مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان/ دوره پانزدهم/ بهار ۱۳۸۹/ ۳۵-۲۸

شناسایی و تعیین ژنو گروه نورووویروس در بیماران بزرگسال با موارد حاد گاستروانتریت

سارا رومانی[۱]، سید رضا محبی[۲]، سید مسعود حسینی[۳]، پدرام عظیم زاده[۴]، سجاد مجیدی زاده بزرگی[۵]، محسن واحدی[۶]، محمد رضا زالی[۷]

۱- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، محقق ویروس شناسی مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش وکبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۲- دکترای ویروس شناسی پزشکی، محقق ویروس شناسی مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش وکبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، (مؤلف مسؤول)

تلفن: ۰۲۱-۲۲۴۳۲۵۱۵ srmohebbi@rigld.ir

۳-استادیار ویروس شناسی، گروه میکروبیولوژی دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

۴- کارشناس ارشد زیست شناسی سلولی مولکولی، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش وکبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۵- کارشناس میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش وکبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۶- دانشجوی دکترای آمار زیستی، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش وکبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۷-استاد گروه داخلی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: نورووویروس‌های انسانی (NoVs) یکی از مهمترین عوامل شایع گاستروانتریت‌های حاد هستند. نورووویروس‌ها بسیار عفونی‌اند و انتقال آنها به صورت فرد به فرد و از راه مدفوعی- دهانی می‌باشد. نورووویروس‌ها را می‌توان به پنج ژنوگروه تقسیم‌بندی کرد که ژنوگروه‌های I و II به عنوان عامل عمده عفونتهای نورووویروسی در انسان شناخته شده است. اطلاعات کافی در رابطه با اسهال‌های نورووویروسی مربوط به افراد بزرگسال در تهران وجود ندارد. هدف این مطالعه تعیین میزان عفونت نورووویروسی در افراد بالای ۱۸ سال با مشکلات گوارشی و اسهال‌های حاد که به بیمارستان شهدا تجریش در تهران مراجعه کرده‌اند است.

روش بررسی: ۶۷ نمونه مدفوعی از بیماران بالای ۱۸ سال که دچار اسهال‌های حاد بودند، در تهران بین خرداد ماه ۱۳۸۷ تا بهمن ۱۳۸۷ جمع‌آوری شد. RNA استخراج و RT-PCR به وسیله پرایمرهایی که طراحی شده بودند و می‌توانستند بین ژنوتایپ I و II نورووویروس تمایز قائل شوند انجام گردید.

یافته‌ها: RNA نورووویروس در ۳ نمونه مدفوعی بیمار (۴/۵٪) ردیابی گشت. هر سه نمونه مثبت متعلق به ژنوگروه I بود و در فصل پائیز شناخته شد. متوسط سن افراد مبتلا ۸/۷±۳۲ سال بود.

نتیجه‌گیری: این نتایج نقش نورووویروس را به عنوان یک عامل ویروسی مسؤول در موارد گاستروانتریت در افراد بزرگسال آشکار می‌کند. همچنین این نتایج نشان دهنده برتری ژنوتایپ I نورووویروس در گاستروانتریت‌های حاد افراد بزرگسال در تهران است.

کلید واژه‌ها: نورووویروس، گاستروانتریت، تهران

وصول مقاله: ۸۸/۱۲/۳ اصلاحیه نهایی: ۸۹/۳/۲ پذیرش مقاله: ۸۹/۴/۱۷

مقدمه

نورووویروس‌های انسانی (NoVs) یکی از مهمترین عوامل شیوع گاستروانتریت‌های حاد غیر باکتریایی هستند و اغلب به عنوان عامل مشکلات و التهاب گوارشی تک گیر در همه گروه‌های سنی در سرتاسر جهان شناخته می‌شوند. در کنار نورووویروس می‌توان به سایر ویروس‌های روده‌ای مانند روتاویروس،

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 5:13 +0330 on Friday December 6th 2019

