

شناسایی ژنوتیپ‌های روتاویروسی در گردش در کودکان مبتلا به گاستروانتریت حاد کمتر و مساوی

۵ سال بستری شده در بیمارستان

تینا فلاح^۱، آمنه الیکایی^۲، رکسانا منصور قناعی^۳، عبدالله کریمی^۳، ایرج صدیقی^۴، مرجان تاری وردی^۵، آرزو امیرعلی^۱، طیبه نظری^۳، نگین نهان مقدم^۶، علیرضا ناطقیان^۷، سید حمیدرضا منوری^۸، سید محسن زهرائی^۹، سوسن محمودی^{۱۰}، مسعود آل بویه^{۱۱}

- ۱- کارشناس ارشد میکروب شناسی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران
- ۲- دکتری تخصصی میکروب شناسی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران
- ۳- فوق تخصص بیماری های عفونی کودکان، مرکز تحقیقات عفونی اطفال، پژوهشکده سلامت کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
- ۴- فوق تخصص بیماری های عفونی کودکان، گروه کودکان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
- ۵- فوق تخصص بیماری های عفونی کودکان، گروه کودکان، دانشکده پزشکی، مرکز آموزشی درمانی و پژوهشی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران
- ۶- فوق تخصص بیماری های عفونی کودکان، گروه کودکان، بیمارستان بوعلی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران
- ۷- فوق تخصص بیماری های عفونی کودکان، گروه کودکان، بیمارستان حضرت علی اصغر (ع)، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
- ۸- دکتری تخصصی ویروس شناسی پزشکی، گروه ویروس شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
- ۹- متخصص بیماری های عفونی و گرمسیری، مرکز مدیریت بیماری های واگیر، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران
- ۱۰- متخصص کودکان، مرکز مدیریت بیماری های واگیر، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران
- ۱۱- دکتری تخصصی باکتری شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات عفونی اطفال، پژوهشکده سلامت کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

مقدمه و اهداف: شناسایی ژنوتیپ‌های روتاویروس در کودکان از نظر بالینی مهم است. هدف از مطالعه حاضر تعیین تنوع ژنوتیپ‌های روتاویروس و ارتباط آنها با یافته‌های دموگرافیک و علائم بالینی کودکان بستری در بیمارستان است.

روش کار: برای مشخص کردن ژنوتیپ های روتاویروس، نمونه های مدفوع روتاویروس-مثبت کودکان علامت دار در آذر ۱۳۹۹ الی اسفند ۱۴۰۰ وارد مطالعه شدند. استخراج RNA از نمونه ها و سنتز cDNA برای ژن های VP7 و VP4 طبق پروتکل استاندارد انجام شد. تعیین ژنوتیپ‌ها با استفاده از پرایمرهای اختصاصی انجام شد. توالی یابی و تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک برای تایید نتایج انجام شد. داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ و Graphpad نسخه ۹.۵.۰ تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: از میان نمونه‌های بیماران مبتلا، سه ژنوتیپ به عنوان ژنوتیپ غالب در جامعه تحت بررسی تعیین شد. این نتایج رابطه معنی‌داری را میان فراوانی یک ژنوتیپ و تغییرات فصول ($p\text{-value} = 0/0077$) و بین نوع ژنوتیپ ها، مدت بستری و شدت اسهال نشان دادند. در حالی که به‌طور معنادار با افزایش سن، انواع بیشتری از روتاویروس گروه A تعیین گردید، ارتباطی میان ژنوتیپ‌های شناسایی شده با جنسیت مشاهده نگردید ($p\text{-value} = 0/473$) همچنین، هیچ ارتباطی بین نوع ژنوتیپ، شدت کم آبی و حضور یا عدم حضور تب وجود نداشت.

نتیجه‌گیری: به طور کلی، نتایج این مطالعه تنوع نسبتاً بالایی از ژنوتیپ‌های روتاویروس‌ها را در کودکان نشان داد. جهت تایید همبستگی های یافت شده بین برخی از ژنوتیپ ها و گروه های سنی، فصول، علائم بالینی و اثربخشی واکسن‌های موجود، مطالعات بیشتری مورد نیاز است.

اطلاعات مقاله

تاریخ دریافت

۱۴۰۱/۱۲/۰۲

تاریخ پذیرش

۱۴۰۲/۰۳/۲۴

نویسندگان رابط

رکسانا منصور قناعی و مسعود آل بویه

ایمیل نویسنده رابط:

gghanaieroxana@gmail.com

masoud.alebouyeh@gmail.com

نشانی نویسنده رابط

مرکز تحقیقات عفونی اطفال، پژوهشکده سلامت کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

واژگان کلیدی: روتاویروس، ژنوتیپ، گاستروانتریت، ایران، کودکان

مقدمه

در حال توسعه ایفا می‌کنند (۱). علائم این بیماری از اسهال آبکی خود محدود شونده تا عفونت مرگ بار در کودکان متغیر است که

روتاویروس‌ها عوامل بیماری زا ویروسی هستند که نقش کلیدی

در ایجاد گاستروانتریت حاد در کودکان کمتر از ۵ سال کشورهای

واکسن مورد استفاده در این کشورها و نوع ژنوتیپ غالب در گردش وجود ندارد (۶).

در ایران فراوانی روتاویروس و ژنوتیپ‌های غالب در سال‌ها و مناطق مختلف ایران به شکل متغیر گزارش شده است (۷). در مطالعه استقامتی و همکاران، شیوع روتاویروس و پراکندگی ژنوتیپی آن در ۵ شهر تبریز، مشهد، تهران، شیراز و بندرعباس بررسی گردید. در این مطالعه بیشترین فراوانی در شیراز و کمترین فراوانی در تهران (۳/۶۶٪ و ۳/۲۴٪) گزارش و ژنوتیپ [8]G4P به عنوان ژنوتیپ غالب در همه شهرها گزارش شد (۸). در سایر مطالعات تک-مرکزی، ژنوتیپ شایع [8]G1P در تهران (۷،۹،۱۰)، [8]G1P در گرگان (۱۱،۱۲) و [8]G9P در اهواز گزارش شده است (۱۳). مهمترین ژنوتیپ‌های در گردش در ایران بر اساس مطالعات انجام گرفته طی سال‌های ۲۰۱۷ و پیش از آن [8]G1P، [8]G3P، [8]G1P، [4]G2P و [8]G9P گزارش شده اند (۱۴-۱۶). در بیشتر مطالعات مذکور فراوانی ژنوتیپ‌ها به صورت منفرد (G و P) ارائه و اطلاعات اندکی در خصوص ژنوتیپ‌های ترکیبی (GxP[x]) در حال گردش این ویروس جهت مقایسه با داده‌های بین‌المللی موجود است (۸،۱۱،۱۳،۱۷). همچنین ارتباط بین ژنوتیپ‌های مختلف و یافته‌های دموگرافیک از جمله سن، فصول مختلف سال و علائم بالینی در هیچ مورد از اطلاعات در دسترس در ایران گزارش نشده است. انجام مطالعات جدید جهت روشن شدن این ارتباط‌ها به منظور تعیین استراتژی‌های پیش‌رو به منظور کنترل بیماری و بروز همه‌گیری‌های گسترده در کشور کمک‌کننده می‌باشد. در مطالعه چند مرکزی حاضر، سعی بر آن بود که خلل‌های موجود در مطالعات قبلی تا حد

در صورت عدم درمان صحیح منجر به سوءتغذیه و اختلال در رشد می‌شود (۲). طبق گزارش سازمان جهانی بهداشت^۱ در کشورهای در حال توسعه روتاویروس گروه A در کشورهایی که فاقد برنامه‌ی واکسیناسیون علیه این ویروس هستند عامل ۶۰-۳۵٪ موارد اسهال و ۲/۵٪ مرگ و میر در کودکان و نوزادان کمتر از ۵ سال به‌شمار می‌رود (۱).

