, Tyrrell DA: **Effects of a "new" human respiratory virus in volunteers.** *Br Med J* 1967, **3**(5568):767-769.
567. Bradburne AF, Somerset BA: **Coronative antibody titres in sera of healthy adults and experimentally infected volunteers.** *The Journal of hygiene* 1972, **70**(2):235-244.
568. Gagneur A, Vallet S, Talbot PJ, Legrand-Quillien MC, Picard B, Payan C, Sizun J: **Outbreaks of human coronavirus in a pediatric and neonatal intensive care unit.** *European journal of pediatrics* 2008, **167**(12):1427-1434.
569. Prill MM, Iwane MK, Edwards KM, Williams JV, Weinberg GA, Staat MA, Willby MJ, Talbot HK, Hall CB, Szilagyi PG *et al*: **Human coronavirus in young children hospitalized for acute respiratory illness and asymptomatic controls.** *The Pediatric infectious disease journal* 2012, **31**(3):235-240.
570. Chonmaitree T, Revai K, Grady JJ, Clos A, Patel JA, Nair S, Fan J, Henrickson KJ: **Viral upper respiratory tract infection and otitis media complication in young children.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2008, **46**(6):815-823.
571. Bastien N, Anderson K, Hart L, Van Caesele P, Brandt K, Milley D, Hachette T, Weiss EC, Li Y: **Human coronavirus NL63 infection in Canada.** *The Journal of infectious diseases* 2005, **191**(4):503-506.
572. Woo PC, Lau SK, Tsoi HW, Huang Y, Poon RW, Chu CM, Lee RA, Luk WK, Wong GK, Wong BH *et al*: **Clinical and molecular epidemiological features of coronavirus HKU1-associated community-acquired pneumonia.** *The Journal of infectious diseases* 2005, **192**(11):1898-1907.
573. McIntosh K, Chao RK, Krause HE, Wasil R, Mocega HE, Mufson MA: **Coronavirus infection in acute lower respiratory tract disease of infants.** *The Journal of infectious diseases* 1974, **130**(5):502-507.
574. Kuypers J, Martin ET, Heugel J, Wright N, Morrow R, Englund JA: **Clinical disease in children associated with newly described coronavirus subtypes.** *Pediatrics* 2007, **119**(1):e70-76.
575. Talbot HK, Crowe JE, Jr., Edwards KM, Griffin MR, Zhu Y, Weinberg GA, Szilagyi PG, Hall CB, Podsiad AB, Iwane M *et al*: **Coronavirus infection and hospitalizations for**

- acute respiratory illness in young children.** *Journal of medical virology* 2009, **81**(5):853-856.
576. Talbot HK, Shepherd BE, Crowe JE, Jr., Griffin MR, Edwards KM, Podsiad AB, Tollefson SJ, Wright PF, Williams JV: **The pediatric burden of human coronaviruses evaluated for twenty years.** *The Pediatric infectious disease journal* 2009, **28**(8):682-687.
577. Kristoffersen AW, Nordbo SA, Rognlien AG, Christensen A, Dollner H: **Coronavirus causes lower respiratory tract infections less frequently than RSV in hospitalized Norwegian children.** *The Pediatric infectious disease journal* 2011, **30**(4):279-283.
578. van der Hoek L, Sure K, Ihorst G, Stang A, Pyrc K, Jebbink MF, Petersen G, Forster J, Berkhout B, Uberla K: **Croup is associated with the novel coronavirus NL63.** *PLoS Med* 2005, **2**(8):e240.
579. Sung JY, Lee HJ, Eun BW, Kim SH, Lee SY, Lee JY, Park KU, Choi EH: **Role of human coronavirus NL63 in hospitalized children with croup.** *The Pediatric infectious disease journal* 2010, **29**(9):822-826.
580. McIntosh K, Ellis EF, Hoffman LS, Lybass TG, Eller JJ, Fulginiti VA: **The association of viral and bacterial respiratory infections with exacerbations of wheezing in young asthmatic children.** *The Journal of pediatrics* 1973, **82**(4):578-590.
581. Nicholson KG, Kent J, Ireland DC: **Respiratory viruses and exacerbations of asthma in adults.** *BMJ* 1993, **307**(6910):982-986.
582. Arbour N, Day R, Newcombe J, Talbot PJ: **Neuroinvasion by human respiratory coronaviruses.** *Journal of virology* 2000, **74**(19):8913-8921.
583. Arbour N, Ekande S, Cote G, Lachance C, Chagnon F, Tardieu M, Cashman NR, Talbot PJ: **Persistent infection of human oligodendrocytic and neuroglial cell lines by human coronavirus 229E.** *Journal of virology* 1999, **73**(4):3326-3337.
584. Smuts H: **Human coronavirus NL63 infections in infants hospitalised with acute respiratory tract infections in South Africa.** *Influenza and other respiratory viruses* 2008, **2**(4):135-138.
585. Koley TK: **Severe acute respiratory syndrome: a preliminary review.** *Journal of the Indian Medical Association* 2003, **101**(5):308-310.
586. Hsueh PR, Yang PC: **Severe acute respiratory syndrome epidemic in Taiwan, 2003.** *Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi* 2005, **38**(2):82-88.
587. Tsang KW, Mok TY, Wong PC, Ooi GC: **Severe acute respiratory syndrome (SARS) in Hong Kong.** *Respirology* 2003, **8**(3):259-265.
588. Booth CM, Matukas LM, Tomlinson GA, Rachlis AR, Rose DB, Dwosh HA, Walmsley SL, Mazzulli T, Avendano M, Derkach P *et al*: **Clinical features and short-term outcomes of 144 patients with SARS in the greater Toronto area.** *Jama* 2003, **289**(21):2801-2809.
589. Chan JW, Ng CK, Chan YH, Mok TY, Lee S, Chu SY, Law WL, Lee MP, Li PC: **Short term outcome and risk factors for adverse clinical outcomes in adults with severe acute respiratory syndrome (SARS).** *Thorax* 2003, **58**(8):686-689.
590. Hsu LY, Lee CC, Green JA, Ang B, Paton NI, Lee L, Villacian JS, Lim PL, Earnest A, Leo YS: **Severe acute respiratory syndrome (SARS) in Singapore: clinical features of index patient and initial contacts.** *Emerging infectious diseases* 2003, **9**(6):713-717.
591. Corman VM, Muller MA, Costabel U, Timm J, Binger T, Meyer B, Kreher P, Lattwein E, Eschbach-Bludau M, Nitsche A *et al*: **Assays for laboratory confirmation of novel human coronavirus (hCoV-EMC) infections.** *Euro Surveill* 2012, **17**(49).
592. Reusken C, Mou H, Godeke GJ, van der Hoek L, Meyer B, Muller MA, Haagmans B, de Sousa R, Schuurman N, Dittmer U *et al*: **Specific serology for emerging human coronaviruses by protein microarray.** *Euro Surveill* 2013, **18**(14):20441.