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 5:13 +0330 on Friday December 6th 2019

آدنوویروس و آستروویروس اشاره کرد که از این میان روتاویروس به عنوان عامل عمده اسهال در نوزادان و کودکان زیر ۵ سال با شیوع ۹/۲٪ شناخته می‌شود (۴-۱). سهم آدنوویروس و آستروویروس در عفونتهای گاستروانتریتی‌های به ترتیب ۲٪ و ۲/۷٪ گزارش شده است (۴). گزارش‌ها از کشورهای مختلف حاکی از آن است که ۵٪ تا ۱۷٪ از کل اسهال‌ها عامل نوروویروسی دارند (۵). به گزارش CDC (مرکز کنترل و پیشگیری بیماری‌ها)، ۲۳ میلیون گاستروانتریت حاد هر ساله در اثر عفونت نوروویروسی در ایالات متحده اتفاق می‌افتد و هر ساله ۵۰۰۰۰ نفر در اثر این بیماری بستری می‌شوند (۶). نوروویروس در هر دو گروه سنی افراد بالغ و کودکان ایجاد بیماری می کند (۷) که نقش عفونت‌های نوروویروسی در ایجاد اسهال‌های حاد در افراد بالغ نسبت به بقیه عوامل ویروسی و باکتریایی از اهمیت قابل توجهی برخوردار است.

این ویروس‌ها کوچک و فاقد پوشش با اندازه ۲۷-۴۰nm است که حاوی یک RNA تک رشته مثبت به طول ۷/۵-۷/۷ Kb با سه ناحیه ORF است. ORF1 و ORF2 به ترتیب پروتئین‌های غیر ساختاری و پروتئین‌های کپسید (VP1) را کد می‌کنند. ORF3 کدکننده پروتئین کوچکی است که در ارتباط با VP1 عمل می کند (۸).

نوروویروس دارای ۵ ژنوگروه (G I - G V) مختلف است. ژنو گروه I، II و IV در انسان، III در گاو و V در موش بیماریزا است. ژنوگروه I و II مسئول موارد عمده عفونت در انسان شناخته شده است (۹).

نوروویروس‌ها نسبتاً به آسانی در اماکن عمومی منتشر می‌شوند. انتقال آنها به صورت دهانی مدفوعی در محیط‌های بسته مانند بیمارستانها، مدرسه‌ها، آسایشگاه‌های سالمندان و کشتی‌ها و ... می‌باشد. به گزارش CDC در اغلب همه‌گیری‌های گاستروانتریت نوروویروسی عوامل اصلی انتقال شامل: خوردن غذای آلوده، نوشیدن آب آلوده و تماس مستقیم با فرد عفونی بوده است (۱۰).

همچنین مطالعات دیگر نشان دادند که منشاء آلودگی این ویروس می‌تواند صدف‌های خوراکی، میوه‌ها، سبزیجات خام، آب، یخ، همچنین ساندویچ و سالاد باشد که صدف‌های خوراکی در این رابطه از اهمیت بیشتری برخوردار هستند، زیرا آنها می‌توانند ویروس‌هایی موجود در محیط را تغلیظ کند. به عبارت دیگر صدف‌های خوراکی به صورت Filter-Feeders عمل می‌کنند که مصرف خام این ماده غذایی می‌تواند باعث افزایش احتمال آلودگی شود (۱۱).

علائم بیماری ۴۸-۲۴ ساعت بعد از ورود ویروس آشکار می شود و در بعضی افراد این زمان تا ۱۲ ساعت نیز تقلیل می یابد و به صورت ملایم و خود محدود شونده اتفاق می افتد. علائم بیماری ۱۲ تا ۶۰ ساعت ادامه می‌یابد. در بعضی افراد تا ۲ هفته بعد از بهبودی نیز ویروس از مدفوع آنها قابل جداسازی است.