ژنوم روتاویروس حاوی ۱۱ قطعه RNA دو رشته‌ای^۲ می‌باشد. مطالعات گسترده‌ای در رابطه با روتاویروس گروه A انجام شده‌است و محققان آن‌ها را براساس تفاوت‌های آنتی‌ژنی و تفاوت‌هایی در توالی دو پروتئین خارجی کپسید، VP7 و VP4 به ترتیب به تایپ‌های G^۳ و P^۴ طبقه‌بندی کرده‌اند. تا به امروز ۵۷ عدد ژنوتیپ P و ۴۱ عدد ژنوتیپ G شناسایی شده‌اند (۳). رایج‌ترین ژنوتیپ‌های شناسایی شده در جهان [8]G1P، [4]G2P، [8]G3P، [8]G4P، [8]G9P و [8]G12P هستند (۳). طبق مطالعات انجام شده در سال‌های گذشته ژنوتیپ‌های غالب در منطقه خاورمیانه [8]G1P، [4]G2P و [8]G9P، در آسیای شرقی [8]G1P، [8]G3P و [8]G9P، در اروپا [8]G1P، [8]G4P، [4]G2P و [8]G9P و در آمریکا [8]G1P، [4]G2P و [8]G12P قبل از شروع واکسیناسیون روتاویروس هستند (۴،۵). با معرفی واکسن Rotarix در سال ۲۰۰۸ و به‌دنبال آن استفاده از سایر واکسن‌های روتاویروس در برنامه واکسیناسیون کشورها، همچون Rotavac، RotaTeq و Rotasiil، در سال‌های اخیر تغییراتی در تنوع ژنوتیپ‌ها و بروز ژنوتیپ‌های جدید ایجاد شده است، هرچند اتفاق نظری در مورد ارتباط میان نوع

³ Glycosylated

⁴ Protease-sensitive

¹ World Health Organization

² Double strand RNA

کد اخلاق IR.SBMU.RICH.REC.1401.021 در مرکز تحقیقات عفونی اطفال، پژوهشکده سلامت کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران مورد تایید قرار داده شد.

آماده سازی نمونه‌ها جهت تخلیص و استخراج RNA:

جهت تهیه سوسپانسیون مقدار ۲۰۰ میکرولیتر یا معادل وزنی آن به ترتیب از نمونه‌های مدفوع آبی و نیمه جامد در حجم مناسب بافر ۱۸۰۰ میکرولیتر بافر فسفات سالین مخلوط شد تا محلول ۱۰٪ رقیق شده تهیه شود؛ سپس استخراج RNA مطابق دستورالعمل کیت High Pure Viral Nucleic Acid Extraction (Roche, Germany) انجام و در نهایت RNA استخراج شده به میکروتیوب منتقل و در فریزر -۸۰ درجه سانتیگراد نگهداری شد.

تعیین ژنوتیپ روتاویروس: ساخت cDNA با استفاده از کیت AddScript cDNA Synthesis (Addbio, Korea) مطابق پروتکل در حجم نهایی ۱۳/۲ میکرولیتر انجام شد. بدین منظور مقدار ۵-۱۰ میکرولیتر از RNA استخراج شده جهت ساخت زنجیره معکوس از قطعات ژنی VP4 و VP7 با کمک پرایمرهای تخصصی (به ترتیب Beg9 و End9 برای VP7 و Con3 و Con2 برای VP4) مطابق پروتکل‌های ۱۲ و ۱۳ سازمان بهداشت جهانی (۱۸) و برنامه دمایی شرکت سازنده مورد استفاده قرار داده شد. به منظور انجام ژنوتایپینگ، از روش semi-nested PCR با کمک تعداد ۱۱ پرایمر اختصاصی هر ژنوتیپ مطابق پروتکل‌های ۱۲ و ۱۳ سازمان بهداشت جهانی و برنامه دمایی اشاره شده در مقاله لرستانی و همکاران استفاده گردید (جدول ضمیمه شماره ۱) (۱۲). به منظور تعیین نوع ژنوتیپ، محصولات

امکان پوشش داده شود. بدین منظور فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف روتاویروس در نمونه‌های جدا شده از کودکان مبتلا به گاستروانتریت در نقاط مختلف ایران و تعیین ارتباط میان ژنوتیپ‌های غالب و یافته‌های دموگرافیک مبتلایان مورد بررسی قرار داده شد.

روش کار

جمعیت مورد مطالعه: مطالعه حاضر به صورت مقطعی بر روی نمونه‌های مدفوع مثبت تایید شده از نظر وجود آنتی‌ژن VP6^۱ روتاویروس متعلق به کودکان مبتلا به گاستروانتریت بستری در بیمارستان‌های کودکان علی اصغر و کودکان مفید در شهر تهران و بیمارستان‌های شهرهای همدان، بندرعباس و اردبیل در بازه‌ی زمانی آذر ۹۹ تا اسفند ۱۴۰۰ انجام گرفت. نمونه‌های مدفوع مورد استفاده در این مطالعه توسط کادر درمانی بخش اورژانس و بخش عفونی پس از معاینه بالینی و دریافت رضایت نامه آگاهانه والدین/قیم قانونی کودکان مطابق دستورالعمل استاندارد در ظروف نمونه گیری تهیه و پس از نگهداری در فریزر -۲۰ درجه سانتیگراد در زنجیره سرمایی ۴ درجه سانتیگراد به آزمایشگاه مرکز تحقیقات عفونی اطفال، بیمارستان کودکان مفید، شهر تهران منتقل گردید. تمامی نمونه‌ها در زمان انجام این مطالعه در فریزر -۸۰ درجه سانتیگراد نگهداری شده بودند. از تعداد ۳۴۶ نمونه‌ی مدفوع مثبت، ۲۶۶ نمونه مناسب از نظر مقدار و فرم ظاهری جهت تعیین ژنوتیپ انتخاب شد. جهت تجزیه و تحلیل آماری به منظور تعیین ارتباط میان ژنوتیپ‌های شناسایی شده در این مطالعه و یافته‌های دموگرافیک و بالینی بیماران، از داده‌های پرسشنامه‌های جمع‌آوری شده از شهرهای مذکور استفاده شد. این تحقیق با

^۱ VP6: major inner capsid protein in human rotavirus group A

پس از تایید در GenBank ثبت و شماره دستیابی هر یک از توالی‌ها دریافت شد.

تحلیل داده‌ها با استفاده از روش‌های آماری: به منظور بررسی فراوانی ژنوتیپ‌ها از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ و برای بررسی ارتباط تنوع ژنوتیپ‌ها با متغیرهای سن، جنسیت، فصل، موقعیت جغرافیایی و علائم بالینی از نرم‌افزار Graphpad نسخه ۹,۵,۰ استفاده شد. جهت بررسی معنادار بودن مقایسه‌های آماری، از تست‌های کروسکال والیس، تی تست، لوجیستیک رگرسیون ساده و من ویتنی استفاده شد. $p \text{ value} < 0/05$ معنادار در نظر گرفته شد.

PCR بر روی ژل آگارز تحت الکتروفورز قرار گرفتند. در این مطالعه حضور سویه‌های هموتیپیک، نیمه هتروتیپیک و هتروتیپیک در نمونه‌های بیماران به ترتیب بر مبنای انطباق ژنوتیپ‌های محصولات ژنی *VP4* و *VP7* با ژنوتیپ‌های به کار رفته در واکسن Rotarix مورد تفسیر قرار گرفتند.