593. Modjarrad K: **Treatment strategies for Middle East respiratory syndrome coronavirus.** *J Virus Erad* 2016, **2**(1):1-4.
594. Mustafa S, Balkhy H, Gabere MN: **Current treatment options and the role of peptides as potential therapeutic components for Middle East Respiratory Syndrome (MERS): A review.** *Journal of infection and public health* 2018, **11**(1):9-17.
595. Mo Y, Fisher D: **A review of treatment modalities for Middle East Respiratory Syndrome.** *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 2016, **71**(12):3340-3350.
596. de Wit E, Feldmann F, Okumura A, Horne E, Haddock E, Saturday G, Scott D, Erlandson KJ, Stahl N, Lipsich L *et al*: **Prophylactic and therapeutic efficacy of mAb treatment against MERS-CoV in common marmosets.** *Antiviral research* 2018, **156**:64-71.
597. Qiu H, Sun S, Xiao H, Feng J, Guo Y, Tai W, Wang Y, Du L, Zhao G, Zhou Y: **Single-dose treatment with a humanized neutralizing antibody affords full protection of a human transgenic mouse model from lethal Middle East respiratory syndrome (MERS)-coronavirus infection.** *Antiviral research* 2016, **132**:141-148.
598. Mair-Jenkins J, Saavedra-Campos M, Baillie JK, Cleary P, Khaw FM, Lim WS, Makki S, Rooney KD, Nguyen-Van-Tam JS, Beck CR *et al*: **The effectiveness of convalescent plasma and hyperimmune immunoglobulin for the treatment of severe acute respiratory infections of viral etiology: a systematic review and exploratory meta-analysis.** *The Journal of infectious diseases* 2015, **211**(1):80-90.
599. Ko JH, Seok H, Cho SY, Ha YE, Baek JY, Kim SH, Kim YJ, Park JK, Chung CR, Kang ES *et al*: **Challenges of convalescent plasma infusion therapy in Middle East respiratory coronavirus infection: a single centre experience.** *Antiviral therapy* 2018.
600. Arabi YM, Hajeer AH, Luke T, Raviprakash K, Balkhy H, Johani S, Al-Dawood A, Al-Qahtani S, Al-Omari A, Al-Hameed F *et al*: **Feasibility of Using Convalescent Plasma Immunotherapy for MERS-CoV Infection, Saudi Arabia.** *Emerging infectious diseases* 2016, **22**(9):1554-1561.
601. Zhao J, Perera RA, Kayali G, Meyerholz D, Perlman S, Peiris M: **Passive immunotherapy with dromedary immune serum in an experimental animal model for Middle East respiratory syndrome coronavirus infection.** *Journal of virology* 2015, **89**(11):6117-6120.
602. Lim YX, Ng YL, Tam JP, Liu DX: **Human Coronaviruses: A Review of Virus-Host Interactions.** *Diseases* 2016, **4**(3).
603. Jonsdottir HR, Dijkman R: **Coronaviruses and the human airway: a universal system for virus-host interaction studies.** *Virology journal* 2016, **13**:24.
604. Wong LY, Lui PY, Jin DY: **A molecular arms race between host innate antiviral response and emerging human coronaviruses.** *Virologica Sinica* 2016, **31**(1):12-23.
605. Channappanavar R, Perlman S: **Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology.** *Seminars in immunopathology* 2017, **39**(5):529-539.
606. Channappanavar R, Fehr AR, Vijay R, Mack M, Zhao J, Meyerholz DK, Perlman S: **Dysregulated Type I Interferon and Inflammatory Monocyte-Macrophage Responses Cause Lethal Pneumonia in SARS-CoV-Infected Mice.** *Cell host & microbe* 2016, **19**(2):181-193.
607. Davidson S, Maini MK, Wack A: **Disease-promoting effects of type I interferons in viral, bacterial, and coinfections.** *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research* 2015, **35**(4):252-264.
608. Kindler E, Jonsdottir HR, Muth D, Hamming OJ, Hartmann R, Rodriguez R, Geffers R, Fouchier RA, Drosten C, Muller MA *et al*: **Efficient replication of the novel human betacoronavirus EMC on primary human epithelium highlights its zoonotic potential.** *mBio* 2013, **4**(1):e00611-00612.

609. Frieman M, Heise M, Baric R: **SARS coronavirus and innate immunity**. *Virus research* 2008, **133**(1):101-112.
610. Clementz MA, Chen Z, Banach BS, Wang Y, Sun L, Ratia K, Baez-Santos YM, Wang J, Takayama J, Ghosh AK *et al*: **Deubiquitinating and interferon antagonism activities of coronavirus papain-like proteases**. *Journal of virology* 2010, **84**(9):4619-4629.
611. Lau SK, Lau CC, Chan KH, Li CP, Chen H, Jin DY, Chan JF, Woo PC, Yuen KY: **Delayed induction of proinflammatory cytokines and suppression of innate antiviral response by the novel Middle East respiratory syndrome coronavirus: implications for pathogenesis and treatment**. *The Journal of general virology* 2013, **94**(Pt 12):2679-2690.
612. Cheung CY, Poon LL, Ng IH, Luk W, Sia SF, Wu MH, Chan KH, Yuen KY, Gordon S, Guan Y *et al*: **Cytokine responses in severe acute respiratory syndrome coronavirus-infected macrophages in vitro: possible relevance to pathogenesis**. *Journal of virology* 2005, **79**(12):7819-7826.
613. Randall RE, Goodbourn S: **Interferons and viruses: an interplay between induction, signalling, antiviral responses and virus countermeasures**. *The Journal of general virology* 2008, **89**(Pt 1):1-47.
614. DeDiego ML, Nieto-Torres JL, Regla-Nava JA, Jimenez-Guardeno JM, Fernandez-Delgado R, Fett C, Castano-Rodriguez C, Perlman S, Enjuanes L: **Inhibition of NF-kappaB-mediated inflammation in severe acute respiratory syndrome coronavirus-infected mice increases survival**. *Journal of virology* 2014, **88**(2):913-924.
615. Dosch SF, Mahajan SD, Collins AR: **SARS coronavirus spike protein-induced innate immune response occurs via activation of the NF-kappaB pathway in human monocyte macrophages in vitro**. *Virus research* 2009, **142**(1-2):19-27.
616. Kim ES, Choe PG, Park WB, Oh HS, Kim EJ, Nam EY, Na SH, Kim M, Song KH, Bang JH *et al*: **Clinical Progression and Cytokine Profiles of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Infection**. *J Korean Med Sci* 2016, **31**(11):1717-1725.
617. Chien JY, Hsueh PR, Cheng WC, Yu CJ, Yang PC: **Temporal changes in cytokine/chemokine profiles and pulmonary involvement in severe acute respiratory syndrome**. *Respirology* 2006, **11**(6):715-722.