با توجه به این که تاکنون گزارشی مبنی بر میزان سهم نوروویروس در ایجاد عفونتهای گاستروانتریتی در ایران نشده است، هدف این مطالعه شناسایی میزان شیوع عفونت نوروویروسی و همچنین تعیین ژنوگروه‌های I و II این ویروس در بین بیماران بالای ۱۸ سال با اسهال‌های حاد مراجعه‌کننده به بیمارستان شهدای تجریش در تهران می‌باشد. در این مطالعه همچنین اثر فاکتورهای سن، جنس، توزیع جغرافیایی، توزیع فصلی، منبع آب آشامیدنی و وضعیت بستری بودن بیماران بر روی حضور ژنوم ویروس، مورد بررسی قرار گرفت.

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 5:13 +0330 on Friday December 6th 2019

روش بررسی

این مطالعه از نوع توصیفی- تحلیلی (مقطعی) به شمار می‌رود.

۶۷ نمونه مدفوعی از بیماران بالای ۱۸ سال دچار مشکلات گوارشی و اسهال‌های حاد مراجعه‌کننده به بیمارستان شهدای تجریش در تهران طی خرداد ماه ۱۳۸۷ تا بهمن ۱۳۸۷ جمع‌آوری شد. کلیه نمونه‌ها پس از جمع‌آوری از بیمارستان، تحت زنجیره سرد به آزمایشگاه منتقل گردیدند و تا انجام آزمایشات مولکولی در دمای ۲۰- ذخیره شدند.

رقیق سازی نمونه: رقیق سازی نمونه‌های مدفوعی توسط محلول ۰/۸۹٪ NaCl انجام شد و در ادامه با استفاده از فیلترهای ۰/۲ µm فیلترگردیدند. محلول فیلتر شده حاصل، جهت استخراج RNA مورد استفاده قرار گرفت.

استخراج RNA و CDNA سازی: استخراج RNA از نمونه مدفوعی توسط QIAamp viral RNA kit (QIAGEN، آلمان) طبق دستورالعمل کیت صورت گرفت و CDNA سازی با استفاده از RevertAid^{TM} M-MuLV Reverse Transcriptase (Fermentas، کانادا) بلافاصله انجام شد.

انجام PCR: به وسیله دو جفت پرایمر جهت تکثیر N/S domain که ناحیه میانی بین ORF1 و ORF2 است، مطابق سه مطالعه مربوط به کاگیاما و همکاران (۱۲)، کوجیما و همکاران (۱۳) و گالیمور و همکاران (۱۴) انجام شد. (جدول ۱). این پرایمرها قادر به ایجاد تمایز بین ژنوگروه I و II نورووویروس بودند. علت استفاده از این روش حساسیت بالای آن در شناسایی ویروس است (۱۷ – ۱۵).

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده در این تحقیق

ژنوگروه	توالی پرایمر	نام پرایمر
GenogroupI	5- ATH GAA CGY CAA ATY TTC TGG AC -3	Noro GI Forwar - PCR
GenogroupI	5- CCA ACC CAR CCA TTR TAC A -3	Noro GI Reverse - PCR
GenogroupII	5- CNT GGG AGG GCG ATC GCA A -3	Noro GII Forwar - PCR
GenogroupII	5- CCR CCN GCA TRH CCR TTR TAC AT -3	Noro GII Reverse - PCR
GenogroupI	5- GGA GAT CGC AAT CTC CTG CCC -3	Noro GI Forwar -Nested PCR
GenogroupI	5- CCA ACC CAR CCA TTR TAC A -3	Noro GI Reverse - Nested PCR
GenogroupII	5- TGG GAG GGC GAT CGC AAT CT -3	Noro GII Forwar - Nested PCR
GenogroupII	5- CCR CCN GCA TRH CCR TTR TAC AT -3	Noro GII Reverse -Nested PCR