تعیین توالی نمونه‌ها: جهت تایید وجود باندهای تخصصی ژنوتیپ‌های روتاویروس گروه A، محصولات PCR چند نمونه به صورت تصادفی انتخاب و جهت توالی‌یابی ارسال شد. توالی‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار Chromas نسخه ۲.۲.۶ ویرایش و

جدول شماره ۱- شرایط تکثیر قطعات *VP4* و *VP7* در روتاویروس و تعیین ژنوتیپ‌های *G* و *P*

طویل سازی نهایی		تعداد سیکل	طویل سازی رشته		اتصال پرایمر به رشته الگو		دنا تورا سیون		
زمان	دما		زمان	دما	زمان	دما	زمان	دما	
۷	۷۲	۳۵	۱	۷۲	۲	۴۲	۱	۹۴	تعیین ژنوتیپ <i>G</i> مرحله اول
۷	۷۲	۲۰	۱	۷۲	۲	۵۰	۱	۹۴	مرحله دوم
۷	۷۲	۳۵	۱	۷۲	۱	۵۲	۱	۹۴	تعیین ژنوتیپ <i>P</i> مرحله اول
۷	۷۲	۳۰	۱	۷۲	۱	۵۰	۱	۹۴	مرحله دوم

یافته‌ها

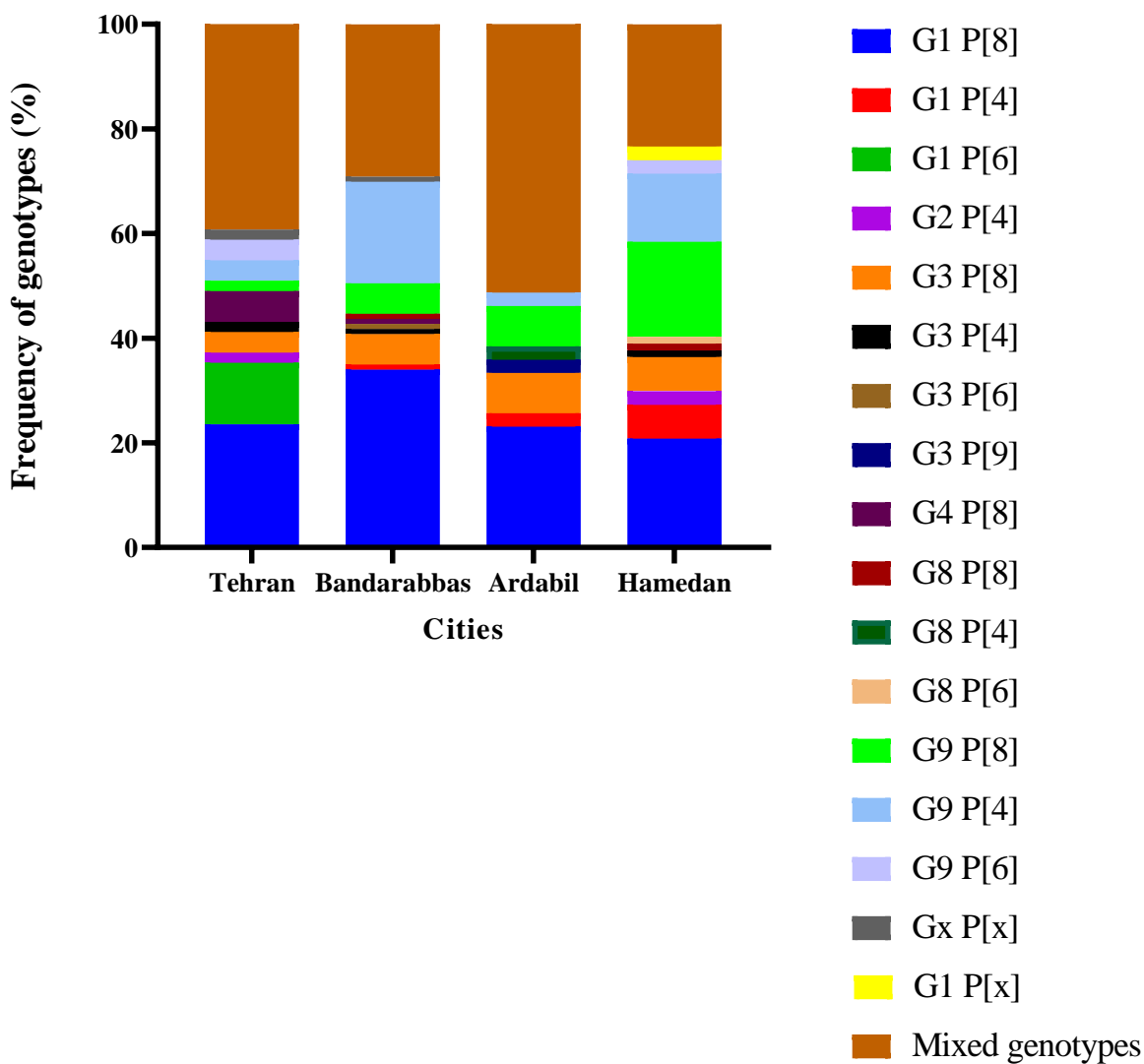
تعیین تنوع ژنوتیپ‌های روتاویروس در میان کودکان

تنوع ژنوتیپ‌های شناسایی شده در جدول ۲ نمایش داده شده‌است. در مجموع ۴۶ ژنوتیپ مختلف شناسایی گردید که ۱۷ عدد از آن‌ها مربوط به عفونت‌های منفرد و ۲۹ عدد از آن‌ها مربوط به عفونت چندگانه بود. ژنوتیپ‌های *G1P[8]*، *G9P[4]* و *G9P[8]* به ترتیب به عنوان غالب‌ترین ژنوتیپ‌های شناسایی شده بدون توجه به مکان جداسازی تعیین گردیدند. ژنوتیپ‌های

G1P[8]، *G9P[8]* و *G9P[4]* در شهر همدان، *G1P[8]* و *G9P[4]* در شهر بندر عباس، *G1P[8]* در شهر اردبیل و *G1P[8]* و *G1P[6]* در تهران به تفکیک مکان جداسازی به- عنوان ژنوتیپ‌های غالب با فراوانی بیشتر از ۱۰٪ مشخص گردید. میزان عفونت چندگانه در تمامی شهرها ملاحظه گردید. این میزان در شهرهای همدان و بندرعباس به ترتیب ۳۴/۴۸٪ (۳۰/۸۷) و ۲۰٪ (۱۸/۹۰) و در شهرهای اردبیل و تهران به ترتیب ۵۱/۲۸٪ (۲۰/۳۹) و ۴۰٪ (۲۰/۵۰) شناسایی گردید

گرفت. در مقایسه با ژنوتیپ‌های واکسن تک ظرفیتی^۱ Rotarix، در مطالعه حاضر ۴۳/۶۲٪ کودکان در این مطالعه دارای ژنوتیپ‌های هموتیپیک^۲ و ۳۷/۱۸٪ و ۱۹/۲٪ به ترتیب دارای ژنوتیپ‌های نیمه هتروتیپیک^۳ و هتروتیپیک^۴ بودند.

(نمودار ۱). بیشترین فراوانی عفونت همزمان مربوط به ژنوتیپ G1P[8]P[4] بوده (۵/۳٪، ۱۴/۲۶۶) (جدول ۲). شماره‌های دستیابی ژنی حاصل از این مطالعه با کدهای OQ053426- OQ053435 و OQ077730-OQ077740 مورد تایید قرار



نمودار شماره ۱- فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف روتاویروس در کودکان مبتلا به عفونت‌های منفرد و ترکیبی در شهرهای تهران، بندرعباس،

اردبیل و همدان

³ Partially heterotypic

⁴ Fully heterotypic

¹ Monovalent

² Homotypic

جدول شماره ۲- A. فراوانی ژنوتیپ‌ها در سویه‌های منفرد روتاویروس گروه A در کودکان، B. فراوانی ژنوتیپ‌ها در عفونت‌های ترکیبی

A.

G-types \ P-types	G1	G2	G3	G4	G8	G9	Gx	Total
P[8]	۷۲ (۲۷/۱%)	۰	۱۶ (۶/۰%)	۴ (۱/۵%)	۲ (۰/۸%)	۲۴ (۹%)	۰	۱۱۸ (۴۴/۴%)
P [4]	۷ (۲/۶%)	۳ (۱/۱%)	۳ (۱/۱%)	۰	۱ (۰/۴%)	۳۳ (۱۲/۴%)	۰	۴۷ (۱۷/۶%)
P[6]	۶ (۲/۳%)	۰	۱ (۰/۴%)	۰	۱ (۰/۴%)	۴ (۱/۵%)	۰	۱۲ (۴/۶%)
P[9]	۰	۰	۱ (۰/۴%)	۰	۰	۰	۰	۱ (۰/۴%)
P[x]	۲ (۰/۸%)	۰	۰	۰	۰	۰	۲ (۰/۸%)	۴ (۱/۶%)
Total	۸۷ (۳۲/۸%)	۳ (۱/۱%)	۲۱ (۷/۹%)	۴ (۱/۵%)	۴ (۱/۶%)	۶۱ (۲۲/۹%)	۲ (۰/۸%)	

B.

