

## ไวรัสโรตาและวัคซีน

สุวิมล สรรพวัฒน์\*

Sanpavat S. Rotavirus and vaccine. Chula Med J 1997 Jan;41(1): 13-29

*Rotavirus is the most frequent cause of severe gastroenteritis in infants. It constitutes one genus of the family Reoviridae. The shape of the virus is spherical with an inner core protein consisting of 11 segments of double-stranded RNA, and a double-shell outer and inner capsids, making its appearance resemble a wheel. The capsids contains different viral proteins whose properties are hemagglutination, neutralizing antibodies, increasing virulence and ability to penetrate host cells. Antigenic differences of the viral proteins allows classification of rotavirus into different groups (A-G), subgroups (I,II) and serotypes ( $G_1$ - $G_{14}$  and  $P_1$ - $P_4$ ). Group A, serotypes  $G_1$ - $G_4$  are the most common causes of disease in humans. The incidence of rotavirus gastroenteritis is 20-46% in underdeveloped countries and 38-89% in developed ones. Different strains predominate in specific areas. A shift of the predominant strain in a community commonly occurs every 2-3 years, or earlier in some developing countries. In the neonatal unit of Chulalongkorn Hospital, 50.7% of the diarrhea is caused by rotavirus. High mortality in young children caused by gastroenteritis necessitates the development of a rotavirus vaccine. Different types of vaccine have been tested. The vaccine derived from animal rotavirus produces conflicting results. It provides some protection, although the amount varies. The reassortant, multivalent vaccine, developed from both animal and human rotaviruses,*

*induces seroconversion. However protection from infection depends on intestinal immunity rather than serum antibodies. Most studies reveal protection against clinically or severe diarrhea. A recent development which is still being evaluated is human rotavirus vaccine. To prevent rotavirus infection or gastroenteritis, the vaccine has to contain multiple serotypes, induce heterotypic response, and be given very early in life in order to induce immunity before exposure to the rotavirus season.*

**Key word:** *Rotavirus*

Reprint request: Sanpavat S, Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

Received for publication. December 15, 1996.

ไวรัสโรตาเป็นสาเหตุที่พบบ่อยที่สุดที่ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงในเด็กเล็ก Light และ Hodes ได้พบไวรัสนี้เป็นครั้งแรกในปี 1943 โดยแยกเชื้อได้จากอุจจาระของเด็กที่ป่วยเป็นโรคอุจจาระร่วงในขณะที่มีการระบาด ในขณะนั้นยังไม่มียวิธีที่จะยืนยันหรือพิสูจน์ตัวไวรัสได้ อย่างไรก็ตาม เชื่อดังกล่าวสามารถที่จะทำให้เกิดโรคอย่างเดียวกันในวัวได้ จึงทำให้มีการศึกษาถึงระยะฟักตัวของโรค พยาธิสภาพของลำไส้ การเกิดภูมิคุ้มกัน และการป้องกันโรคจากเชื้อตัวนี้โดยใช้ซีรัมที่มีภูมิคุ้มกันอยู่แล้ว ปี 1973 Bishop และคณะ ได้ตรวจชิ้นเนื้อจากลำไส้เล็กโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน จึงได้เห็นรูปร่างลักษณะของเชื้อตัวนี้และได้ขนานนามว่าไวรัสโรตา (rotavirus)<sup>(1)</sup> นอกจากจะทำให้เกิดโรคในคนแล้ว ไวรัสโรตายังทำให้เกิดโรคในสัตว์ต่างๆ หลายชนิด เช่น ม้า หมู วัว แกะ กวาง กระต่าย ลิง เป็นต้น

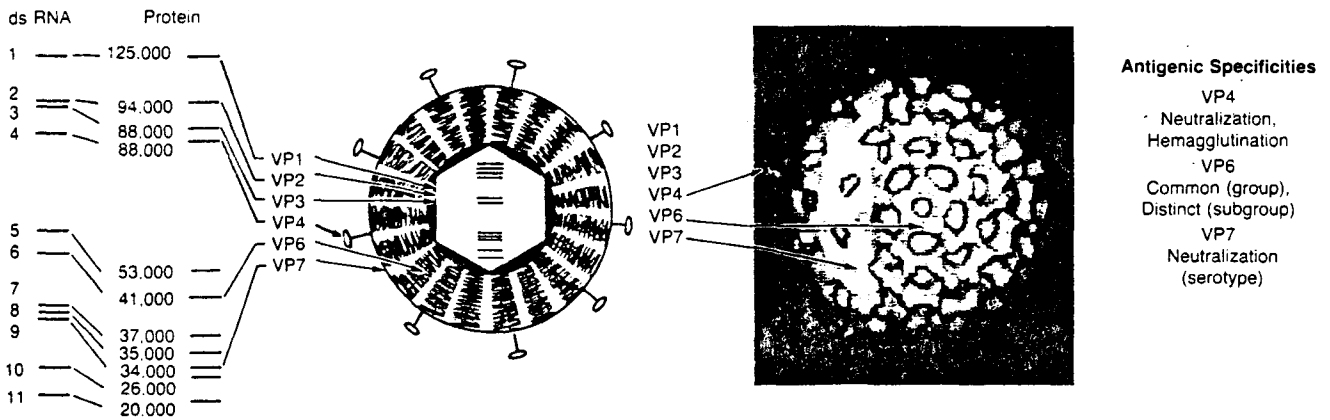
ไวรัสโรตาจัดเป็น genus หนึ่งในตระกูล Reoviridae เป็นไวรัสที่มีรูปร่างกลมหลายเหลี่ยม (icosahedral) มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 60-90 nm. มีกรดนิวคลีอิกชนิด RNA เป็นสารพันธุกรรมอยู่เป็นแกนกลางของไวรัส เปลือกหุ้ม (capsid) เป็นโปรตีนที่เรียงตัวเป็นรูปร่างกลมหลายเหลี่ยม มี 2 ชั้น ระหว่างเปลือกหุ้มชั้นนอก และชั้นในมีเส้นใยยึดติดกันไว้ การดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนจึงเห็นลักษณะคล้ายวงล้อที่ประกอบด้วยดุมล้อ ซีลล้อ และขอบล้อ แกนกลางของไวรัสประกอบด้วยกรดนิวคลีอิกชนิด RNA เป็น RNA เส้นคู่ที่มีลักษณะเป็นท่อนต่อกัน 11 ท่อน (segments) แต่ละท่อนจะทำการสร้างโปรตีนชนิดต่างๆ กันของไวรัส เมื่อผ่าน RNA ไปใน polyacrylamide gel electrophoresis RNA แต่ละท่อนจะเคลื่อนที่ได้ไม่เท่ากัน จึงเรียกท่อนของ RNA เหล่านี้เป็นท่อนที่ 1-11 โดยตั้งตามลำดับของการเคลื่อนที่ RNA 1 เคลื่อนที่ได้ช้าที่สุด และ RNA 11 เป็นท่อนที่เคลื่อนที่ได้ไวที่สุด<sup>(3)</sup> วิธีนี้ทำให้ได้รูปแบบเฉพาะตัวของไวรัสแต่ละสายพันธุ์และนำ