618. Wang CH, Liu CY, Wan YL, Chou CL, Huang KH, Lin HC, Lin SM, Lin TY, Chung KF, Kuo HP: **Persistence of lung inflammation and lung cytokines with high-resolution CT abnormalities during recovery from SARS**. *Respiratory research* 2005, **6**:42.
619. Wong CK, Lam CW, Wu AK, Ip WK, Lee NL, Chan IH, Lit LC, Hui DS, Chan MH, Chung SS *et al*: **Plasma inflammatory cytokines and chemokines in severe acute respiratory syndrome**. *Clinical and experimental immunology* 2004, **136**(1):95-103.
620. Zhang Y, Li J, Zhan Y, Wu L, Yu X, Zhang W, Ye L, Xu S, Sun R, Wang Y *et al*: **Analysis of serum cytokines in patients with severe acute respiratory syndrome**. *Infection and immunity* 2004, **72**(8):4410-4415.
621. Zhou J, Chu H, Li C, Wong BH, Cheng ZS, Poon VK, Sun T, Lau CC, Wong KK, Chan JY *et al*: **Active replication of Middle East respiratory syndrome coronavirus and aberrant induction of inflammatory cytokines and chemokines in human macrophages: implications for pathogenesis**. *The Journal of infectious diseases* 2014, **209**(9):1331-1342.
622. Faure E, Poissy J, Goffard A, Fournier C, Kipnis E, Titecat M, Bortolotti P, Martinez L, Dubucquoi S, Dessein R *et al*: **Distinct immune response in two MERS-CoV-infected patients: can we go from bench to bedside?** *PloS one* 2014, **9**(2):e88716.
623. Min CK, Cheon S, Ha NY, Sohn KM, Kim Y, Aigerim A, Shin HM, Choi JY, Inn KS, Kim JH *et al*: **Comparative and kinetic analysis of viral shedding and immunological responses in MERS patients representing a broad spectrum of disease severity**. *Scientific reports* 2016, **6**:25359.

624. Shin HS, Kim Y, Kim G, Lee JY, Jeong I, Joh JS, Kim H, Chang E, Sim SY, Park JS *et al*: **Immune responses to MERS coronavirus during the acute and convalescent phases of human infection.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2018.
625. Mahallawi WH, Khabour OF, Zhang Q, Makhdoum HM, Suliman BA: **MERS-CoV infection in humans is associated with a pro-inflammatory Th1 and Th17 cytokine profile.** *Cytokine* 2018, **104**:8-13.
626. Perlman S, Dandekar AA: **Immunopathogenesis of coronavirus infections: implications for SARS.** *Nature reviews Immunology* 2005, **5**(12):917-927.
627. Harvey R, Champe, P., Fisher, B.,: **Positive-Strand RNA Viruses.** In: *Microbiology.* 2nd edn. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2007.
628. Ooi MH, Wong SC, Lewthwaite P, Cardoso MJ, Solomon T: **Clinical features, diagnosis, and management of enterovirus 71.** *The Lancet Neurology* 2010, **9**(11):1097-1105.
629. Kogon A, Spigland I, Frothingham TE, Elveback L, Williams C, Hall CE, Fox JP: **The virus watch program: a continuing surveillance of viral infections in metropolitan New York families. VII. Observations on viral excretion, seroimmunity, intrafamilial spread and illness association in coxsackie and echovirus infections.** *American journal of epidemiology* 1969, **89**(1):51-61.
630. Joki-Korpela P, Hyypia T: **Parechoviruses, a novel group of human picornaviruses.** *Ann Med* 2001, **33**(7):466-471.
631. Harvala H, McLeish N, Kondracka J, McIntyre CL, McWilliam Leitch EC, Templeton K, Simmonds P: **Comparison of human parechovirus and enterovirus detection frequencies in cerebrospinal fluid samples collected over a 5-year period in edinburgh: HPeV type 3 identified as the most common picornavirus type.** *Journal of medical virology* 2011, **83**(5):889-896.
632. Verboon-Maciolek MA, Krediet TG, Gerards LJ, de Vries LS, Groenendaal F, van Loon AM: **Severe neonatal parechovirus infection and similarity with enterovirus infection.** *The Pediatric infectious disease journal* 2008, **27**(3):241-245.
633. Wolthers KC, Benschop KS, Schinkel J, Molenkamp R, Bergevoet RM, Spijkerman IJ, Kraakman HC, Pajkrt D: **Human parechoviruses as an important viral cause of sepsislike illness and meningitis in young children.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2008, **47**(3):358-363.
634. Abed Y, Boivin G: **Human parechovirus types 1, 2 and 3 infections in Canada.** *Emerging infectious diseases* 2006, **12**(6):969-975.
635. Harvala H, Wolthers KC, Simmonds P: **Parechoviruses in children: understanding a new infection.** *Current opinion in infectious diseases* 2010, **23**(3):224-230.
636. Levorson RE, Jantausch BA: **Human parechoviruses.** *The Pediatric infectious disease journal* 2009, **28**(9):831-832.
637. Bell EJ, Ross CA, Grist NR: **ECHO 9 infection in pregnant women with suspected rubella.** *J Clin Pathol* 1975, **28**(4):267-269.
638. Lerner AM, Klein JO, Levin HS, Finland M: **Infections due to Coxsackie virus group A, type 9, in Boston, 1959, with special reference to exanthems and pneumonia.** *The New England journal of medicine* 1960, **263**:1265-1272.
639. Sabin AB, Krumbiegel ER, Wigand R: **ECHO type 9 virus disease.** *AMA journal of diseases of children* 1958, **96**(2):197-219.
640. Neva FA, Feemster RF, Gorbach IJ: **Clinical and epidemiological features of an usual epidemic exanthem.** *Journal of the American Medical Association* 1954, **155**(6):544-548.
641. Neva FA: **A second outbreak of Boston exanthem disease in Pittsburgh during 1954.** *The New England journal of medicine* 1956, **254**(18):838-843.

642. Adler JL, Mostow SR, Mellin H, Janney JH, Joseph JM: **Epidemiologic investigation of hand, foot, and mouth disease. Infection caused by coxsackievirus A 16 in Baltimore, June through September 1968.** *American journal of diseases of children* 1970, **120**(4):309-314.
643. Warin JF, Davies JB, Sanders FK, Vizoso AD: **Oxford epidemic of Bornholm disease, 1951.** *Br Med J* 1953, **1**(4824):1345-1351.
644. Curnen EC, Shaw EW, Melnick JL: **Disease resembling nonparalytic poliomyelitis associated with a virus pathogenic for infant mice.** *Journal of the American Medical Association* 1949, **141**(13):894-901.
645. Weller TH, Enders JF, Buckingham M, Finn JJ, Jr.: **The etiology of epidemic pleurodynia: a study of two viruses isolated from a typical outbreak.** *Journal of immunology* 1950, **65**(3):337-346.