P-types	G-types													Total
	G1	G2	G3	G4	G9	G1 G2	G1 G3	G1 G9	G3 G9	G8 G9	G1 G2 G9	G1 G3 G9		
P[8]			*			.	۵	۳	۱	۲	.	۳	۱۴	
							(۱/۹%)	(۱/۱%)	(۰/۴%)	(۰/۸%)		(۱/۱%)	(۵/۳%)	
P[4]						.	۲	۵	۱	.	.	۲	۱۰	
							(۰/۸%)	(۱/۹%)	(۰/۴%)			(۰/۸%)	(۳/۹%)	
P[6]						.	۳	۳ (۱/۱%)	
							(۱/۱%)							
P[8]	۱۴	.	۳	۱ (۰/۴%)	۵	.	۵	.	.	۲	۱	۶	۳۷	
P[4]	(۵/۳%)		(۱/۱%)		(۱/۹%)		(۱/۹%)			(۰/۸%)	(۰/۴%)	(۲/۳%)	(۱۴/۱%)	
P[8]	۱	۱	۳	.	۳	۱	۲	.	۲	.	.	.	۱۳ (۵%)	
P[6]	(۰/۴%)	(۰/۴%)	(۱/۱%)		(۱/۱%)	(۰/۴%)	(۰/۸%)		(۰/۸%)					
P[4]	۲	.	.	.	۱	.	.	۱	۴ (۱/۶%)	
P[6]	(۰/۸%)				(۰/۴%)			(۰/۴%)						
P[8]	۳	۳ (۱/۱%)	
P[4]	(۱/۱%)													
P[6]														
Total	۲۰	۱	۶	۱ (۰/۴%)	۹	۱	۱۷	۹	۴	۴	۱	۱۱	*۲۶۶	
	(۷/۶%)	(۰/۴%)	(۲/۲%)		(۳/۴%)	(۰/۴%)	(۶/۵%)	(۳/۴%)	(۱/۶%)	(۱/۶%)	(۰/۴%)	(۴/۳%)	(/۱۰۰%)	

*اطلاعات مربوط به این ژنوتیپ‌ها در جدول A ارائه شده است.

تعیین ارتباط میان گروه سنی، جنسیت و ژنوتیپ‌های شناسایی شده

در میان دختران و پسران مبتلا به روتاویروس اختلاف معناداری از نظر ابتلا به ۴۶ نوع ژنوتیپ مختلف شناسایی شده دیده نشد ($p\text{-value} = ۰/۴۷۳$). بررسی آماری تفاوت معناداری را بین تنوع ژنوتیپ‌های روتاویروس و گروه‌های سنی نشان داد، به این معنا که با بالا رفتن سن، تنوع ژنوتیپ‌ها نیز افزایش یافت. بدین ترتیب

در کودکان کوچکتر و مساوی ۱۲ ماه ۳۴ ژنوتیپ از ۱۳۸ بیمار (۲۴/۶۳٪)؛ ۱۳-۲۴ ماه ۲۲ ژنوتیپ از ۶۵ بیمار (۳۳/۸۴٪)؛ ۲۵-۳۶ ماه ۱۳ ژنوتیپ از ۳۱ بیمار (۴۱/۹۳٪)؛ ۳۷-۴۸ ماه ۷ ژنوتیپ از ۱۴ بیمار (۵۰٪)؛ ۴۹-۶۰ ماه ۵ ژنوتیپ از ۶ بیمار (۸۳٪)؛ و بزرگتر از ۶۰ ماه ۴ ژنوتیپ از ۴ بیمار شناسایی گردید (۱۰۰٪) (جدول ۳).

جدول شماره ۳- مقایسه همبستگی گروه‌های سنی با ژنوتیپ‌های روتاویروس شناسایی شده در کودکان مبتلا به گاستروانتریت در

شهرهای مختلف ایران

	Value of r*	p value	Value of r*	p value	Value of r*	p value	Value of r*	p value	Value of r*	p value	Value of r*	p value
	>= ۱۲ ماه		۱۳-۲۴ ماه		۲۵-۳۶ ماه		۳۷-۴۸ ماه		۴۹-۶۰ ماه		< ۶۰ ماه	
>= ۱۲ ماه			۰/۴۶۱	۰/۰۰۱	۰/۱۹۷	۰/۱۸۹	-۰/۰۳۴	۰/۸۲۲	۰/۳۱۷	۰/۰۳۱	۰/۱۷۸	۰/۲۳۶
۱۳-۲۴ ماه	۰/۴۶۱	۰/۰۰۱			۰/۲۵۷	۰/۰۸۴	۰/۱۷۴	۰/۲۴۶	۰/۳۲۵	۰/۰۲۷	۰/۱۰۴	۰/۴۸۷
۲۵-۳۶ ماه	۰/۱۹۷	۰/۱۸۹	۰/۲۵۷	۰/۰۸۴			۰/۱۸۰	۰/۲۳۰	۰/۴۵۵	۰/۰۰۱	۰/۳۰۴	۰/۰۳۹
۳۷-۴۸ ماه	-۰/۰۳۴	۰/۸۲۲	۰/۱۷۴	۰/۲۴۶	۰/۱۸۰	۰/۲۳۰			۰/۲۸۸	۰/۰۵۲	۰/۹۳۰	۰/۵۳۸
۴۹-۶۰ ماه	۰/۰۳۱	۰/۰۳۱	۰/۳۲۵	۰/۰۲۷	۰/۴۵۵	۰/۰۰۱	۰/۲۸۸	۰/۰۵۲			۰/۳۷۶	۰/۰۰۹
< ۶۰ ماه	۰/۱۷۸	۰/۲۳۶	۰/۱۰۴	۰/۴۸۷	۰/۳۰۴	۰/۰۳۹	۰/۰۹۳	۰/۵۳۸	۰/۳۷۶	۰/۰۰۹		

*در این جدول مقادیر ضریب همبستگی غیر پارامتریک spearman (r) جهت تعیین ارتباط میان تعداد ژنوتیپ‌های مسئول بروز عفونت روتاویروس و گروه‌های مختلف سنی از کودکان نمایش داده شده است. اعداد p value پرنرنگ فرض عدم وجود ارتباط بین تعداد ژنوتیپ‌های مسئول بیماری و گروه‌های مختلف سنی را رد و وجود ارتباط مذکور را واقعی و غیر تصادفی نشان می‌دهد. این آنالیز توسط نرم افزار Graphpad prism نسخه ۹,۵,۰ انجام شده است.