PCR طی دو مرحله RT-PCR و Nested PCR انجام شد. در هر دو مرحله PCR، مخلوطی که شامل ۲/۵ میکرولیتر 10X PCR Buffer با غلظت 1X، ۰/۷۵ میکرولیتر $MgCl_2$ با غلظت ۱/۵ میلی مول، ۲/۵ واحد Taq DNA Polymerase، ۰/۵ میکرولیتر از مخلوط حاوی ۰/۲ میلی مول از هر dNTP و ۵ پیکو مول از هر پرایمر تهیه شد که در نهایت ۵ میکرولیتر از CDNA به مرحله اول PCR و ۲ میکرولیتر از محصول مرحله اول PCR به Nested PCR اضافه گردید و توسط آب مقطر به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر رسید و در ترموسایکلر طبق برنامه جدول ۲ و ۳ گذاشته شد.

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 5:13 +0330 on Friday December 6th 2019

جدول ۲: برنامه PCR

تعداد سیکل ها	زمان	دما C°	مراحل برنامه
۱	۱۰ min	۹۵	دناتوراسیون اولیه
۴۰	۳۰s	۹۵	دناتوراسیون
	۳۰s	۴۸	اتصال پرایمرها
	۲ min		ساخت رشته مکمل و طویل شدن
		۷۲	
۱	۷ min	۷۲	طویل شدن نهایی

جدول ۳: برنامه Nested PCR

تعداد سیکل ها	زمان	دما C°	مراحل برنامه
۱	۲min	۹۵	دناتوراسیون اولیه
۳۰	۳۰s	۹۵	دناتوراسیون
	۳۰s	۴۸	اتصال پرایمرها
	۲ min	۷۲	ساخت رشته مکمل و طویل شدن
۱	۵ min	۷۲	طویل شدن نهایی

محصولات واکنش توسط الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱٪ با استفاده از شناساگر اتیدیوم برماید مورد ارزیابی قرار گرفتند.

طول قطعه DNA حاصل از RT-PCR و Nested PCR برای ژنوگروه I و II در جدول ۴ آمده است.

جدول ۴: اندازه طول قطعات DNA بر روی ژل آگاروز

	Genogroup I	Genogroup II
PCR	597 bp	468 bp
Nested PCR	324 bp	300 bp

اطلاعات بدست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SPSS ver. 11.5 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در آنالیز توصیفی از فراوانی و درصد فراوانی و نیز شاخص مرکزی میانگین و در آنالیز تحلیلی از تست آماری Chi-square و Mann-Whitney U استفاده شد.

یافته‌ها

از بین ۶۷ نمونه مدفوعی بیمار ۳۶ (۵۳٪) نمونه مرد و ۳۱ (۴۷٪) زن بودند. متوسط سن مردان ۱۱/۰±۳۵ سال و زنان ۱۴/۷±۴۰ سال بود. حضور نوروویروس در ۳ (۴/۵٪) نمونه تائید شد که همگی متعلق به ژنوگروه I بودند. متوسط سن افراد مبتلا ۸/۷±۳۲ سال بود، که از این تعداد ۲ نفر مرد و یک نفر زن بودند.

۳۱ (۴۷٪) نمونه در شش ماهه ابتدای سال و ۳۶ نمونه (۵۳٪) نیز در شش ماهه دوم سال اخذ شد که نمونه‌های مثبت نوروویروس همگی متعلق به فصل پائیز (۲ نمونه در آذر ماه و ۱ نمونه در آبان ماه) بودند.

توزیع جغرافیایی نمونه‌های جمع‌آوری شده در جدول ۵ آورده شده است، همانطور که مشاهده می‌شود بیشترین تعداد نمونه مربوط به غرب تهران (۳۴٪) و کمترین آن مربوط به جنوب تهران (۱۲٪) می‌باشد. از بین ۳ نمونه‌ای که حضور نوروویروس در آن تایید شد ۲ (۶۶/۶٪) نمونه مربوط به جنوب تهران و یک نمونه (۳۳/۳٪) مربوط به شرق تهران بود.