646. Smith WG: **Adult heart disease due to the Coxsackie virus group B.** *Br Heart J* 1966, **28**(2):204-220.
647. Verma NA, Zheng XT, Harris MU, Cadichon SB, Melin-Aldana H, Khetsuriani N, Oberste MS, Shulman ST: **Outbreak of life-threatening coxsackievirus B1 myocarditis in neonates.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2009, **49**(5):759-763.
648. Freund MW, Kleinveld G, Krediet TG, van Loon AM, Verboon-Maciolek MA: **Prognosis for neonates with enterovirus myocarditis.** *Archives of disease in childhood Fetal and neonatal edition* 2010, **95**(3):F206-212.
649. Spanakis N, Manolis EN, Tsakris A, Tsiodras S, Panagiotopoulos T, Saroglou G, Legakis NJ: **Coxsackievirus B3 sequences in the myocardium of fatal cases in a cluster of acute myocarditis in Greece.** *J Clin Pathol* 2005, **58**(4):357-360.
650. Marier R, Rodriguez W, Chloupek RJ, Brandt CD, Kim HW, Baltimore RS, Parker CL, Artenstein MS: **Coxsackievirus B5 infection and aseptic meningitis in neonates and children.** *American journal of diseases of children* 1975, **129**(3):321-325.
651. Wilfert CM, Lauer BA, Cohen M, Costenbader ML, Myers E: **An epidemic of echovirus 18 meningitis.** *The Journal of infectious diseases* 1975, **131**(1):75-78.
652. Berlin LE, Rorabaugh ML, Heldrich F, Roberts K, Doran T, Modlin JF: **Aseptic meningitis in infants < 2 years of age: diagnosis and etiology.** *The Journal of infectious diseases* 1993, **168**(4):888-892.
653. Fowlkes AL, Honarmand S, Glaser C, Yagi S, Schnurr D, Oberste MS, Anderson L, Pallansch MA, Khetsuriani N: **Enterovirus-associated encephalitis in the California encephalitis project, 1998-2005.** *The Journal of infectious diseases* 2008, **198**(11):1685-1691.
654. Kono R, Sasagawa A, Yamazaki S, Nakazono N, Minami K, Otatsume S, Robin Y, Renaudet J, Cornet M, Afoakwa SN *et al*: **Seroepidemiologic studies of acute hemorrhagic conjunctivitis virus (enterovirus type 70) in West Africa. III. Studies with animal sera from Ghana and Senegal.** *American journal of epidemiology* 1981, **114**(3):362-368.
655. Kono R, Sasagawa A, Miyamura K, Tajiri E: **Serologic characterization and sero-epidemiologic studies on acute hemorrhagic conjunctivitis (AHC) virus.** *American journal of epidemiology* 1975, **101**(5):444-457.
656. Martinez M, Shukla H, Ahmadi M, Inulin J, Widodo MS, Ahmed J, Mbaeyi C, Jabra J, Gerhardt D: **Progress Toward Poliomyelitis Eradication - Afghanistan, January 2017-May 2018.** *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2018, **67**(30):833-837.
657. Duintjer Tebbens RJ, Thompson KM: **Polio endgame risks and the possibility of restarting the use of oral poliovirus vaccine.** *Expert review of vaccines* 2018.
658. Kew O, Pallansch M: **Breaking the Last Chains of Poliovirus Transmission: Progress and Challenges in Global Polio Eradication.** *Annu Rev Virol* 2018.

659. Roberts L: **Polio outbreaks in the DRC threaten eradication effort.** *Science* 2018, **361**(6397):10-11.
660. Bitnun A, Yeh EA: **Acute Flaccid Paralysis and Enteroviral Infections.** *Curr Infect Dis Rep* 2018, **20**(9):34.
661. Alexander JP, Jr., Baden L, Pallansch MA, Anderson LJ: **Enterovirus 71 infections and neurologic disease--United States, 1977-1991.** *The Journal of infectious diseases* 1994, **169**(4):905-908.
662. Lum LC, Wong KT, Lam SK, Chua KB, Goh AY, Lim WL, Ong BB, Paul G, AbuBakar S, Lambert M: **Fatal enterovirus 71 encephalomyelitis.** *The Journal of pediatrics* 1998, **133**(6):795-798.
663. Huang CC, Liu CC, Chang YC, Chen CY, Wang ST, Yeh TF: **Neurologic complications in children with enterovirus 71 infection.** *The New England journal of medicine* 1999, **341**(13):936-942.
664. Chan KP, Goh KT, Chong CY, Teo ES, Lau G, Ling AE: **Epidemic hand, foot and mouth disease caused by human enterovirus 71, Singapore.** *Emerging infectious diseases* 2003, **9**(1):78-85.
665. Jiang M, Wei D, Ou WL, Li KX, Luo DZ, Li YQ, Chen E, Nong GM: **Autopsy findings in children with hand, foot, and mouth disease.** *The New England journal of medicine* 2012, **367**(1):91-92.
666. McMinn P, Stratov I, Nagarajan L, Davis S: **Neurological manifestations of enterovirus 71 infection in children during an outbreak of hand, foot, and mouth disease in Western Australia.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2001, **32**(2):236-242.
667. Chang LY, Tsao KC, Hsia SH, Shih SR, Huang CG, Chan WK, Hsu KH, Fang TY, Huang YC, Lin TY: **Transmission and clinical features of enterovirus 71 infections in household contacts in Taiwan.** *Jama* 2004, **291**(2):222-227.
668. Chang LY, Huang LM, Gau SS, Wu YY, Hsia SH, Fan TY, Lin KL, Huang YC, Lu CY, Lin TY: **Neurodevelopment and cognition in children after enterovirus 71 infection.** *The New England journal of medicine* 2007, **356**(12):1226-1234.
669. Sklar VE, Patriarca PA, Onorato IM, Langford MP, Clark SW, Culbertson WW, Forster RK: **Clinical findings and results of treatment in an outbreak of acute hemorrhagic conjunctivitis in southern Florida.** *Am J Ophthalmol* 1983, **95**(1):45-54.
670. Kinney JS, McCray E, Kaplan JE, Low DE, Hammond GW, Harding G, Pinsky PF, Davi MJ, Kovnats SF, Riben P *et al*: **Risk factors associated with echovirus 11' infection in a hospital nursery.** *Pediatric infectious disease* 1986, **5**(2):192-197.
671. Modlin JF: **Perinatal echovirus infection: insights from a literature review of 61 cases of serious infection and 16 outbreaks in nurseries.** *Reviews of infectious diseases* 1986, **8**(6):918-926.
672. Lake AM, Lauer BA, Clark JC, Wesenberg RL, McIntosh K: **Enterovirus infections in neonates.** *The Journal of pediatrics* 1976, **89**(5):787-791.
673. Cherry JD, Soriano F, Jahn CL: **Search for perinatal viral infection. A prospective, clinical, virologic, and serologic study.** *American journal of diseases of children* 1968, **116**(3):245-250.