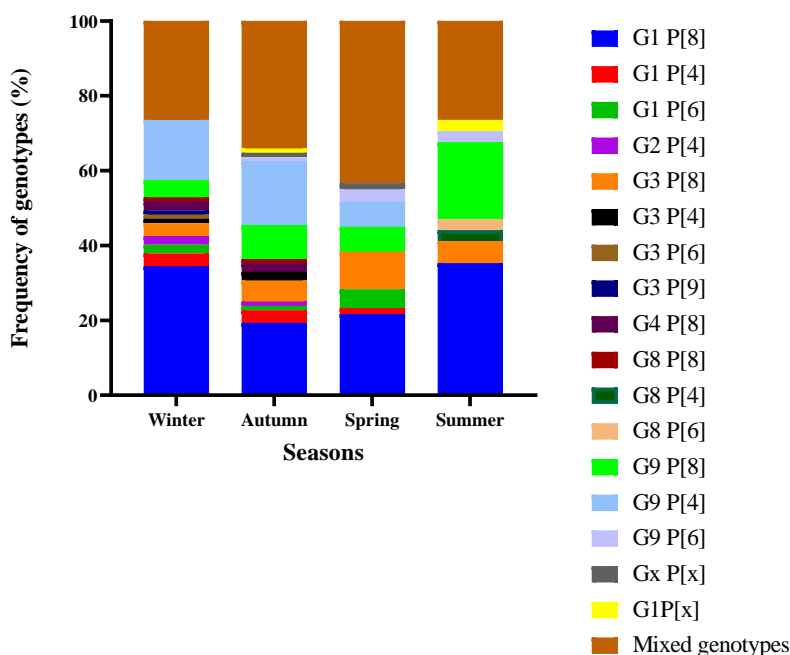
($p\text{-value} = 0.039$). همچنین بروز تب در مبتلایان به G1P[6] فراوانی بالاتری را نشان داد. تب در بیمارانی که به عفونت منفرد با ژنوتیپ‌های G1P[4] و G3P[8] و یا عفونت چندگانه G1G3P[8] مبتلا بودند در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها فراوانی بیشتری را نشان داد. میان نوع ژنوتیپ با حضور و یا عدم حضور تهوع و همچنین نوع ژنوتیپ و حدت اسهال ارتباط معناداری مشاهده شد ($p\text{-value} = 0.0001, 0.0061$). در این رابطه تمام بیماران مبتلا به ژنوتیپ‌های G1P[6] تهوع داشتند، اما به فرم خفیف‌تری از اسهال مبتلا شدند. بیمارانی که به عفونت‌های ترکیبی مبتلا بودند کمتر از سایر بیماران دچار تهوع شدند اما حدت اسهال در آن‌ها بیشتر بود.

تعیین ارتباط میان فصل و ژنوتیپ‌های شناسایی شده

بررسی آماری اختلاف معناداری را بین تنوع ژنوتیپ در فصول مختلف نشان داد ($p\text{-value} = 0.0077$). این اختلاف به دلیل تفاوت در تنوع ژنوتیپ‌ها در فصول سرد سال در مقایسه با فصول گرم مشاهده گردید. ژنوتیپ G9P[4] در فصول پاییز و زمستان غالب بود (به ترتیب ۱۷/۴۴٪ و ۱۶/۰۹٪) و در فصل بهار فراوانی آن کمتر (۶/۷۷٪) و در فصل تابستان به صفر رسید (نمودار ۲).

تعیین ارتباط میان بروز علائم بالینی و ژنوتیپ‌های شناسایی شده

در این مطالعه میان نوع ژنوتیپ و شدت کم آبی^۱ ارتباطی مشاهده نگردید ($p\text{-value} = 0.28$). اما میان ابتلا به ژنوتیپ G1P[8] و طول مدت بستری کمتر ارتباط معنادار دیده شد



نمودار شماره ۲- فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف روتاویروس در کودکان مبتلا به عفونت‌های منفرد و ترکیبی در فصول مختلف سال

ژنوتیپ‌های غالب بدون در نظر گرفتن منطقه جغرافیایی به ترتیب G1P[8]، G9P[4] و G9P[8] شناسایی گردید. ژنوتیپ G9P[4] روند کاهشی از فصول سرد به فصول گرم سال را نشان

بحث

در این مطالعه تنوع ژنوتیپ‌های روتاویروس گروه A انسانی در کودکان به صورت چند مرکزی در ایران تعیین گردید.

¹ dehydration

(۲۱،۱۱). همچنین ژنوتیپ غالب در غرب کشور [G1P[8] و بعد از آن [G9P[8] و [G9P[4] بود.

یافته های تحقیق حاضر بجز در مورد ژنوتیپ [G1P[6] که تنها در تهران گزارش گردید، ارتباطی را میان حضور ژنوتیپ های غالب و پراکنش جغرافیایی نشان نداد. ژنوتیپ [G1P[6] در ۲/۳٪ درصد از نمونه های کودکان شناسایی شد، که به طور مشابهی شیوع جهانی اندکی را در سایر مطالعات نشان می دهد. بر اساس اطلاعات موجود این ژنوتیپ در مناطقی از آمریکای لاتین ۱۰٪ نیز قبل از شروع واکسیناسیون گزارش شده بود (۲۲).

در مطالعه حاضر ژنوتیپ [G1P[8] در تمام فصول سال غالب بود، اما فراوانی آن در فصل زمستان نسبت به سایر فصول فراوانی بیشتری را نشان داد. فراوانی ژنوتیپ [G9P[4] در فصول پاییز و زمستان نسبت به فصل بهار بیشتر بود و در فصل تابستان این ژنوتیپ مشاهده نگردید. در یک مطالعه چند مرکزی که در ۱۲ کشور اروپایی انجام شد به طور مشابه شیوع ژنوتیپ [G1P[8] در فصل زمستان بیشتر بود و فراوانی آن در سایر فصول کاهش یافت (۴) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. در مطالعه ای در قطر مانند مطالعه حاضر ژنوتیپ [G9P[4] فراوانی کمتری را در فصل تابستان در مقایسه با سایر فصول نشان داد (۲۳). در مطالعه ای در مصر، ارتباط معناداری بین پراکنش ژنوتیپ ها و فصول مختلف سال مشاهده نشد که با نتایج مطالعه حاضر مغایرت دارد (۲۴). در مطالعه حاضر ژنوتیپ [G1P[8] در کودکان زیر ۳ سال و [G9P[4] در کودکان ۳-۴ سال شیوع بیشتری نشان داد. در یونان و قطر در این گروه سنی [G9P[8] گزارش شده است که با نتایج مطالعه حاضر مغایرت دارد (۲۵،۲۳). در انگلیس و نروژ مانند مطالعه حاضر ژنوتیپ [G1P[8] در گروه سنی زیر ۳ سال فراوانی بیشتری داشت و با افزایش سن از فراوانی آن کاسته شد

داد، به گونه ای که در فصل تابستان موارد گزارش شده از این ژنوتیپ به صفر رسید. تنوع ژنوتیپی با افزایش سن ارتباط مستقیم نشان داد، به این معنا که با بالا رفتن سن، تنوع ژنوتیپی نیز افزایش یافت. همچنین ابتدا به ژنوتیپ های مختلف روتاویروس در پسرها در مقایسه با دخترها اختلاف معناداری را نشان نداد. در حالی که ارتباط آماری میان نوع ژنوتیپ و بروز علائم بالینی همچون طول مدت بستری و حدت اسهال، مشاهده شد، ارتباطی میان نوع ژنوتیپ با شدت کم آبی و بروز تب مشاهده نشد.

ژنوتیپ های غالب در این مطالعه به ترتیب [G1P[8]، [G9P[4] و [G9P[8] گزارش شد. به جز [G1P[8] و [G9P[8]، فراوانی سایر ژنوتیپ های رایجی که در سایر نقاط جهان به عنوان ژنوتیپ های غالب گزارش شدند در مطالعه حاضر کم بود و بالعکس، ژنوتیپ هایی مانند [G9P[4] که جزو ژنوتیپ های غیرمعمول محسوب می شوند فراوانی بیشتری را نشان داد (۵،۴). در مطالعه چند مرکزی استقامتی و همکاران که در سه نقطه جغرافیایی کشور انجام شد، ژنوتیپ غالب [G4P[8] و بعد از آن [GxP[8] و [G4P[x] گزارش شد (۸). در این مطالعه برخلاف مطالعه حاضر، فراوان ترین ژنوتیپ [G4P[8] بود (۳۴/۱۱۱، ۳۰/۹٪). در مطالعات سال های گذشته، ژنوتیپ غالب در مرکز کشور [G1P[8] و در یک مطالعه اخیر [G9P[4] و [G9P[8] (۱۹،۱۰،۹)، در شمال کشور [G1P[8] و در یک مورد [G4P[8] (۲۰،۱۲،۱۱) و در جنوب کشور [G9P[8] (۱۳) گزارش شد. در مطالعه حاضر نیز مانند مطالعات سال های گذشته، ژنوتیپ غالب در مرکز و شمال کشور [G1P[8]، و در جنوب کشور برخلاف مطالعات گذشته [G1P[8] و [G9P[4] بعنوان ژنوتیپ های غالب شناسایی شد