جدول ۵: توزیع مناطق جغرافیایی

مراجعه‌کنندگان از شهرستانها	جنوب تهران	شمال تهران	شرق تهران	غرب تهران	
۱۰(٪۱۵)	۸(٪۱۲)	۱۷(٪۲۵)	۹(٪۱۳)	۲۳(٪۳۴)	کل نمونه‌ها
۰	۲	۰	۱	۰	نمونه‌های مثبت

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 5:13 +0330 on Friday December 6th 2019

در میان ۶۷ نمونه، ۴۱ نمونه (۶۱٪) مربوط به بیماران بستری شده و ۲۶ نمونه (۳۹٪) متعلق به بیماران سرپایی بود که کلیه نمونه‌های مثبت به بیماران سرپایی تعلق داشت.

در این مطالعه منبع آب آشامیدنی بیماران نیز مورد بررسی قرار گرفت که ۵۹ بیمار (۸۸٪) از آب شهری، ۴ بیمار (۶٪) از آب چاه و ۲ بیمار (۳٪) از آب تانکر و ۲ بیمار (۳٪) نیز از آب معدنی استفاده کرده بودند. با توجه به این که منبع آب آشامیدنی تمامی بیمارانی که دچار عفونت نوروویروسی شده بودند آب شهری بوده است، ارتباط مشخصی میان آب مصرفی و عفونت نوروویروسی مشاهده نگردید ($p>۰/۰۵$). همچنین رابطه معنی‌داری بین گروه‌های سنی و ابتلا مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$).

بحث

از نوروویروس‌ها به عنوان یکی از مهمترین عوامل گاستروانتریت‌های حاد غیر باکتریایی یاد می‌شود. این ویروس بسیار عفونی است و انتشار آن به راحتی امکان پذیراست. با این وجود، تا به حال هیچ گزارشی مبنی بر تعیین میزان شیوع این ویروس در ایران ارائه نشده است، این در حالی است که این ویروس عامل ۴۰٪ بیماری های ناشی از غذا در ایالات متحده است (۱۸). میزان شیوع این ویروس در ایتالیا در طی یک شیوع در بیمارستان کودکان ۴۸/۴٪ (۱۹)، پاکستان ۹/۹٪ (۲۰)، در هند ۱۱/۹٪ (۲۱) و در برزیل ۱۲٪ (۲۲) گزارش شده است.

در این مطالعه از بین ۶۷ نمونه‌ای که بررسی شد ۳ نمونه مثبت تشخیص داده شد که این مقدار برابر ۴/۵٪ از کل نمونه‌های مدفوعی اسهالی است. در مقایسه با سایر کشورهایی که الگوی تغذیه‌ای متفاوت نسبت به ما دارند این آمار تغییراتی می‌یابد. شیوع نوروویروس در سویس ۱۷/۹٪ (۲۳)، تایوان ۲۱/۹٪ (۲۴)، نیکاراگوئه ۱۲٪ (۲۵)، برزیل ۱۲٪ (۲۲)، ایتالیا ۴۸/۴٪ (۱۹) و هند ۱۱/۹٪ (۲۱) است. این افزایش آمار می‌تواند به علت رژیم غذایی متفاوت نسبت به کشورهای خاور میانه باشد. به عنوان مثال مصرف خام محصولات دریایی مانند؛ صدف خوراکی یکی از راه‌های اصلی انتشار این ویروس است (۱۱) که این الگوی تغذیه‌ای در کشورهای خاورمیانه از جمله ایران بسیار نادر است، در نتیجه شیوع این ویروس را در این کشورها کمتر می‌کند.

گاستروانتریت‌های نوروویروسی در تمام گروه‌های سنی دیده می‌شود و محدودیت سنی در ابتلا به این بیماری وجود ندارد (۲۶). یافته‌های حاصل از این مطالعه نیز هیچگونه ارتباطی بین گروه سنی خاص و ابتلا به این بیماری را نشان نمی‌دهد.