674. Modlin JF, Polk BF, Horton P, Etkind P, Crane E, Spiliotes A: **Perinatal echovirus infection: risk of transmission during a community outbreak.** *The New England journal of medicine* 1981, **305**(7):368-371.
675. Jones MJ, Kolb M, Votava HJ, Johnson RL, Smith TF: **Case reports. Intrauterine echovirus type II infection.** *Mayo Clinic proceedings* 1980, **55**(8):509-512.
676. Reyes MP, Ostrea EM, Jr., Roskamp J, Lerner AM: **Disseminated neonatal echovirus 11 disease following antenatal maternal infection with a virus-positive cervix and virus-negative gastrointestinal tract.** *Journal of medical virology* 1983, **12**(2):155-159.

677. Kaplan MH, Klein SW, McPhee J, Harper RG: **Group B coxsackievirus infections in infants younger than three months of age: a serious childhood illness.** *Reviews of infectious diseases* 1983, **5**(6):1019-1032.
678. Kibrick S: **Current Status of Coxsackie and Echo Viruses in Human Disease.** *Progress in medical virology Fortschritte der medizinischen Virusforschung Progres en virologie medicale* 1964, **6**:27-70.
679. Gear JH, Measroch V: **Coxsackievirus infections of the newborn.** *Progress in medical virology Fortschritte der medizinischen Virusforschung Progres en virologie medicale* 1973, **15**:42-62.
680. Chambon M, Delage C, Bailly JL, Gaulme J, Dechelotte P, Henquell C, Jallat C, Peigue-Lafeuille H: **Fatal hepatic necrosis in a neonate with echovirus 20 infection: use of the polymerase chain reaction to detect enterovirus in liver tissue.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 1997, **24**(3):523-524.
681. Georgieff MK, Johnson DE, Thompson TR, Belani K, Ferrieri P: **Fulminant hepatic necrosis in an infant with perinatally acquired echovirus 21 infection.** *The Pediatric infectious disease journal* 1987, **6**(1):71-73.
682. Spector SA, Straube RC: **Protean manifestations of perinatal enterovirus infections.** *The Western journal of medicine* 1983, **138**(6):847-851.
683. Speer ME, Yawn DH: **Fatal hepatoadrenal necrosis in the neonate associated with echovirus types 11 and 12 presenting as a surgical emergency.** *J Pediatr Surg* 1984, **19**(5):591-593.
684. Wreghitt TG, Gandy GM, King A, Sutehall G: **Fatal neonatal echo 7 virus infection.** *Lancet* 1984, **2**(8400):465.
685. Trabelsi A, Grattard F, Nejmeddine M, Aouni M, Bourlet T, Pozzetto B: **Evaluation of an enterovirus group-specific anti-VP1 monoclonal antibody, 5-D8/1, in comparison with neutralization and PCR for rapid identification of enteroviruses in cell culture.** *Journal of clinical microbiology* 1995, **33**(9):2454-2457.
686. Nolte FS, Rogers BB, Tang YW, Oberste MS, Robinson CC, Kehl KS, Rand KA, Rotbart HA, Romero JR, Nyquist AC *et al*: **Evaluation of a rapid and completely automated real-time reverse transcriptase PCR assay for diagnosis of enteroviral meningitis.** *Journal of clinical microbiology* 2011, **49**(2):528-533.
687. Rotbart HA, Ahmed A, Hickey S, Dagan R, McCracken GH, Jr., Whitley RJ, Modlin JF, Cascino M, O'Connell JF, Menegus MA *et al*: **Diagnosis of enterovirus infection by polymerase chain reaction of multiple specimen types.** *The Pediatric infectious disease journal* 1997, **16**(4):409-411.
688. Abzug MJ, Loeffelholz M, Rotbart HA: **Diagnosis of neonatal enterovirus infection by polymerase chain reaction.** *The Journal of pediatrics* 1995, **126**(3):447-450.
689. Rotbart HA, Sawyer MH, Fast S, Lewinski C, Murphy N, Keyser EF, Spadoro J, Kao SY, Loeffelholz M: **Diagnosis of enteroviral meningitis by using PCR with a colorimetric microwell detection assay.** *Journal of clinical microbiology* 1994, **32**(10):2590-2592.
690. Halonen P, Rocha E, Hierholzer J, Holloway B, Hyypia T, Hurskainen P, Pallansch M: **Detection of enteroviruses and rhinoviruses in clinical specimens by PCR and liquid-phase hybridization.** *Journal of clinical microbiology* 1995, **33**(3):648-653.
691. Archimbaud C, Chambon M, Bailly JL, Petit I, Henquell C, Mirand A, Aublet-Cuvelier B, Ughetto S, Beytout J, Clavelou P *et al*: **Impact of rapid enterovirus molecular diagnosis on the management of infants, children, and adults with aseptic meningitis.** *Journal of medical virology* 2009, **81**(1):42-48.
692. Xiao XL, Wu H, Li YJ, Li HF, He YQ, Chen G, Zhang JW, Yang H, Li XF, Yang XQ *et al*: **Simultaneous detection of enterovirus 70 and coxsackievirus A24 variant by**

- multiplex real-time RT-PCR using an internal control.** *Journal of virological methods* 2009, **159**(1):23-28.
693. Xiao XL, He YQ, Yu YG, Yang H, Chen G, Li HF, Zhang JW, Liu DM, Li XF, Yang XQ *et al*: **Simultaneous detection of human enterovirus 71 and coxsackievirus A16 in clinical specimens by multiplex real-time PCR with an internal amplification control.** *Archives of virology* 2009, **154**(1):121-125.
694. Rotbart HA, Webster AD, Pleconaril Treatment Registry G: **Treatment of potentially life-threatening enterovirus infections with pleconaril.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2001, **32**(2):228-235.
695. Goland S, Czer LS, Siegel RJ, Tabak S, Jordan S, Luthringer D, Mirocha J, Coleman B, Kass RM, Trento A: **Intravenous immunoglobulin treatment for acute fulminant inflammatory cardiomyopathy: series of six patients and review of literature.** *Can J Cardiol* 2008, **24**(7):571-574.
696. Couch RB, Douglas RG, Jr., Lindgren KM, Gerone PJ, Knight V: **Airborne transmission of respiratory infection with coxsackievirus A type 21.** *American journal of epidemiology* 1970, **91**(1):78-86.
697. Onorato IM, Morens DM, Schonberger LB, Hatch MH, Kaminski RM, Turner JP: **Acute hemorrhagic conjunctivitis caused by enterovirus type 70: an epidemic in American Samoa.** *The American journal of tropical medicine and hygiene* 1985, **34**(5):984-991.
698. Ogra PL, Karzon DT. **Formation and function of poliovirus antibody in different tissues.** *Prog Med Virol.* 1971. **13:157.** .
699. Ogra PL, Okayasu H, Czerkinsky C, Sutter RW: **Mucosal immunity to poliovirus.** *Expert review of vaccines* 2011, **10**(10):1389-1392.