ไปใช้แบ่งไวรัสออกเป็น strains ต่างๆ นอกจากนี้การเคลื่อนที่ของ RNA ท่อนที่ 10 และ 11 ยังแบ่งย่อยเป็น electropherotype ชนิด long (L), short (S), และ supershort<sup>(4-7)</sup> เปลือกหุ้มชั้นใน (inner capsid) มีไวรัสโปรตีน (VP) 4 ชนิด คือ VP<sub>6</sub>, VP<sub>1</sub>, VP<sub>2</sub> และ VP<sub>3</sub> VP<sub>6</sub> สร้างจาก RNA ท่อนที่ 6 เป็นส่วนสำคัญเนื่องจากมีโปรตีน จำนวนมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 50 ของน้ำหนักอนุภาคไวรัส<sup>(8)</sup> และทำหน้าที่เป็นแอนติเจน ความแตกต่างของแอนติเจนบน VP<sub>6</sub> นี้ใช้เป็นตัวแบ่งไวรัสออกเป็น 7 กลุ่ม คือ group A ถึง group G<sup>(9-10)</sup> group A เป็นกลุ่มที่ทำให้เกิดโรคในคนมากที่สุด group A ยังแบ่งย่อยเป็น 2 subgroups คือ subgroup 1 และ 2 subgroup 2 พบได้บ่อยกว่า subgroup 1

เปลือกหุ้มชั้นนอก (outer capsid) มีโปรตีน 2 ชนิดคือ VP<sub>4</sub> และ VP<sub>7</sub> จากการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ cryoelectron พบว่า VP<sub>4</sub> ยื่นออกจากเปลือกหุ้มชั้นนอกในลักษณะเป็นหนามสั้นๆ ที่มีตุ่มตรงปลายมีประมาณ 60 แห่ง<sup>(11)</sup> VP<sub>4</sub> สร้างจาก RNA ท่อนที่ 4 มีหน้าที่สำคัญหลายอย่าง เช่น มีคุณสมบัติของ hemagglutination<sup>(12)</sup> เป็นตัวกำหนดความรุนแรงของการติดเชื้อ<sup>(13)</sup> และการที่ไวรัส จะผ่านเข้าสู่เซลล์ เมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์ เช่น trypsin, elastase หรือ pancreatin VP<sub>4</sub> จะแตกออกและเกิดเป็น VP<sub>6</sub> และ VP<sub>8</sub><sup>(14)</sup> ซึ่งจะเพิ่มความสามารถของตัวไวรัสในการผ่านเข้าสู่ cytoplasm ของเซลล์เป้าหมายหรืออีกนัยหนึ่งคือการเพิ่มความสามารถในการติดเชื้อไวรัสโรตา<sup>(15)</sup> VP<sub>4</sub> ยังเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้เกิด neutralizing antibody<sup>(16)</sup> VP<sub>7</sub> เป็น glycoprotein ซึ่งเป็นโปรตีนส่วนใหญ่ของเปลือกหุ้มชั้นนอก คิดเป็นร้อยละ 30 ของน้ำหนักของอนุภาคไวรัส<sup>(8)</sup> สร้างโดย RNA ท่อนที่ 7, 8 หรือ 9 เป็นแอนติเจนสำคัญที่จะทำปฏิกิริยากับ neutralizing antibody เนื่องจากทั้ง VP<sub>4</sub> และ VP<sub>7</sub> สามารถที่จะทำหน้าที่ neutralization จึงใช้คุณสมบัตินี้

แบ่งไวรัสโรตาเป็น serotypes<sup>(10)</sup> โดยเรียก serotype ของ VP<sub>7</sub> เป็น G (มาจาก glycoprotein) มี 14 serotypes ตั้งแต่ G<sub>1</sub>-G<sub>14</sub> และเรียก serotype ของ

VP<sub>4</sub> เป็น P (มาจาก protease)<sup>(17)</sup> มี 4 serotypes ตั้งแต่ P<sub>1</sub>-P<sub>4</sub> serotypes G<sub>1</sub>-G<sub>4</sub> ทำให้เกิดโรคในคนมากที่สุด (รูปที่ 1)



รูปที่ 1. Rotavirus gene products. Left, rotavirus double-shelled particle. Right,<sup>(95)</sup> surface representations of the three-dimensional structures of a double-shelled particle (on the left half) and a particle (on the right half) in which most, if not all, of the outer shell and a small portion of the inner shell mass have been removed.<sup>(96)</sup>