گرچه احتمال ابتلاء به گاستروانتریت نوروویروسی در تمام طول سال وجود دارد، اما اوج پیک عفونت‌زایی نوروویروس در فصل سرما است (۲۳)، تا جایی که از این بیماری تحت عنوان اسهال و استفراغ فصل سرد یاد می‌شود (۲۷) که نشان دهنده رابطه ابتلاء به گاستروانتریت نوروویروسی در نیمه دوم سال (فصول سرد) است. با توجه به اینکه نوروویروس یک RNA ویروس است، ناپایداری RNA در برابر افزایش دما می‌تواند علت شیوع بیشتر این ویروس را در نیمه دوم سال توجیه کند. همان طور که انتظار می‌رفت در این مطالعه نیز این رابطه تایید شد به طوری که کلیه نمونه‌های مثبت مرتبط با آبان و آذر بود که کاملاً با سایر مطالعات مشابه مطابقت دارد (۳۱-۲۸ و ۲۴ و ۲۰).

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 5:13 +0330 on Friday December 6th 2019

بررسی دیگری که در این مطالعه صورت گرفت ارتباط بین توزیع جغرافیایی و عفونت نورویروسی است. بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان شهدا از نظر محل سکونت مورد ارزیابی قرار گرفتند (جدول ۳). همان طور که در بالا آمده است ۲ نمونه مثبت (۶۶/۶٪) از ۳ نمونه مدفوعی مثبت نورویروس از جنوب تهران بود که این آمار اهمیت شیوع نورویروس در محیط‌های شلوغ با سطح پائین‌تر زندگی را آشکار می‌کند و زمینه را برای بررسی بیشتر شیوع نورویروس در این ناحیه هموار می‌سازد.

همانگونه که در بالا نیز آمده است گاستروانتریت نورویروسی یک بیماری خود محدود شونده با مدت زمان کوتاه دوره بیماری است و اغلب بیماران خصوصاً بزرگسالان بدون درمان خاصی بهبود می‌یابند و در نهایت بیماران نیاز به بستری شدن ندارند. با توجه به نتایج بدست آمده در این مطالعه نیز هیچ کدام از بیمارانی که گاستروانتریت با عامل نورویروسی داشتند به صورت بلند مدت در بیمارستان بستری نشده بودند که این نتایج کاملاً با مطالعات قبلی که در سایر کشورها انجام شده مطابقت دارد (۳۲ و ۲۷).

با در نظر گرفتن این موضوع که آب آشامیدنی آلوده یکی از موارد انتقال این بیماری است، احتمال انتقال عفونت نورویروسی از راه آب آشامیدنی مورد استفاده بیماران نیز مورد بررسی قرار گرفت. هیچ کدام از بیمارانی که دچار عفونت بودند سابقه‌ای از مصرف منابع آب غیر شهری مانند آب چاه، تانکر و آب معدنی را ذکر ننمودند و بنابراین به نظر می‌رسد عامل انتقال نورویروس در بیماران مورد مطالعه از راههای دیگر به غیر از آب آلوده بوده است.

همان طور که اشاره شد نورویروس دو ژنوگروه عمده بیماریزا در انسان دارد که در این تحقیق ژنو گروه غالب آن در بیماران بالای ۱۸ سال ژنوگروه I تشخیص داده شد.

این نتایج نقش نورویروس را به عنوان یک عامل ویروسی مسؤول در موارد گاستروانتریت در افراد بزرگسال خصوصاً در فصول سرد آشکار می‌کند.

تشکر و قدردانی

این طرح تحقیقاتی با حمایت مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام شد. نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از کارکنان محترم مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی خصوصاً سرکار خانم سیده مینا سیدی به خاطر همکاری صمیمانه در اجرای این طرح تشکر و قدردانی نمایند.