700. Zhaori G, Sun M, Faden HS, Ogra PL: **Nasopharyngeal secretory antibody response to poliovirus type 3 virion proteins exhibit different specificities after immunization with live or inactivated poliovirus vaccines.** *The Journal of infectious diseases* 1989, **159**(6):1018-1024.
701. Ogra PL: **Mucosal immune response to poliovirus vaccines in childhood.** *Reviews of infectious diseases* 1984, **6 Suppl 2**:S361-368.
702. Torfason EG, Reimer CB, Keyserling HL: **Subclass restriction of human enterovirus antibodies.** *Journal of clinical microbiology* 1987, **25**(8):1376-1379.
703. Rose NR, Wolfgram LJ, Herskowitz A, Beisel KW: **Postinfectious autoimmunity: two distinct phases of coxsackievirus B3-induced myocarditis.** *Annals of the New York Academy of Sciences* 1986, **475**:146-156.
704. Wang SM, Lei HY, Yu CK, Wang JR, Su IJ, Liu CC: **Acute chemokine response in the blood and cerebrospinal fluid of children with enterovirus 71-associated brainstem encephalitis.** *The Journal of infectious diseases* 2008, **198**(7):1002-1006.
705. Lin TY, Chang LY, Huang YC, Hsu KH, Chiu CH, Yang KD: **Different proinflammatory reactions in fatal and non-fatal enterovirus 71 infections: implications for early recognition and therapy.** *Acta paediatrica* 2002, **91**(6):632-635.
706. Lin TY, Hsia SH, Huang YC, Wu CT, Chang LY: **Proinflammatory cytokine reactions in enterovirus 71 infections of the central nervous system.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2003, **36**(3):269-274.
707. Cui D, Zhong F, Lin J, Wu Y, Long Q, Yang X, Zhu Q, Huang L, Mao Q, Huo Z *et al*: **Changes of circulating Th22 cells in children with hand, foot, and mouth disease caused by enterovirus 71 infection.** *Oncotarget* 2017, **8**(17):29370-29382.
708. Zeng M, Zheng X, Wei R, Zhang N, Zhu K, Xu B, Yang CH, Yang CF, Deng C, Pu D *et al*: **The cytokine and chemokine profiles in patients with hand, foot and mouth disease**

- of different severities in Shanghai, China, 2010.** *PLoS neglected tropical diseases* 2013, **7**(12):e2599.
709. Wu J, Cui D, Yang X, Lou J, Lin J, Ye X, Qin Z, Huang L, Zhao D, Huo Z *et al*: **Increased frequency of circulating follicular helper T cells in children with hand, foot, and mouth disease caused by enterovirus 71 infection.** *Journal of immunology research* 2014, **2014**:651872.
710. Huang Q, Wang Y, Si C, Zhao D, Wang Y, Duan Y: **Interleukin-35 Modulates the Imbalance Between Regulatory T Cells and T Helper 17 Cells in Enterovirus 71-Induced Hand, Foot, and Mouth Disease.** *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research* 2017, **37**(12):522-530.
711. Griffiths MJ, Ooi MH, Wong SC, Mohan A, Podin Y, Perera D, Chieng CH, Tio PH, Cardoso MJ, Solomon T: **In enterovirus 71 encephalitis with cardio-respiratory compromise, elevated interleukin 1beta, interleukin 1 receptor antagonist, and granulocyte colony-stimulating factor levels are markers of poor prognosis.** *The Journal of infectious diseases* 2012, **206**(6):881-892.
712. Rager-Zisman B, Allison AC: **The role of antibody and host cells in the resistance of mice against infection by coxsackie B-3 virus.** *The Journal of general virology* 1973, **19**(3):329-338.
713. Monto AS: **The seasonality of rhinovirus infections and its implications for clinical recognition.** *Clinical therapeutics* 2002, **24**(12):1987-1997.
714. Monto AS: **Epidemiology of viral respiratory infections.** *The American journal of medicine* 2002, **112 Suppl 6A**:4S-12S.
715. Monto AS, Ohmit S: **Respiratory syncytial virus in a community population: circulation of subgroups A and B since 1965.** *The Journal of infectious diseases* 1990, **161**(4):781-783.
716. Brotons P, Henares D, Latorre I, Cepillo A, Launes C, Munoz-Almagro C: **Comparison of NxTAG Respiratory Pathogen Panel and Anyplex II RV16 Tests for Multiplex Detection of Respiratory Pathogens in Hospitalized Children.** *Journal of clinical microbiology* 2016, **54**(12):2900-2904.
717. Essa S, Owayed A, Altawalah H, Khadadah M, Behbehani N, Al-Nakib W: **Mixed viral infections circulating in hospitalized patients with respiratory tract infections in kuwait.** *Advances in virology* 2015, **2015**:714062.
718. Gooskens J, van der Ploeg V, Sukhai RN, Vossen AC, Claas EC, Kroes AC: **Clinical evaluation of viral acute respiratory tract infections in children presenting to the emergency department of a tertiary referral hospital in the Netherlands.** *BMC Pediatr* 2014, **14**:297.
719. Pogka V, Kossivakis A, Kalliaropoulos A, Moutousi A, Sgouras D, Panagiotopoulos T, Chrousos GP, Theodoridou M, Syriopoulou VP, Mentis AF: **Respiratory viruses involved in influenza-like illness in a Greek pediatric population during the winter period of the years 2005-2008.** *Journal of medical virology* 2011, **83**(10):1841-1848.
720. Chonmaitree T, Alvarez-Fernandez P, Jennings K, Trujillo R, Marom T, Loeffelholz MJ, Miller AL, McCormick DP, Patel JA, Pyles RB: **Symptomatic and asymptomatic respiratory viral infections in the first year of life: association with acute otitis media development.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2015, **60**(1):1-9.
721. Calvo C, Garcia-Garcia ML, Pozo F, Paula G, Molinero M, Calderon A, Gonzalez-Esguevillas M, Casas I: **Respiratory Syncytial Virus Coinfections With Rhinovirus and Human Bocavirus in Hospitalized Children.** *Medicine (Baltimore)* 2015, **94**(42):e1788.
722. Chen YW, Huang YC, Ho TH, Huang CG, Tsao KC, Lin TY: **Viral etiology of bronchiolitis among pediatric inpatients in northern Taiwan with emphasis on newly identified**

- respiratory viruses.** *Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi* 2014, **47**(2):116-121.
723. Chung JY, Han TH, Kim SW, Hwang ES: **Respiratory picornavirus infections in Korean children with lower respiratory tract infections.** *Scandinavian journal of infectious diseases* 2007, **39**(3):250-254.
724. Freymuth F, Vabret A, Cuvillon-Nimal D, Simon S, Dina J, Legrand L, Gouarin S, Petitjean J, Eckart P, Brouard J: **Comparison of multiplex PCR assays and conventional techniques for the diagnostic of respiratory virus infections in children admitted to hospital with an acute respiratory illness.** *Journal of medical virology* 2006, **78**(11):1498-1504.