**ระบาดวิทยา**

การติดเชื้อไวรัสโรตาทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงในเด็กเล็กอาจมีอาการมากจนทำให้ร่างกายขาดน้ำและเสียชีวิตได้ จากการศึกษาผู้ป่วยเด็กที่มีอาการทางคลินิกมากจนต้องเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล พบว่าในประเทศที่พัฒนาแล้วมีอุบัติการณ์ของโรคนี้นั้นมากกว่า คือร้อยละ 38-89<sup>(18-20)</sup> เมื่อเทียบกับประเทศด้อยพัฒนาที่มีร้อยละ 20-46<sup>(21-22)</sup> มีผู้พยายามอธิบายความแตกต่างเหล่านี้ว่าความยากจนและการสุขาภิบาลที่ล่าช้าทำให้เด็กในประเทศด้อยพัฒนาติดเชื้อไวรัสโรตาและสร้างภูมิต้านทานตามธรรมชาติตั้งแต่เล็กๆ นอกจากนี้ประเทศที่ประชากรมีเศรษฐกิจฐานะไม่ดี มักจะเลี้ยงลูกด้วยนมมารดาเป็นระยะเวลานานๆ ซึ่งทำให้เด็กมีภูมิต้านทานและเกิดโรคอุจจาระร่วงน้อยลง<sup>(2)</sup>

อุบัติการณ์ของการติดเชื้อไวรัสโรตาแตกต่างกันตามสถานที่และกลุ่มประชากรที่ศึกษาดังตารางที่ 1

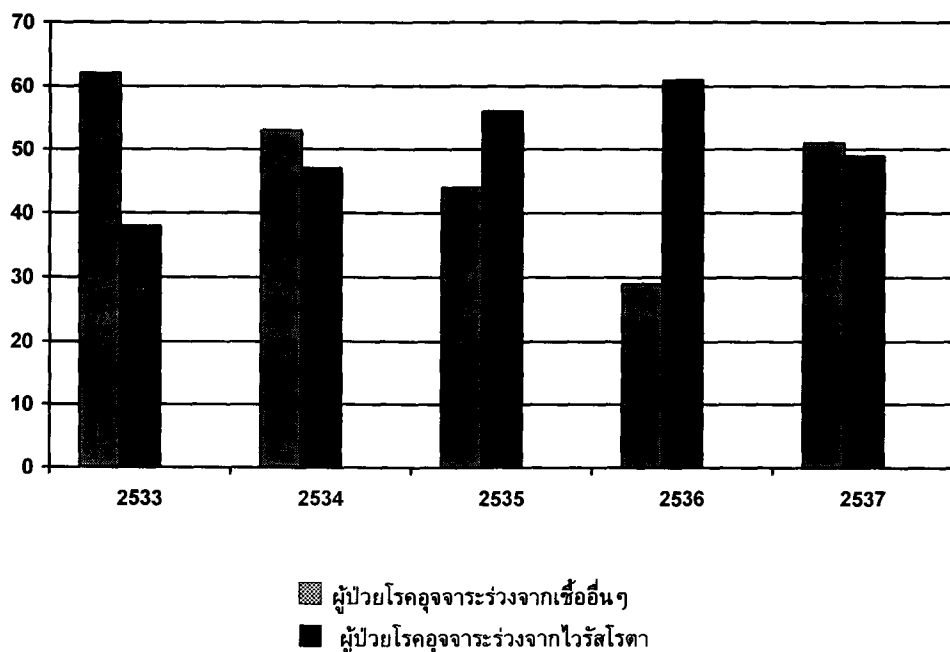
หน่วยทารกแรกเกิด โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ได้เริ่มส่งตรวจหาแอนติเจนจากอุจจาระผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วง โดยวิธี ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) ในปี 2532 โดยทำที่ภาควิชาจุลชีววิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ระหว่างปี 2533-2537 มีทารกป่วยเป็นโรคอุจจาระร่วงเนื่องจากไวรัสโรตาคิดเป็นร้อยละ 50.7 ตารางที่ 2 แสดงแผนภูมิของผู้ป่วยจากไวรัสโรตาเทียบกับผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วงจากเชื้ออื่นๆ ในแต่ละปี การเกิดโรคกระจายไปตลอดทั้งปีเช่นเดียวกับที่เกิดในประเทศแถบร้อนอื่นๆ

เนื่องจากไวรัสมีหลาย strains และหลาย serotypes การระบาดในแต่ละแห่งจึงเกิดจาก serotypes

ตารางที่ 1. แสดงการติดเชื้อโรตาไวรัสแตกต่างกันตามสถานที่ต่างๆ

สถานที่	อายุ	ระยะเวลา ที่ศึกษา	ฤดูกาล ที่พบมาก	ไวรัสโรตาคิดเป็น ร้อยละของผู้ป่วย อุจจาระร่วง	หมายเหตุ
ฟิลิปปินส์ <sup>(23)</sup>	<12 ปี	21 เดือน	ฤดูหนาว	72	ผู้ป่วยที่รับเข้า รักษาใน รพ.
ไนจีเรีย <sup>(24)</sup>	เด็ก	6 เดือน	-	28.1	ผู้ป่วยที่รับเข้า รักษาใน รพ.
บอมเบย์ <sup>(25)</sup>	6-24 เดือน	-	ฤดูหนาว	23	ผู้ป่วยนอก
แทนซาเนีย <sup>(26)</sup>	เด็ก	-	-	43.4	ผู้ป่วยใน
นิวเดลี <sup>(27)</sup>	เด็ก	1 ปี	ฤดูหนาว	15.28	ผู้ป่วยใน - พบในเด็กผู้ชาย มากกว่าเด็กหญิง - subgroup II มากกว่า subgroup I
มาเลเซีย <sup>(28)</sup>	เด็ก	1 ปี	-	12 (มีอาการ) 32 (ไม่มีอาการ)	- ชุมชน - เกิดจาก group A
เมลเบิร์น <sup>(29)</sup>	<6 เดือน	1 ปี	-	15	ผู้ป่วยใน
ซาอุดีอาระเบีย <sup>(30)</sup>	เด็ก	13 เดือน	ฤดูหนาว	46%	พบมากในเด็ก อายุระหว่าง 13-15 เดือน