References

1. Parashar UD, Hummelman EG, Bresee JS, Miller MA, Glass RI. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. Emerg Infect Dis 2003; 9: 565-72.
2. Liu C, Grillner L, Jonsson K, Linde A, Shen K, Lindell AT, and et al. Identification of viral agents associated with diarrhea in young children during a winter season in Beijing, China. J Clin Virol 2006; 35: 69-72.
3. Tzee-Chung Wu, Hsioa-Hui Liu, Yann-Jang Chen, Ren-Bin Tang, Be-Tau Hwang, Han-Chih Yuan. Comparison of clinical features of childhood norovirus and rotavirus gastroenteritis in Taiwan. J Chin Med Assoc 2008; 11: 566-570.
4. G BASU, J ROSSOUW, TK SEBUNYA, BA GASHE, M DE BEER, JB. DEWAR, and et al. Prevalence of rotavirus, adenovirus and astrovirus infection in young children with gastroenteritis in gaborone, Botswana. East African Medical Journal 2003; 12: 652-655.

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 5:13 +0330 on Friday December 6th 2019

5. Infectious disease epidemiology section office of public health, Louisiana Dept of Health & Hospitals. Norovirus Infections 2009; 800; 256-2748.
6. Mead PS, L Slutsker, V Dietz, LF McCaig, JS Bresee, C Shapiro, PM and et al. Food-related illness and death in the United States. Emerg. Infect Dis 1999; 5: 607-625.
7. Johan Nordgren. Norovirus epidemiology: prevalence, transmission, and determinants of disease susceptibility. Linkoping Medical Dissertations 2009; 1111: 0345-0082.
8. K Katayama, GS Hansman, T Oka, S. Ogawa, and N. Takeda. Investigation of norovirus replication in a human cell line. Arch Virol 2006; 151: 1291-1308.
9. Preeti Chhabra, Shobha D Chitambar. Norovirus genotype IIb associated acute gastroenteritis in India. Journal of Clinical Virology 2008; 42: 429-432.
10. Alice C Thornton, Karen S, Jennings-Conklin, Malkanthie I, McCormick. Noroviruses: Agents in outbreaks of acute gastroenteritis Disaster Manage Response 2004; 2: 4-9.
11. Keith R Schneider, Renée Goodrich Schneider, Mike Hubbard, and Riya Shukla. Preventing foodborne illness: Norovirus. FSHN 2005; 0518: 01-03.
12. Kageyama T, Kojima S, Shinohara M, Uchida K, Fukushi S, Hoshino FB, and et al. Broadly reactive and highly sensitive assay for Norwalk-like viruses based on real-time quantitative reverse transcription PCR. J Clin Microbiol 2003; 41: 1548-1557.
13. Kageyama T, Kojima S, Shinohara M, Uchida K, Fukushi S, Hoshino FB, and et al. Broadly reactive and highly sensitive assay for norwalk-like viruses based on real-time quantitative reverse transcription PCR. J Clin Microbiol 2003; 41: 1548-1557.
14. Gallimore CI, Cheesbrough JS, Lamden K, Bingham C, Gray JJ. Multiple norovirus genotypes characterised from an oyster-associated outbreak of gastroenteritis. Int J Food Microbiol 2005; 103: 323-330.
15. Yuen LKW, Catton MG, Cox BJ, Wright PJ, Marshall JA. Heminested multiplex revers transcription-PCR for detection and differentiation of Norwalk-like virus genogroups 1 and 2 in fecal samples. J Clin Microbiol 2001; 39: 2690-2694.
16. Jiang X, Wang J, Graham DY, Estes MK, Detection of Norwalk virus in stool by polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 1992; 30: 2529-2534.
17. Jan Vinjé, Raditijo A Hamidjaja, Mark D Sobsey. Development and application of a capsid VP1 (region D) based reverse transcription PCR assay for genotyping of genogroup I and II noroviruses. Journal of Virological Methods 2004; 116: 109-117.
18. Witlox KJ, Nguyen TN, Bruggink LD, Catton MG, Marshall JA. A comparative evaluation of the sensitivity of two automated and two manual nucleic acid extraction methods for the detection of norovirus by RT-PCR. J Virol Methods 2008; 150: 70-72.
19. Claudia Colomba, Laura Saporito, Giovanni M Giammanco, Simona De Grazia, Stefania Ramirez, Serenella Arista and et al. Norovirus and gastroenteritis in hospitalized children, Italy. Emerg Infect Dis 2007; 9: 1389-1391.
20. Tung Gia Phan, Michio Okame, Tuan Anh Nguyen, Niwat Maneekarn, Osamu Nishio, Shoko Okitsu and et al. Human astrovirus, norovirus (GI, GII), and sapovirus infections in Pakistani children With diarrhea. J Med Virol 2004; 73: 256-261.
21. Preeti Chhabra, Shobha D Chitambar. Norovirus genotype IIb associated acute gastroenteritis in India. J Clin Virol 2008; 42: 429-432.
22. T Nakagomi, JB. Correia, O Nakagomi, FMU Montenegro, LE Cuevas, NA Cunliffe and et al. Norovirus infection among children with acute gastroenteritis in Recife, Brazil: disease severity is comparable to rotavirus gastroenteritis. Arch Virol 2008; 153: 957-960.
23. R Fretz, L Herrmann, A Christen, P Svoboda, O Dubuis, EH Viollier and et al. Frequency of norovirus in stool samples from patients with gastrointestinal symptoms in Switzerland. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2005; 24: 214-216.
24. Tzee-Chung Wu, Hsioa-Hui Liu, Yann-Jang Chen, Ren-Bin Tang, Be-Tau Hwang, Han-Chih Yuan. Comparison of clinical features of childhood norovirus and rotavirus gastroenteritis in Taiwan. J Chin Med Assoc 2008; 11: 566-570.