بیماران مبتلا به ژنوتیپ‌های حاوی [8]P بیشتر است که این موضوع در مطالعات سایر کشورها نیز مشاهده شده است (۳۰). در مطالعات سایر کشورها احتمال بیشتر بروز تهوع و بروز طولانی تر اسهال در بیماران مبتلا به [8]G1P گزارش شده است، درحالی‌که این ارتباط در مورد طول مدت بستری گزارش نشده است (۲۳، ۳۱). در قطر مانند مطالعه حاضر، در کودکان مبتلا به ژنوتیپ [8]G3P بروز علائم تب با فراوانی بیشتری مشاهده شد (۲۳)، اما برخلاف مطالعه حاضر در لاتویا، بروز تب در بیماران مبتلا به ژنوتیپ [8]G3P نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها از فراوانی کمتری برخوردار بود (۳۱). در مطالعه‌ای در بولیوی برخلاف مطالعه حاضر، احتمال بروز تهوع در افراد مبتلا به ژنوتیپ [6]G1P کمتر بود (۳۲). در خصوص ارتباط بین ژنوتیپ [4]G1P و بروز تب گزارشی یافت نشد، ولی در مطالعه ای در جنوب هند همانند مطالعه حاضر حدت بالاتری از اسهال در بیماران مبتلا به عفونت‌های ترکیبی با ژنوتیپ‌های مختلف گزارش شد (۳۳).

در مطالعه حاضر شیوع بالایی از عفونت‌های ترکیبی^۱ درمیان کودکان مبتلا مشاهده شد که با مطالعه‌ای در ایران و ترکیه در سال‌های گذشته تطابق (۲/۲۹٪، ۳۳/۳۴٪) (۳۴، ۳۵) و با برخی از مطالعات دیگر مغایرت دارد (۱/۹۲٪) (۳۶).

در کشورهای با میزان درآمد متوسط، اثر بخشی^۲ واکسن تک ظرفیتی Rotarix برای ژنوتیپ‌های هموتیپیک ۸۱٪ و برای ژنوتیپ‌های نیمه هتروتیپیک و هتروتیپیک به ترتیب ۶۷٪ و ۶۵٪ گزارش شده است (۳۷). در مطالعه حاضر در مقایسه با این واکسن، ۴۳/۶۲٪ از ژنوتیپ‌ها هموتیپیک و به ترتیب ۳۷/۱۸٪ و ۱۹/۲٪ از ژنوتیپ‌ها از نوع نیمه هتروتیپیک و هتروتیپیک بودند.

(۲۶، ۲۷). در هند مانند مطالعه حاضر فراوانی ژنوتیپ [8]G1P در کودکان زیر ۳ سال بیشتر بود، اما ژنوتیپ [4]G9P برخلاف مطالعه حاضر در کودکان ۳-۴ سال فراوانی کمی را نشان داد (۲۸).

در مطالعه حاضر ژنوتیپ‌های غالب در پسرها [8]G1P و [4]G9P و در دخترها [8]G1P بود. در قطر مانند مطالعه حاضر، فراوانی ابتلا به ژنوتیپ‌های مختلف در پسرها در مقایسه با دخترها بیشتر بود؛ در این مطالعه برخلاف مطالعه حاضر فراوانی ژنوتیپ [4]G9P در هر دو جنسیت یکسان بود (۲۳). در ترکیه و یونان مانند مطالعه حاضر، ارتباط معناداری میان جنسیت و نوع ژنوتیپ دیده نشد. ژنوتیپ شایع در هر دو جنسیت در ترکیه مانند مطالعه حاضر [8]G1P، ولی در یونان [8]G4P بود (۲۵، ۲۹).

در مطالعه حاضر کودکان مبتلا به ژنوتیپ‌های متفاوت از نظر میزان کم آبی تفاوتی با یکدیگر نداشتند، اما مبتلایان به ژنوتیپ [8]G1P طول مدت بستری کمتری را نسبت به کودکان مبتلا به ژنوتیپ‌های دیگر تجربه کردند. تفاوت قابل توجهی میان کودکان تب دار و بدون تب مشاهده نشد، اما تمام کودکان مبتلا به ژنوتیپ [6]G1P دارای تب بودند. همچنین در کودکان مبتلا به ژنوتیپ‌های [4]G1P و [8]G3P و همچنین عفونت‌های ترکیبی، حضور علامت تب از فراوانی بیشتری برخوردار بود. علامت تهوع در تمام کودکان مبتلا به ژنوتیپ [6]G1P حضور داشت، اما فرم اسهال در این بیماران خفیف بود. حضور علامت تهوع در کودکان مبتلا به عفونت‌های ترکیبی کمتر، اما در حدت اسهال در آن‌ها بیشتر بود. در کل به نظر می‌رسد شدت علائم بالینی در بیماران مبتلا به ژنوتیپ‌های حاوی [6]P کمتر و در

² effectiveness

¹ Mixed infections

ابتلا کودکان به ژنوتیپ‌های [8]G1P، [4]G9P و [8]G9P در تمام شهرهای تحت بررسی شیوع بالاتری را نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها نشان داد. در حالی که وجود عفونت ترکیبی توسط ژنوتیپ‌های مختلف در برخی از شهرهای تحت بررسی فراوانی بالاتری را نشان داد، اما این اختلاف از نظر آماری معنادار نبود. نقش تغییرات فصول سال بر شیوع ژنوتیپ‌های خاص و همچنین ارتباط آنها با برخی از رده‌های سنی و علائم بالینی نشان داده شد. انجام مطالعات میدانی می‌تواند شواهد علمی بیشتری را در این خصوص و انتخاب واکسن مناسب در کودکان ارائه کند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب قدردانی و تشکر خود را از اداره بیماری‌های قابل پیشگیری با واکسن، مرکز مدیریت بیماری‌های واگیر، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی و دفتر نمایندگی سازمان جهانی بهداشت در ایران جهت حمایت از این تحقیق اعلام می‌دارند. همچنین نویسندگان این تحقیق از تلاش و همکاری پرسنل مرکز توسعه تحقیقات بالینی بیمارستان شهید محمدی دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، دانشگاه علوم پزشکی همدان، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، بیمارستان علی اصغر دانشگاه علوم پزشکی ایران، و بیمارستان کودکان مفید دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی قدردانی می‌نمایند. این تحقیق با حمایت مالی سازمان جهانی بهداشت Purchase order (202700981) و حمایت مرکز تحقیقات عفونی اطفال، پژوهشکده سلامت کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی (کد طرح شماره ۵۷۲) انجام شده است.

References

1. WHO. Rotavirus, Vaccine-Preventable Diseases, Surveillance Standards, September 5, 2018. 2018;1-11.
2. Bukhari NT, Parveen G, Ali PA, Sami A, Lashari Y, Mukhtar N, et al. Diversity of Rotavirus Strains among Children with Acute

همچنین در کشور لبنان ۰/۹۲٪، ۵/۵۰٪ و ۲۱٪ از ژنوتیپ‌ها به ترتیب از نوع هموتیپیک، نیمه هتروتیپیک و هتروتیپیک و در کنیا ۶۰٪ و ۲۹٪ از ژنوتیپ‌ها به ترتیب از نوع هموتیپیک و هتروتیپیک بودند (۳۷). بر این اساس به نظر می‌رسد استفاده از واکسن تک ظرفیتی Rotarix در ۲۰-۳۰٪ کودکان کشور اثربخشی مناسبی علیه ابتلا به عفونت روتاویروس گروه A انسانی نخواهد داشت. با توجه به مطالعات صورت گرفته، به طور کلی میزان اثربخشی واکسن Rotarix در کشورهای مختلف بطور میانگین ۸۱/۶٪ و واکسن RotaTeq ۸۷/۲٪ می‌باشد. میزان اثربخشی این دو واکسن اختلاف چندانی با یکدیگر ندارد، لذا با توجه به تنوع ژنوتیپی در این مطالعه به نظر می‌رسد استفاده از این واکسن‌ها در کشور بتواند به میزان ۷۰-۸۰٪ علیه ابتلا به عفونت مجدد یا ممانعت از بروز علائم بالینی موثر باشد (۴۱-۳۸).