ตารางที่ 2. แผนภูมิแสดงผู้ป่วยจากไวรัสโรตาเทียบกับผู้ป่วยจากเชื้ออื่นๆ หน่วยทารกแรกเกิด โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์



ต่างชนิดกัน หรือแม้แต่สถานที่ 2 แห่ง ในประเทศเดียวกันก็อาจเกิดโรคจาก serotype คนละชนิดกันได้ เช่น ทางซีกตะวันออกและตะวันตกของประเทศมาเลเซีย<sup>(31)</sup> การระบาดในแต่ละแห่งนั้นจะไม่ใช่มาจาก serotypes เดียวอย่างต่อเนื่อง แต่มีการเปลี่ยนแปลงเป็น serotype อื่นๆ ทุก 2-3 ปี<sup>(22,23)</sup> ในประเทศด้อยพัฒนาบางแห่งอาจมีการเปลี่ยนแปลงของ serotype เร็วขึ้นโดยนับระยะเวลาเป็นเดือนเท่านั้น<sup>(24)</sup> เช่น เปลี่ยนจาก serotype G<sub>1</sub> เป็น G<sub>4</sub> ในลอนดอน ประเทศอังกฤษ<sup>(32)</sup> จาก G<sub>1</sub> เป็น G<sub>2</sub> ที่เมลเบิร์น ประเทศออสเตรเลีย<sup>(33)</sup> ปรากฏการณ์เช่นนี้เข้าใจว่าเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมแบบ reassortant โดยมีการแลกเปลี่ยนท่อนของ RNA ระหว่างไวรัสโรตาสองชนิด serotypes ที่พบบ่อยคือ G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub> และ G<sub>4</sub> อย่างไรก็ตาม การติดเชื้อแต่ละครั้งไม่ว่าจะเกิดจาก serotypes ใด มักจะมี serotype G<sub>1</sub> ร่วมอยู่ด้วยเสมอ G<sub>1</sub> จึงเป็นไวรัสที่ทำให้เกิดโรคมมากกว่า serotype ชนิดอื่นๆ

การระบาดของไวรัสโรตาในหน่วยทารกแรกเกิด มีความแตกต่างจากการระบาดที่เกิดขึ้นในชุมชน คือไม่ค่อยมีการเปลี่ยนแปลงของ serotype หรือ electrophoretic strains การระบาดแต่ละครั้งมักจะเกิดจากไวรัสชนิดเดียวกันซ้ำๆ กัน และก็ไม่ใช่นิดเดียวกับที่ทำให้เกิดโรคในชุมชนที่หน่วยทารกแรกเกิดนั้นตั้งอยู่ด้วย<sup>(33-36)</sup>

นอกจากการดู serotype ในการระบาดแต่ละครั้งแล้ว แต่ละชนิดของไวรัสโรตายังมีความสัมพันธ์ระหว่างหน่วยพันธุกรรมและโปรตีนที่ทำหน้าที่ของแอนติเจน เช่น ไวรัสโรตาที่มี long electropherotype มักจะพบร่วมกับ subgroup II และ serotype G<sub>1</sub>, G<sub>3</sub> หรือ G<sub>4</sub> ไวรัสที่มี short electropherotype มักจะเกิดพ้องกับ subgroup I serotype G<sub>2</sub>

จากการแบ่งกลุ่มของไวรัสตามความแตกต่างของ VP<sub>6</sub> ของเปลือกหุ้มชั้นในเป็น group A-G group

A เป็นกลุ่มที่พบมากที่สุดทั่วโลก group อื่นๆ พบประปราย เช่น ไวรัส group B พบในประเทศจีนมากกว่าที่อื่นๆ โดยมีรายงานครั้งแรกของการระบาดจากไวรัส group B ในปี 1984 ในเหมืองถ่านหิน 2 แห่ง ในประเทศจีน ซึ่งอยู่ห่างกัน 1700 ก.ม. เกิดจากไวรัสโรตา group B เหมือนกันในเวลาใกล้เคียงกัน ระหว่างปลายปี 1982 ต่อกับต้นปี 1983<sup>(37)</sup> พบในผู้ใหญ่มากกว่าเด็ก เข้าใจว่าการระบาดเกิดขึ้นเพราะการปนเปื้อนของน้ำดื่มที่ใช้ในเมืองร่วมกับการสัมผัสโรคจากการอยู่ใกล้ชิดกัน ต่อมาเมื่อพบการติดเชื้อในทารกแรกเกิดจาก group B เช่นกัน<sup>(38)</sup>

ไวรัสโรตา group C พบได้ไม่บ่อยนัก โดยมีรายงานจากสถานที่หลายแห่ง เช่น ไทย เนปาล อังกฤษ และญี่ปุ่น<sup>(39-41)</sup>

### การตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน

ร่างกายมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัสโรตาทั้งในซีรัมและสารคัดหลั่งจากลำไส้ โดยมี rotavirus - specific IgM ตามด้วย IgG และ IgA specific IgM เกิดหลังมีอาการของทางเดินอาหาร 6 วัน ส่วน specific IgG และ IgA เกิดหลังติดเชื้อ 1-4 เดือน<sup>(42)</sup> ในระยะพักฟื้นของคนไข้ จะมีแอนติบอดีต่อไวรัสโปรตีนของเปลือกหุ้มชั้นนอกและชั้นใน (VP<sub>4</sub>, VP<sub>7</sub>, VP<sub>1</sub>, VP<sub>2</sub>, VP<sub>3</sub>, VP<sub>6</sub>) และมี specific TH-cell (T helper lymphocyte)<sup>(43)</sup>

การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจะจำเพาะต่อ serotype ที่ทำให้เกิดโรค (homotypic response) หรือต่อ serotype อื่นๆ (heterotypic response) ยังไม่สามารถสรุปได้แน่ชัด อาจขึ้นกับ serotype แต่ละชนิดที่เป็นต้นเหตุ ถ้าเกิดโรคจาก G<sub>2</sub> จะเกิดแอนติบอดี ต่อ G<sub>2</sub> เท่านั้น แต่โรคที่เกิดจาก G<sub>1</sub>, G<sub>3</sub> หรือ G<sub>4</sub> จะทำให้เกิดแอนติบอดีต่อทั้ง serotype เดียวกันและ serotype อื่นๆ ด้วย<sup>(44-46)</sup> รายงานที่แตกต่างกันเป็นการระบาด 2 ครั้ง ในระยะเวลา

1 ปี ในประเทศอิสราเอล เกิดจาก serotype 3 และ 1 ตามลำดับ โดยครึ่งหนึ่งของเด็กที่มีอาการในการระบาดครั้งแรกยังคงเกิดอาการทางคลินิกในการระบาดครั้งที่ 2<sup>(47)</sup> และรายงานผู้ป่วยเด็กที่มีอุจจาระร่วง 2 ครั้งในระยะเวลาห่างกัน 11 เดือน โดยครั้งแรกเกิดจาก serotype G<sub>1</sub> และครั้งที่ 2 เกิดจาก serotype G<sub>2</sub><sup>(48)</sup>

ภูมิคุ้มกันที่ร่างกายสร้างขึ้นหลังการติดเชื้อครั้งแรก ไม่ว่าจะมียาหรือไม่มีอาการทางคลินิกจะช่วยป้องกันการติดเชื้อครั้งต่อไป หรือถ้าจะเกิดเป็นโรคซ้ำอีก ก็จะมีอาการทางคลินิกน้อยและไม่รุนแรงเท่ากับการติดเชื้อครั้งแรก<sup>(49-51)</sup> ในทางตรงกันข้าม เมื่อมีการระบาดในเด็กที่มีภาวะพร่องทางภูมิคุ้มกัน เด็กเหล่านี้จะติดเชื้อได้มากกว่าและอาการรุนแรงกว่าเด็กปกติ<sup>(52)</sup>

น้ำนมมารดามีแอนติบอดีทั้ง IgG, IgA และ IgM ต่อไวรัสโรตา<sup>(53-55)</sup> แอนติบอดีเหล่านี้ไม่ป้องกันการติดเชื้อ โดยเฉพะอย่างยิ่งในสองขวบปีแรก<sup>(56)</sup> Glass และคณะ พบว่าเด็กที่ป่วยเป็นโรคอุจจาระร่วงจากไวรัสโรตาเป็นเด็กที่เลี้ยงด้วยนมมารดามากกว่าเด็กกลุ่มที่ป่วยจากเชื้ออื่นๆ<sup>(57)</sup> Duffy และคณะ พบว่าอุบัติการณ์ของการติดเชื้อโรตาในกลุ่มเด็กที่เลี้ยงด้วยนมมารดาและนมผสมไม่มีความแตกต่างกัน<sup>(58)</sup> อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่านมมารดาไม่ป้องกันการติดเชื้อ แต่เชื่อว่าจะช่วยไม่ให้เด็กที่ติดเชื้อเกิดอาการรุนแรง<sup>(59)</sup> ในทารกแรกเกิดเมื่อติดเชื้อไวรัสโรตามักไม่ค่อยมีอาการทางคลินิกหรือมีอาการไม่รุนแรง<sup>(35,36,63)</sup> เชื่อว่าสาเหตุส่วนหนึ่งอาจเกิดจากการได้แอนติบอดี และ trypsin inhibitor ซึ่งป้องกันการแตกตัวของไวรัสจากน้ำนมมารดา และการได้แอนติบอดีในซีรัมของมารดาผ่านทางรก นอกจากนี้ อาจเกิดจากการที่เด็กทารกมีเอ็นไซม์ย่อยสลายโปรตีนที่ยังทำงานไม่เต็มที่ และการที่ strain ของไวรัสที่เกิดในหน่วยทารกแรกเกิดแตกต่างจาก strain อื่นๆ ในชุมชน<sup>(59-62)</sup> หลังการติดเชื้อ ทารกแรกเกิดเหล่านี้ก็

จะมีภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติที่ช่วยป้องกันการเกิดโรคอุจจาระร่วง<sup>(63)</sup>

เด็กอายุมากกว่า 6 เดือน ที่ติดเชื้อไวรัสโรตาครั้งแรก (primary infection) มักจะมีอาการรุนแรง แต่อาการจะลดน้อยลงในการติดเชื้อครั้งต่อไป โดยเฉพาะหลังอายุ 2 ปี เกือบจะไม่มีอาการรุนแรงให้เห็นเลย แสดงว่าภูมิคุ้มกันที่สร้างขึ้นในระหว่างการติดเชื้อแต่ละครั้งสามารถป้องกันไม่ให้เกิดความเจ็บป่วยเกิดขึ้น

### การป้องกัน

ไวรัสโรตาเป็นสาเหตุสำคัญและเป็นเชื้อที่พบบ่อยที่สุดที่ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วง ในแต่ละปีมีเด็กที่เสียชีวิตจากโรคอุจจาระร่วงประมาณ 4.6 ล้านคนทั่วโลก และร้อยละ 20-40 ของการตายเหล่านี้มีไวรัสโรตาเป็นต้นเหตุ<sup>(64)</sup> การหาวิธีป้องกันไม่ให้เกิดโรคจึงมีความสำคัญและมีความจำเป็นอย่างเร่งด่วน การป้องกันโดยทั่วไปทำได้ 2 วิธีคือ passive และ active immunization