725. Martinez-Roig A, Salvado M, Caballero-Rabasco MA, Sanchez-Buenavida A, Lopez-Segura N, Bonet-Alcaina M: **Viral coinfection in childhood respiratory tract infections.** *Arch Bronconeumol* 2015, **51**(1):5-9.
726. Poulakou G, Souto J, Balcells J, Perez M, Laborda C, Roca O, Tortola T, Pujol M, Palomar M, Rello J: **First influenza season after the 2009 pandemic influenza: characteristics of intensive care unit admissions in adults and children in Vall d'Hebron Hospital.** *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2012, **18**(4):374-380.
727. Renois F, Talmud D, Huguenin A, Moutte L, Strady C, Cousson J, Leveque N, Andreoletti L: **Rapid detection of respiratory tract viral infections and coinfections in patients with influenza-like illnesses by use of reverse transcription-PCR DNA microarray systems.** *Journal of clinical microbiology* 2010, **48**(11):3836-3842.
728. Lu Y, Tong J, Pei F, Yang Y, Xu D, Ji M, Xing C, Jia P, Xu C, Wang Y *et al*: **Viral aetiology in adults with acute upper respiratory tract infection in Jinan, Northern China.** *Clinical & developmental immunology* 2013, **2013**:869521.
729. Noh JY, Song JY, Cheong HJ, Choi WS, Lee J, Lee JS, Wie SH, Jeong HW, Kim YK, Choi SH *et al*: **Laboratory surveillance of influenza-like illness in seven teaching hospitals, South Korea: 2011-2012 season.** *PLoS one* 2013, **8**(5):e64295.
730. Nascimento-Carvalho CM, Oliveira JR, Cardoso MR, Araujo-Neto C, Barral A, Saukkoripi A, Paldanius M, Leinonen M, Lappalainen M, Soderlund-Venermo M *et al*: **Respiratory viral infections among children with community-acquired pneumonia and pleural effusion.** *Scandinavian journal of infectious diseases* 2013, **45**(6):478-483.
731. Zhang D, He Z, Xu L, Zhu X, Wu J, Wen W, Zheng Y, Deng Y, Chen J, Hu Y *et al*: **Epidemiology characteristics of respiratory viruses found in children and adults with respiratory tract infections in southern China.** *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases* 2014, **25**:159-164.
732. Monto AS, Ullman BM: **Acute respiratory illness in an American community. The Tecumseh study.** *Jama* 1974, **227**(2):164-169.
733. Jain S, Williams DJ, Arnold SR, Ampofo K, Bramley AM, Reed C, Stockmann C, Anderson EJ, Grijalva CG, Self WH *et al*: **Community-acquired pneumonia requiring hospitalization among U.S. children.** *The New England journal of medicine* 2015, **372**(9):835-845.
734. Rodriguez-Auad JP, Nava-Frias M, Casasola-Flores J, Johnson KM, Nava-Ruiz A, Perez-Robles V, Caniza MA: **The epidemiology and clinical characteristics of respiratory syncytial virus infection in children at a public pediatric referral hospital in Mexico.** *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases* 2012, **16**(7):e508-513.
735. Kouni S, Karakitsos P, Chranioti A, Theodoridou M, Chrousos G, Michos A: **Evaluation of viral co-infections in hospitalized and non-hospitalized children with respiratory infections using microarrays.** *Clinical microbiology and infection : the official*

- publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 2013, **19**(8):772-777.
736. Principi N, Esposito S: **Paediatric human metapneumovirus infection: epidemiology, prevention and therapy**. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2014, **59**(3):141-147.
737. Walsh EE, Falsey AR: **Respiratory syncytial virus infection in adult populations**. *Infectious disorders drug targets* 2012, **12**(2):98-102.
738. Bont L, Baraldi E, Fauroux B, Greenough A, Heikkinen T, Manzoni P, Martinon-Torres F, Nair H, Papadopoulos NG, ReSviNet: **RSV--still more questions than answers**. *The Pediatric infectious disease journal* 2014, **33**(11):1177-1179.
739. Sundaram ME, Meece JK, Sifakis F, Gasser RA, Jr., Belongia EA: **Medically attended respiratory syncytial virus infections in adults aged \geq 50 years: clinical characteristics and outcomes**. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2014, **58**(3):342-349.
740. Widmer K, Griffin MR, Zhu Y, Williams JV, Talbot HK: **Respiratory syncytial virus- and human metapneumovirus-associated emergency department and hospital burden in adults**. *Influenza and other respiratory viruses* 2014, **8**(3):347-352.
741. Pitzer VE, Viboud C, Alonso WJ, Wilcox T, Metcalf CJ, Steiner CA, Haynes AK, Grenfell BT: **Environmental drivers of the spatiotemporal dynamics of respiratory syncytial virus in the United States**. *PLoS pathogens* 2015, **11**(1):e1004591.
742. Jaakkola K, Saukkoriipi A, Jokelainen J, Juvonen R, Kauppila J, Vainio O, Ziegler T, Ronkko E, Jaakkola JJ, Ikaheimo TM *et al*: **Decline in temperature and humidity increases the occurrence of influenza in cold climate**. *Environmental health : a global access science source* 2014, **13**(1):22.
743. Chen Z, Zhu Y, Wang Y, Zhou W, Yan Y, Zhu C, Zhang X, Sun H, Ji W: **Association of meteorological factors with childhood viral acute respiratory infections in subtropical China: an analysis over 11 years**. *Archives of virology* 2014, **159**(4):631-639.
744. Alonso WJ, Laranjeira BJ, Pereira SA, Florencio CM, Moreno EC, Miller MA, Giglio R, Schuck-Paim C, Moura FE: **Comparative dynamics, morbidity and mortality burden of pediatric viral respiratory infections in an equatorial city**. *The Pediatric infectious disease journal* 2012, **31**(1):e9-14.
745. Annan A, Ebach F, Corman VM, Krumkamp R, Adu-Sarkodie Y, Eis-Hubinger AM, Kruppa T, Simon A, May J, Evans J *et al*: **Similar virus spectra and seasonality in paediatric patients with acute respiratory disease, Ghana and Germany**. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2016, **22**(4):340-346.
746. Lieberman D, Lieberman D, Shimoni A, Keren-Naus A, Steinberg R, Shemer-Avni Y: **Identification of respiratory viruses in adults: nasopharyngeal versus oropharyngeal sampling**. *Journal of clinical microbiology* 2009, **47**(11):3439-3443.
747. Lieberman D, Lieberman D, Shimoni A, Keren-Naus A, Steinberg R, Shemer-Avni Y: **Pooled nasopharyngeal and oropharyngeal samples for the identification of respiratory viruses in adults**. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology* 2010, **29**(6):733-735.