این مطالعه با محدودیت‌هایی همراه بود که از جمله آن عدم امکان مقایسه دودمان^۱ سویه‌های مطالعه حاضر با سویه‌های واکسنی بود. همچنین اطلاعاتی از سابقه ابتلا قبلی کودکان به عفونت روتاویروس و به طبع آن بررسی وضعیت آنتی بادی‌های خنثی کننده جهت بررسی ایمنی ناشی از عفونت‌های قبلی، تحلیل وضعیت بروز عفونت توسط ژنوتیپ‌های مختلف و شدت علائم ایجاد شده در دسترس نبود.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه ابتلا به ۴۶ ژنوتیپ مختلف روتاویروس را در کودکان زیر ۵ سال در شهرهای مختلف کشور نشان داد. میزان

- Diarrhea in Karachi, Pakistan. Biomed Res Int. 2022;2022:5231910.
3. Howley, P. M., & Knipe DM. Fields virology: Emerging viruses. Lippincott Williams & Wilkins; 2020. 1122-1225 p.
 4. Hungerford D, Vivancos R, Read JM, Pitzer VE, Cunliffe N, French N, et al. In-season and out-of-season variation of rotavirus

¹ lineage

genotype distribution and age of infection across 12 European countries before the introduction of routine vaccination, 2007/08 to 2012/13. *Eurosurveillance*. 2016;21(2).

5. Dóró R, László B, Martella V, Leshem E, Gentsch J, Parashar U, et al. Review of global rotavirus strain prevalence data from six years post vaccine licensure surveillance: is there evidence of strain selection from vaccine pressure? *Infect Genet Evol J Mol Epidemiol Evol Genet Infect Dis*. 2014 Dec;28:446–61 .

6. Leshem E, Lopman B, Glass R, Gentsch J, Bányai K, Parashar U, et al. Distribution of rotavirus strains and strain-specific effectiveness of the rotavirus vaccine after its introduction: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2014 Sep;14(9):847–56 .

7. Nick ST, Mohebbi SR, Ghaemi A, Hosseini SM. Human rotavirus in Iran; molecular epidemiology, genetic diversity and recent updates on vaccine advances. *Gastroenterol Hepatol from Bed to Bench*. 2019;12(2):9–109 .

8. Eesteghamati A, Gouya M, Keshtkar A, Najafi L, Zali MR, Sanaei M, et al. Sentinel hospital-based surveillance of Rotavirus diarrhea in Iran. *J Infect Dis*. 2009;200(SUPPL. 1):244–7 .

9. Modarres S, Rahbarimanesh AA, Edalat R, Sohrabi A, Modarres S, Gomari H, et al. Human rotavirus genotypes detection among hospitalized children, a study in Tehran, Iran. *Arch Iran Med*. 2011 Jan;14(1):39–45 .

10. Shams S, Nasab SDM, Tafaraji J, Ahmadi N, Afzali ES, Heydari H. Detection and characterization of rotavirus G and P types from children with acute gastroenteritis in Qom, central Iran. *Gastroenterol Hepatol from Bed to Bench*. 2020;13(April 2021):S128–33 .

11. Khalkhali P, Khavandegar A, Mozhgani S-H, Teimoori A, Moradi A, Ajourloo M, et al. Genotyping and sequence characterization of the NSP4 gene of human group A rotavirus strains in Northern Iran. *J Med Virol* [Internet]. 2021 Aug 1;93(8):4824–30. Available from: <https://doi.org/10.1002/jmv.26998>

12. Lorestani N, Moradi A, Teimoori A, Masodi M, Khanizadeh S, Hassanpour M, et al. Molecular and serologic characterization of rotavirus from children with acute gastroenteritis in northern Iran, Gorgan. *BMC Gastroenterol*. 2019;19(1):1–9.

13. Azaran A, Makvandi M, Teimoori A, Ebrahimi S, Heydari F, Nikfar R. Distribution of rotavirus genotypes circulating in Ahvaz, Iran in 2016. *Iran Biomed J*. 2018;22(2):107–16 .

14. Motamedi-Rad M, Farahmand M, Arashkia A, Jalilvand S, Shoja Z. VP7 and VP4 genotypes of rotaviruses cocirculating in Iran, 2015 to 2017: Comparison with cogent sequences of Rotarix and RotaTeq vaccine strains before their use for universal mass vaccination. Vol. 92, *Journal of Medical Virology*. 2020. 1110–1123 p .

15. Jalilvand S, Roohvand F, Arashkia A, Shoja Z. Update on Epidemiology and Circulating Genotypes of Rotavirus in Iranian Children With Severe Diarrhea: 1986–2015. *Int J Travel Med Glob Heal* [Internet]. 2018;6(1):7–10. Available from: https://www.ijtmgh.com/article_57619.html

16. Shoja Z, Jalilvand S, Mokhtari-Azad T, Nategh R. Epidemiology of cocirculating human rotaviruses in Iran. *Pediatr Infect Dis J*. 2013 Apr;32(4):e178–81 .

17. Kargar M, Jafarpour T, Najafi A. Epidemiological Survey of Group A Rotaviruses Infection among Children under 5 Years with Acute Diarrhea. *Zahedan J Res Med Sci* [Internet]. 2012;14(8):e93279. Available from: <https://brieflands.com/articles/zjrms-93279.html>

18. WHO. Manual of rotavirus detection and characterization methods Manual of rotavirus detection and characterization methods Immunization , Vaccines and Biologicals. 2009 ;

19. Kachooei A, Tava Koli A, Minaeian S, Hosseini M, Jalilvand S, Latifi T, et al. Molecular characterization of rotavirus infections in children less than 5 years of age with acute gastroenteritis in Tehran, Iran, 2021–2022: Emergence of uncommon G9P[4] and G9P[8] rotavirus strains. *J Med Virol* [Internet]. 2023 Feb 1;95(2):e28529. Available from: <https://doi.org/10.1002/jmv.28529>

20. Sanaei M, Radpour H, Esteghamati A ali, Keshtcar A ali, Nasiri M, Noochi Z, et al. Prevalence and Molecular

Characterization of Rotaviruses from Children with Acute Diarrhea in Tabriz. *HBI_Journals* [Internet]. 2009 Mar 1;13(4):69–77. Available from: <http://sjku.muk.ac.ir/article-1-103-en.html>

21. Motamedi-Rad M, Farahmand M, Arashkia A, Jalilvand S, Shoja Z. VP7 and VP4 genotypes of rotaviruses cocirculating in Iran, 2015 to 2017: Comparison with cogent sequences of Rotarix and RotaTeq vaccine strains before their use for universal mass vaccination. *J Med Virol*. 2020;92(8):1110–23 .

22. Khalili B, Cuevas LE, Reisi N, Dove W, Cunliffe NA, Hart CA. Epidemiology of rotavirus diarrhoea in Iranian children. *J Med Virol*. 2004;73(2):309–12 .

23. Mathew S, Al Ansari K, Al Thani AA, Zaraket H, Yassine HM. Epidemiological, molecular, and clinical features of rotavirus infections among pediatrics in Qatar. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2021;40(6):1177–90 .

24. Rizk NM, Allayeh AK. Genotyping of Rotaviruses in River Nile in Giza, Egypt. *Iran J Public Health*. 2020 Jan;49(1):173–80 .

25. Koukou D-M, Michos A, Chatzichristou P, Trimis G, Tatsi E-B, Dellis C, et al. Rotavirus epidemiology and genotype distribution in hospitalised children, Greece, 2008 to 2020: A prospective multicentre study. *Euro Surveill*. 2022 Nov;27(47):1–12 .

26. Hungerford D, Allen DJ, Nawaz S, Collins S, Ladhani S, Vivancos R, et al. Impact of rotavirus vaccination on rotavirus genotype distribution and diversity in England, September 2006 to August 2016. *Euro Surveill Bull Eur sur les Mal Transm = Eur Commun Dis Bull*. 2019 Feb;24(6) .