Passive immunization เป็นการให้แอนติบอดีจากภายนอกเข้าไปในร่างกายโดยตรง Ventura และคณะ ได้ศึกษาโดยให้เด็กที่มีอาการอุจจาระร่วงและต้องรับเข้ารักษาในโรงพยาบาล กิน globulin พบว่า globulin ไม่ทำให้ระยะเวลาที่มีอุจจาระร่วงสั้นลง แต่จะลดระยะเวลาที่มีการขับถ่ายไวรัสโรตาออกทางอุจจาระเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม<sup>(65)</sup> Turner และคณะ ใช้แอนติบอดีที่จำเพาะต่อไวรัสโรตาที่ได้จากวัวเต็มลงในนมผสม เด็กกลุ่มที่ได้รับแอนติบอดีมีการติดเชื้อไวรัสโรตาชนิดที่มีอาการ (symptomatic infection) น้อยกว่ากลุ่มควบคุม และมีอุจจาระร่วงน้อยวันกว่าด้วย<sup>(66)</sup> Ebina และคณะ ทำการศึกษาในสถานเลี้ยงเด็กโดยใช้นมวัว (colostrum) ที่มี neutralizing antibody ต่อไวรัสโรตา พบว่าเด็กกลุ่มที่ได้ passive immunization

นี้ ไม่มีใครเกิดโรคอุจจาระร่วงเลยในขณะที่กลุ่มควบคุมเป็นโรค 7 ใน 10 ราย<sup>(67)</sup>

Active immunization เป็นการให้วัคซีนเพื่อให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรค การศึกษาทั้งในคนและสัตว์พบว่า การป้องกันโรคนั้นเกิดจากแอนติบอดีที่สร้างจาก ลำไส้เล็ก<sup>(68)</sup> โดยไม่มีความสัมพันธ์กับระดับภูมิคุ้มกันในซีรัม ฉะนั้นการสร้างวัคซีนจึงมุ่งไปเป็นแบบรับประทานเพื่อให้เข้าไปกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันในลำไส้มากกว่าเป็นแบบฉีด

1. First generation vaccine วัคซีนรุ่นแรกเป็น monovalent วัคซีน ได้จากไวรัสโรตาในสัตว์ชนิดต่างๆ

1.1 วัคซีน RIT4237 ทำจากวัว การศึกษาวัคซีนชนิดนี้ได้ผลแตกต่างกัน ในประเทศที่พัฒนาแล้ว เช่น ฟินแลนด์ การให้วัคซีนได้ผลดีในการป้องกันการเกิดโรคอุจจาระร่วง<sup>(69,70)</sup> แต่ในประเทศแอมเบีย รวันดา และซาวินดีแดงเผ่าฮาวาโฮในรัฐโอริโฮนา สหรัฐอเมริกา ได้ผลน้อยหรือไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับและไม่ได้รับวัคซีน<sup>(71-73)</sup> เหตุผลหนึ่งอาจจะเกิดจากความแตกต่างของกลุ่มประชากรที่ใช้ในการศึกษาซึ่งอาจมีภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติอยู่แล้ว

1.2 วัคซีน WC<sub>3</sub> ทำจากไวรัสโรตาของวัว การศึกษาในบางแห่งไม่ได้ผล<sup>(74)</sup> แต่บางแห่งพบว่าวัคซีนจะป้องกันการเกิดโรคได้ต่อเมื่อมี neutralizing antibody สูงกว่าเดิม 4 เท่า เท่านั้น<sup>(75)</sup>

1.3 วัคซีน RRV ทำจากไวรัสโรตาของลิง เป็นไวรัสชนิด serotype 3 การทดลอง พบว่าถึงแม้จะลดการเกิดโรคหรือลดความรุนแรงของอาการ แต่ก็ยังไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีน<sup>(76,77)</sup> แต่ในประเทศเวเนซุเอลลาซึ่งการระบาดของโรคเกิดจากเชื้อไวรัส serotype 3 การให้วัคซีนจะได้ผลดีในกลุ่มเด็กเล็กอายุระหว่าง 1-5 เดือน และดีกว่ากลุ่มเด็กโตอายุ 6-10 เดือน<sup>(78)</sup> วัคซีนชนิดนี้จึงป้องกัน

เฉพาะโรคที่เกิดจาก serotype 3 โดยไม่มีผลต่อ serotype อื่นๆ

สรุปผลของการทดลองวัคซีนชนิด monovalent จากสัตว์ทั้งสามชนิดพบว่าไม่ช่วยในการป้องกันการติดเชื้อไวรัสโรตา ส่วนการป้องกันการเกิดโรคอุจจาระร่วงนั้นให้ผลไม่แน่นอน

2. Second generation vaccine วัคซีนรุ่นที่ 2 เป็นวัคซีนที่มีการดัดแปลงให้เป็น multivalent เพื่อให้ครอบคลุม serotypes ทั้งสี่ชนิดที่พบบ่อยๆ ในคนคือ G<sub>1</sub>-G<sub>4</sub> การดัดแปลงนี้ทำโดยวิธี reassortant โดยเฉพาะเชื้อไวรัสโรตาทั้งจากคนและสัตว์ในเซลล์เพาะเชื้อเดียวกัน เพื่อให้มีการแลกเปลี่ยนท่อนของ RNA เกิดเป็นไวรัสวัคซีนที่มีท่อนพันธุกรรมจากไวรัสสัตว์ 10 genes และจากไวรัสคน 1 gene ซึ่งควบคุมไวรัสโปรตีน VP<sub>1</sub> ที่มีความจำเพาะต่อ serotype 1-4