748. Voiriot G, Visseaux B, Cohen J, Nguyen LB, Neuville M, Morbieu C, Burdet C, Radjou A, Lescure FX, Smonig R *et al*: **Viral-bacterial coinfection affects the presentation and alters the prognosis of severe community-acquired pneumonia**. *Critical care* 2016, **20**(1):375.
749. van Gageldonk-Lafeber AB, Heijnen ML, Bartelds AI, Peters MF, van der Plas SM, Wilbrink B: **A case-control study of acute respiratory tract infection in general**

- practice patients in The Netherlands. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2005, **41**(4):490-497.
750. Ouyang W, Kolls JK, Zheng Y: **The biological functions of T helper 17 cell effector cytokines in inflammation.** *Immunity* 2008, **28**(4):454-467.
751. Amatya N, Garg AV, Gaffen SL: **IL-17 Signaling: The Yin and the Yang.** *Trends in immunology* 2017, **38**(5):310-322.
752. Aujla SJ, Dubin PJ, Kolls JK: **Th17 cells and mucosal host defense.** *Seminars in immunology* 2007, **19**(6):377-382.
753. Wang YH, Angkasekwinai P, Lu N, Voo KS, Arima K, Hanabuchi S, Hippe A, Corrigan CJ, Dong C, Homey B *et al*: **IL-25 augments type 2 immune responses by enhancing the expansion and functions of TSLP-DC-activated Th2 memory cells.** *The Journal of experimental medicine* 2007, **204**(8):1837-1847.
754. Hayden FG, Fritz R, Lobo MC, Alvord W, Strober W, Straus SE: **Local and systemic cytokine responses during experimental human influenza A virus infection. Relation to symptom formation and host defense.** *The Journal of clinical investigation* 1998, **101**(3):643-649.
755. Hayden FG, Treanor JJ, Fritz RS, Lobo M, Betts RF, Miller M, Kinnersley N, Mills RG, Ward P, Straus SE: **Use of the oral neuraminidase inhibitor oseltamivir in experimental human influenza: randomized controlled trials for prevention and treatment.** *Jama* 1999, **282**(13):1240-1246.
756. Tisoncik JR, Korth MJ, Simmons CP, Farrar J, Martin TR, Katze MG: **Into the eye of the cytokine storm.** *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR* 2012, **76**(1):16-32.
757. Wu W, Booth JL, Duggan ES, Wu S, Patel KB, Coggeshall KM, Metcalf JP: **Innate immune response to H3N2 and H1N1 influenza virus infection in a human lung organ culture model.** *Virology* 2010, **396**(2):178-188.
758. Svitek N, Rudd PA, Obojes K, Pillet S, von Messling V: **Severe seasonal influenza in ferrets correlates with reduced interferon and increased IL-6 induction.** *Virology* 2008, **376**(1):53-59.
759. Nakajima N, Van Tin N, Sato Y, Thach HN, Katano H, Diep PH, Kumasaka T, Thuy NT, Hasegawa H, San LT *et al*: **Pathological study of archival lung tissues from five fatal cases of avian H5N1 influenza in Vietnam.** *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 2013, **26**(3):357-369.
760. Arankalle VA, Lole KS, Arya RP, Tripathy AS, Ramdasi AY, Chadha MS, Sangle SA, Kadam DB: **Role of host immune response and viral load in the differential outcome of pandemic H1N1 (2009) influenza virus infection in Indian patients.** *PloS one* 2010, **5**(10).
761. Crowe CR, Chen K, Pociask DA, Alcorn JF, Krivich C, Enelow RI, Ross TM, Witztum JL, Kolls JK: **Critical role of IL-17RA in immunopathology of influenza infection.** *Journal of immunology* 2009, **183**(8):5301-5310.
762. Hamada H, Garcia-Hernandez Mde L, Reome JB, Misra SK, Strutt TM, McKinstry KK, Cooper AM, Swain SL, Dutton RW: **Tc17, a unique subset of CD8 T cells that can protect against lethal influenza challenge.** *Journal of immunology* 2009, **182**(6):3469-3481.
763. To KK, Hung IF, Li IW, Lee KL, Koo CK, Yan WW, Liu R, Ho KY, Chu KH, Watt CL *et al*: **Delayed clearance of viral load and marked cytokine activation in severe cases of pandemic H1N1 2009 influenza virus infection.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2010, **50**(6):850-859.
764. Jiang TJ, Zhang JY, Li WG, Xie YX, Zhang XW, Wang Y, Jin L, Wang FS, Zhao M: **Preferential loss of Th17 cells is associated with CD4 T cell activation in patients with**

- 2009 pandemic H1N1 swine-origin influenza A infection.** *Clinical immunology* 2010, **137**(3):303-310.
765. Kim YH, Kim JE, Hyun MC: **Cytokine response in pediatric patients with pandemic influenza H1N1 2009 virus infection and pneumonia: comparison with pediatric pneumonia without H1N1 2009 infection.** *Pediatric pulmonology* 2011, **46**(12):1233-1239.
766. Bian JR, Nie W, Zang YS, Fang Z, Xiu QY, Xu XX: **Clinical aspects and cytokine response in adults with seasonal influenza infection.** *International journal of clinical and experimental medicine* 2014, **7**(12):5593-5602.
767. Buttignol M, Pires-Neto RC, Rossi ESRC, Albino MB, Dolhnikoff M, Mauad T: **Airway and parenchyma immune cells in influenza A(H1N1)pdm09 viral and non-viral diffuse alveolar damage.** *Respiratory research* 2017, **18**(1):147.
768. Mukherjee S, Lindell DM, Berlin AA, Morris SB, Shanley TP, Hershenson MB, Lukacs NW: **IL-17-induced pulmonary pathogenesis during respiratory viral infection and exacerbation of allergic disease.** *The American journal of pathology* 2011, **179**(1):248-258.
769. Petersen BC, Dolgachev V, Rasky A, Lukacs NW: **IL-17E (IL-25) and IL-17RB promote respiratory syncytial virus-induced pulmonary disease.** *Journal of leukocyte biology* 2014, **95**(5):809-815.
770. Zhang G, Zhou KF, Lu ZH: **Interleukin-17 enhances the removal of respiratory syncytial virus in mice by promoting neutrophil migration and reducing interferon-gamma expression.** *Genetics and molecular research : GMR* 2016, **15**(1).
771. Mebratu YA, Tesfaigzi Y: **IL-17 Plays a Role in Respiratory Syncytial Virus-induced Lung Inflammation and Emphysema in Elastase and LPS-injured Mice.** *American journal of respiratory cell and molecular biology* 2018, **58**(6):717-726.
772. Christiaansen AF, Syed MA, Ten Eyck PP, Hartwig SM, Durairaj L, Kamath SS, Varga SM: **Altered Treg and cytokine responses in RSV-infected infants.** *Pediatric research* 2016, **80**(5):702-709.