27. Gibory M, Bruun T, Flem E, Dembinski JL, Haltbakk I, Størdal K, et al. Genetic diversity of rotavirus strains circulating in Norway before and after the introduction of rotavirus vaccination in children. *J Med Virol*. 2022 Jun;94(6):2624–31 .

28. Giri S, Kumar CPG, Khakha SA, Chawla-Sarkar M, Gopalakrishna V, Chitambar SD, et al. Diversity of rotavirus genotypes circulating in children < 5 years of age hospitalized for acute gastroenteritis in India from 2005 to 2016: Analysis of temporal and regional genotype variation. *BMC Infect Dis*. 2020;20 (1).

29. Durmaz R, Kalaycioglu AT, Acar S, Bakkaloglu Z, Karagoz A, Korukluoglu G, et al. Prevalence of rotavirus genotypes in children younger than 5 years of age before the introduction of a universal rotavirus vaccination program: Report of Rotavirus Surveillance in Turkey. *PLoS One*. 2014;9(12):1–19 .

30. Yoon HS, Lim J, Sohn Y-H, Kim SY. Incidence, Clinical Characteristics, and Genotype Distribution of Rotavirus in a Neonatal Intensive Care Unit 5 Years After Introducing Rotavirus Vaccine. *Front Pediatr*. 2022;10:850839 .

31. Laizāne G, Ķīvīte A, Grope I, Smāne L, Miklaševics E, Ozoliņa L, et al. Clinical Characterisation of Rota Virus Infection Associated with Most Commonly Circulating Genotypes in Children Hospitalised in Children's University Hospital: A Cross-Sectional Study in Latvia. *Proc Latv Acad Sci Sect B Nat Exact, Appl Sci* [Internet]. 2019;73(4):312–6. Available from: <https://doi.org/10.2478/prolas-2019-0049>

32. Rivera R, Forney K, Castro MR, Rebolledo PA, Mamani N, Patzi M, et al. Rotavirus genotype distribution during the pre-vaccine period in Bolivia: 2007–2008. *Int J Infect Dis* [Internet]. 2013;17(9):e762–7. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1201971213001458>

33. Banerjee I, Ramani S, Primrose B, Moses P, Iturriza-Gomara M, Gray JJ, et al. Comparative study of the epidemiology of rotavirus in children from a community-based birth cohort and a hospital in South India. *J Clin Microbiol*. 2006 Jul;44(7):2468–74 .

34. Kargar M, Jafarpour T, Najafi A. Burden and typing of rotavirus group A in children with acute gastroenteritis in Shiraz, Southern Iran. *Iran Red Crescent Med J*. 2012;14(9):531 .

35. Yarkin F, Yildirim D, Celik mit, Demirhindi H, Koksall F. The distribution of Rotavirus G and P genotypes in children with acute gastroenteritis in Cukurova region, Turkey. *J Immunol Clin Microbiol*. 2016;1(1):3 .

36. Kargar M, Khodadadi P, Najafi A, Ansari H. Predominance of rotavirus G8 genotype in hospitalized children with acute

- gastroenteritis in Yasuj, Iran. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2014;18(5):699–702 .
37. Cates JE, Amin AB, Tate JE, Lopman B, Parashar U. Do Rotavirus Strains Affect Vaccine Effectiveness? A Systematic Review and Meta-analysis. *Pediatr Infect Dis J*. 2021 Dec;40(12):1135–43 .
38. Araki K, Hara M, Tsugawa T, Shimano C, Nishida Y, Matsuo M, et al. Effectiveness of monovalent and pentavalent rotavirus vaccines in Japanese children. *Vaccine*. 2018 Aug;36(34):5187–93 .
39. Huang Y-C, Wu F-T, Huang Y-C, Liu C-C, Chun-Yi-Lee, Lin H-C, et al. Long-term effectiveness of pentavalent and monovalent rotavirus vaccines against hospitalization in Taiwan children. *Vaccine* [Internet]. 2020;38(41):6435–41. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X20310112>
40. Payne DC, Boom JA, Staat MA, Edwards KM, Szilagyi PG, Klein EJ, et al. Effectiveness of Pentavalent and Monovalent Rotavirus Vaccines in Concurrent Use Among US Children <5 Years of Age, 2009–2011. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2013 Jul 1;57(1):13–20. Available from: <https://doi.org/10.1093/cid/cit164>
41. Cortese MM, Immergluck LC, Held M, Jain S, Chan T, Grizas AP, et al. Effectiveness of Monovalent and Pentavalent Rotavirus Vaccine. *Pediatrics* [Internet]. 2013 Jul 1;132(1):e25–33. Available from: <https://doi.org/10.1542/peds.2012-3804>



Original Article

Detection of Circulating Rotavirus Genotypes in Hospitalized Children ≤ 5 Years of Age with Acute Gastroenteritis

Tina Fallah¹, Ameneh Elikaei², Roxana Mansour Ghanaie³, Abdollah Karimi³, Iraj Sedighi⁴, Marjan Tariverdi⁵, Arezu Amirali¹, Tayebe Nazari³, Negin Nahanmoghadam⁶, Alireza Nateghian⁷, Seyed Hamidreza Monavari⁸, Seyed Mohsen Zahraei⁹, Sussan Mahmoudi¹⁰, Masoud Alebouyeh¹¹

- 1- Msc. in Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran
 2- PhD in Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran
 3- Subspecialist in Pediatric Infectious Diseases, Pediatric Infections Research Center, Research Institute for Children's Health, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
 4- Subspecialist in Pediatric Infectious Diseases, Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Hamedan University of Medical Sciences, Hamedan, Iran
 5- Subspecialist in Pediatric Infectious Diseases, Department of Pediatrics, School of Medicine, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran
 6- Subspecialist in Pediatric Infectious Diseases, Department of Pediatrics, Bouali Hospital Children's Hospital, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran
 7- Subspecialist in Pediatric Infectious Diseases, Department of Pediatrics, Ali Asghar Children's hospital, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
 8- PhD in Medical Virology, Department of Medical Virology, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
 9- Medical Specialist in Infectious Diseases, Center for Communicable Diseases Control, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran
 10- Medical specialist in Pediatrics, Center for Communicable Diseases Control, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran
 11- PhD in Medical Bacteriology, Pediatric Infections Research Center, Research Institute for Children's Health, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Article Information

Received

21 February 2023

Accepted

14 June 2023

Corresponding author

Roxana Mansour Ghanaie
Masoud Alebouyeh

Corresponding author E-mail

masoud.alebouyeh@gmail.com
ghanaieroxana@gmail.com

Keywords:

Rotavirus, Genotype,
Gastroenteritis, Iran,
Children

Abstract

Background and Objectives: Identification of rotavirus genotypes in children is clinically important. This study aimed to determine the spectrum of rotavirus genotypes and assess their correlation with demographic variables and clinical manifestations in hospitalized children.

Methods: To determine rotavirus genotypes, rotavirus positive stool samples of symptomatic children were included in the study between December 2019 and March 2020. RNA extraction and cDNA synthesis for VP7 and VP4 genes were performed following standard protocols. Genotypes were determined using specific primers. Validation of results was done through sequencing and bioinformatic analysis. Data were statistically analyzed using SPSS version 20 and GraphPad version 9.5.0.

Results: Among the infected patients, three genotypes emerged as dominant in the studied population. The study demonstrated a significant correlation between genotype frequency and seasonal variations (p -value=0.0077), as well as between genotypes, hospitalization, and severity of diarrhea. While significantly more types of rotavirus group A were identified with increasing age, no correlation was observed between the genotypes and gender (p -value=0.473). Furthermore, there was no significant association between genotype, dehydration rates, and the presence or absence of fever.

Conclusion: This study revealed a relatively high diversity of rotavirus genotypes in children. The findings suggest the need for further research to validate the identified correlations between certain genotypes and age groups, seasonal variations, clinical symptoms, and the efficacy of available vaccines.