25. Filemon Bucardo, Johan Nordgren, Beatrice Carlsson, Margarita Paniagua, Per-Eric Lindgren, Felix Espinoza and et al. Pediatric norovirus diarrhea in nicaragua. J Clin Microbiol 2008; 8: 2573-2580.
26. Raphael Dolin. Noroviruses-Challenges to control. N ENGL J MED. 2007; 11: 1072-1073.
27. Caroline C Soares, Norma Santos, Rachel Suzanne Beard, Maria Carolina M Albuquerque, Adriana G Maranhao, Ludmila N Rocha and et al. Norovirus detection and genotyping for children with gastroenteritis, Brazil. Emerg Infect Dis 2007; 8: 1244-1246.
28. Froggatt PC, Vipond IB, Ashley CR, Lambden PR, Clarke IN, Caul EO. Surveillance of norovirus infection in a study of sporadic childhood gastroenteritis in South West England and South Wales during one winter season (1999-2000). J Med Virol 2004; 72: 307-11.
29. Fruhwirth M, Karmaus W, Moll-Schuler I, Brosl S, Mutz I. A prospective evaluation of community acquired gastroenteritis in paediatric practices: impact and disease burden of rotavirus infection. Arch Dis Child 2001; 84: 393-7.
30. Chiu TF, Lee CN, Lee PI, Kao CL, Lin HC, Lu CY, and et al. Rotavirus gastroenteritis in children: 5-year experience in a medical center. J Microbiol Immunol Infect 2000; 33: 181-6.
31. Medici MC, Martinelli M, Arcangeletti MC, Pinardi F, De Conto F, Dodi I, and et al. Epidemiological aspects of human rotavirus infection in children hospitalized with acute gastroenteritis in an area of northern Italy. Acta Biomed 2004; 75:100-6.
32. Beatrix Kele, Marianna Papp Abrok, Judith Deak. Sporadic norovirus infections among hospitalized and non-hospitalized 0-3-year-old infants. Scandinavian J Infect Dis 2009; 1: 67-69.

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 5:13 +0330 on Friday December 6th 2019