การศึกษาวัคซีนชนิดนี้ให้ผลต่างๆ กัน การตรวจ seroconversion ในกลุ่มที่ได้รับวัคซีนมีมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับ<sup>(79)</sup> แต่เมื่อเปรียบเทียบแอนติบอดีระหว่าง serotypes ต่างๆ พบว่าการสร้างภูมิคุ้มกันต่อ serotypes ของไวรัสโรตาจากสัตว์มีมากกว่าต่อ serotypes ของไวรัสโรตาจากคน<sup>(80,81,83)</sup> ในทารกที่ไม่มีหรือมีภูมิคุ้มกันต่อไวรัสโรตาจากมารดาจำนวนน้อย หลังจากได้รับวัคซีนทารกเหล่านี้จะมี seroconversion ดีกว่ากลุ่มของทารกที่ cord blood มีแอนติบอดีต่อไวรัสสูง<sup>(82,83)</sup> การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อวัคซีนนี้ ยังมีเรื่องของการเลี้ยงทารกด้วยนมมารดาหรือนมผสมเข้ามาเกี่ยวข้อง ซึ่งผลการศึกษาได้ไม่ตรงกัน<sup>(84-86)</sup> การให้กิน lactobacillus casei strain พร้อมกับวัคซีนก็อาจช่วยกระตุ้นให้มี seroconversion เพิ่มขึ้น<sup>(87)</sup>

อย่างไรก็ตาม seroconversion หรือระดับของแอนติบอดีไม่มีความสัมพันธ์กับการป้องกันโรค<sup>(88)</sup> ถึงแม้จะไม่ป้องกันการติดเชื้อการศึกษาส่วนใหญ่ก็ยังพบว่า tetravalent vaccine สามารถป้องกันไม่ให้เกิดโรค



อุจจาระร่วงได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งป้องกันอาการรุนแรงหรือการขาดน้ำ<sup>(85)</sup> การป้องกันโรคอุจจาระร่วงนี้ยังมีความแตกต่างกันระหว่างการระบาดที่เกิดจากไวรัสโรตา serotype เดียวกันหรือต่าง serotype (homotypic VS heterotypic)<sup>(89-91)</sup> นอกจากนี้การศึกษาในประเทศไทยและสหรัฐอเมริกาพบว่าอาจจะให้วัคซีนโรตาพร้อมกับวัคซีนโปลิโอชนิดรับประทานได้<sup>(92-93)</sup>

3. Third generation vaccine เนื่องจากวัคซีนสองรุ่นแรกให้ผลได้ไม่แน่นอน จึงมีการคิดค้นวัคซีนรุ่นที่สามขึ้น โดยเป็นวัคซีนที่ผลิตขึ้นจากไวรัสจากคน เชื้อที่นำมาใช้นั้นเป็นไวรัสที่ขจัดถ่ายจากทารกแรกเกิดที่ติดเชื้อแต่ไม่มีอาการและนำไปเพาะในเซลล์ไตของลิง<sup>(94)</sup> ไวรัสวัคซีนนี้ประกอบด้วย serotypes ทั้ง 4 ชนิด คือ serotype 1-4 ซึ่งคาดหวังว่าจะเหนี่ยวนำให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันได้ดีกว่าไวรัสจากสัตว์ การศึกษาในระยะแรกยังไม่ได้ผลชัดเจน

### สรุป

วัคซีนโรตามีความสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่งในการลดโรคอุจจาระร่วงและลดอัตราการตายจากการขาดน้ำอย่างรุนแรงในเด็กเล็ก เนื่องจากไวรัสโรตาทำให้เกิดโรคได้มากในเด็กอายุ 6-24 เดือน จึงต้องให้วัคซีนก่อนที่เด็กจะติดเชื้อภายใน 6 เดือนแรก ภูมิคุ้มกันจากการให้วัคซีนชนิดต่างๆ ในอดีตยังไม่ให้ผลที่น่าพอใจ เนื่องจากวิทยาการปัจจุบันมีความก้าวหน้ามาก การสร้างวัคซีนโรตาล่าสุดจึงใช้ไวรัสจากคนซึ่งหวังจะให้ผลตอบสนองได้ดีกว่าวัคซีนชนิดอื่นๆ ที่ผลิตจากไวรัสโรตาของสัตว์

### อ้างอิง

1. Wilfert CM. Viruses in gastrointestinal tract infections. In: Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM, eds: Zinsser

Microbiology. 20<sup>th</sup> ed. New Jersey: Appleton and Lange, 1992.

2. Haffejee IE. The epidemiology of rotavirus infections: a global perspective. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1995 Apr;20(3): 275-86
3. Estes MK, Cohen J. Rotavirus gene structure and function. Microbiol Rev 1989 Dec; 53(4):410-41
4. Albert MJ, Unicomb LE, Bishop RF. Cultivation and characterization of human rotavirus with "supershort" RNA pattern. J Clin Microbiol 1987 Jan;25(1):183-5
5. Rodger SM, Bishop RF, Birch C, McLean B, Holmes IH. Molecular epidemiology of human rotaviruses in Melbourne, Australia from 1973 to 1979 as determined by electrophoresis of genome ribonucleic acid. J Clin Microbiol 1981 Feb;13(2): 272-8
6. Tam JS, Zheng BJ, Yan YK, Lo SK, Yeung CY, Lo M, Ng MH. Occurrence of rotaviruses in Guangzhou and Hong Kong. J Infect Dis 1988 Feb;157(2):357-63
7. Ward RL, Clemens JD, Sack BA, Knowlton DR, McNeal MM, Huda N, Ahmed F, Ras M, Schiff GM. Culture adaptation and characterization of group A rotaviruses causing diarrheal illness in Bangladesh from 1985 to 1986. J Clin Microbiol 1991 Sep;29(9):1915-23
8. Liu M, Offit PA, Estes MK. Identification of the simian rotavirus SA<sub>11</sub> and genome

- segment 3 product. *Virology* 1988 Mar;163(1):26-32
9. Jiang BM, Qian Y, Tsunemitsu H, Green KY, Saif LJ. Analysis of the gene encoding the outer capsid glycoprotein (VP<sub>7</sub>) of group C rotaviruses by northern and dot blot hybridization. *Virology* 1991 Sep; 184(1):433-6
  10. Estes MK, Cohen J. Rotavirus gene structure and function. *Microbiol Rev* 1989 Dec; 53(4):410-49
  11. Prasad BV, Burns JW, Marietta E, Esters MK, Chiu W. Localization of VP<sub>4</sub> neutralization sites in rotavirus by three-dimensional cryo-electron microscope. *Nature* 1990 Feb 1;343(6257):476-9
  12. Kalica AR, Flores J, Greenberg HB. Identification of the rotaviral gene that codes for hemagglutination and protease-enhanced plaque formation. *Virology* 1983 Feb; 125(1):194-205
  13. Flores J, Midthun K, Hoshino Y, Green K, Gorziglia M, Kapikian AZ, Chanock RM. Conservation of the fourth gene segment among rotaviruses recovered from asymptomatic newborn infants and its possible role in attenuation. *J Virol* 1986 Dec;60(3):972-7
  14. Estes MK, Graham DY, Mason BB. Proteolytic enhancement of rotavirus infectivity: molecular mechanisms. *J Virol* 1981 Sep; 39(3):879-88
  15. Kaljot KT, Shaw RD, Rubin DH, Greenberg HB. Infectious rotaviruses enter cells by direct cell membrane penetration, not by endocytosis. *J Virol* 1988 Apr;62(4): 1136-44
  16. Offit PA, Blavat G. Identification of the two rotavirus genes determining neutralization specificities. *J Virol* 1986 Jan;57(1): 376-8
  17. Nagesha HS, Holms IH. VP<sub>4</sub> relationships between porcine and other rotavirus serotypes. *Arch Virol* 1991;116(1-4): 107-8
  18. Kapikian AZ, Kim HW, Wyatt RG, Cline WL, Arrobio JO, Brandt CD, Rodriguez WJ, Sack DA, Chanock RM, Parrott RH. Human reovirus like agent as the major pathogen associated with "winter" gastroenteritis in hospitalized infants and young children. *N Engl J Med* 1976 Apr 29;294(18):965-76
  19. Konno T, Suzuki H, Imai A, Kutsuzawa T, Ishida N, Katsushima N, Sakamoto M, Kitaoka S, Tsuboi R, Adachi M. A long term survey of rotavirus infections in Japanese children with acute gastroenteritis. *J Infect Dis* 1978 Nov;138(5): 569-76
  20. Haffeejee IE, Moosa A. Rotavirus studies in Indian (Asian) South African infants with acute gastroenteritis. I. Microbiological and epidemiological aspects. *Ann Trop Paediatr* 1990;10(2):165-72

21. Huilan S, Zhen LG, Mathan MM, Mathew MM, Olarte J, Espejo R, Khin Maung U, Ghafoor MA, Khan MA, Sami Z. Etiology of acute diarrhea among children in developing countries: a multicenter study in five countries. *Bull WHO* 1991;69(5): 549-55
22. Black RE, Merson MH, Rahman AS, Yunus M, Alim AR, Huq I, Yolken RH, Curlin GT. A two-year study of bacterial, viral and parasitic agents associated with diarrhea in rural Bangladesh. *J Infect Dis* 1980 Nov;142(5):660-4
23. Paje-Villar E, Co BG, Caradang EH, Raurmundo A, Lagamayo E, Lavadia E, Rigor E, Hart CA. Non-bacterial diarrhea in children in the Phillipines. *Ann Trop Med Parasit* 1994 Feb;88(1):53-8
24. Abiodun PO, Omoigberale A. Prevalence of nosocomial rotavirus infection in hospitalized children in Benin City, Nigeria. *Ann Trop Pediatr* 1994;14(1):85-8
25. Desai HS, Banker DD. Rotavirus infection among children in Bombay. *Indian J Med Sci* 1993 Feb;47(2):27-33
26. Sam NE, Haukenes G, Szilvay AM, Mhalu F. Rotavirus infection in Tanzania: a virological, epidemiological and clinical study among young children. *APMIS* 1992 Sep; 100(9):790-6
27. Chakravarti A, Kumar S, Mittal Sk, Broor S. Clinical and epidemiological features of acute gastroenteritis caused by human rotavirus subgroups. *J Diarrhoeal Dis Res* 1992 Mar;10(1):21-4
28. Yap KL, Yasmin AM, Wong YH, Ooi YE, Tan SC, Jegathesan M, Khor CM, Low MC. A one year community-based study on the incidence of diarrhoea and rotavirus infection in urban and suburban Malaysian children. *Med J Malaysia* 1992 Dec;47(4):303-8
29. Crawley JM, Bishop RF, Barnes GL. Rotavirus gastroenteritis in infants aged 0-6 months in Melbourne, Australia: implications for vaccination. *J Pediatr Child Health* 1993 Jun;29(3):219-21
30. el Assouli SM, Banjar ZM, Mohammed KA, Zamakhchari FT. Rotavirus infection in children in Saudi Arabia. *Am J Trop Med Hygiene* 1992 Mar;46(3):272-7
31. Rasool NB, Green KY, Kapikian AZ. Serotype analysis of rotaviruses from different locations in Malaysia. *J Clin Microbiol* 1993 Jul;31(7):1815-9
32. Noel JS, Beards GM, Cubitt WD. Epidemiological survey of human rotavirus serotypes and electrophenotypes in young children admitted to two children's hospitals in northeast London from 1984 to 1990. *J Clin Microbiol* 1991 Oct;29(10): 2213-9
33. Bishop RF, Unicomb LE, Barnes GL. Epidemiology of rotavirus serotypes in Melbourne, Australia, from 1973 to 1989. *J Clin Microbiol* 1991 May;29(5):862-8

34. Rodger SM, Bishop RF, Birch C, McLean B, Holmes IH. Molecular epidemiology of human rotaviruses in Melbourne, Australia from 1973 to 1979, as determined by electrophoresis of genome ribonucleic acid. *J Clin Microbiol* 1981 Feb;13(2):272-8
35. Perez-Schael I, Daoud G, White L, Urbina G, Daoud N, Perez M, Flores J. Rotavirus shedding by newborn children. *J Med Virol* 1984;14(2):127-36
36. Grillner L, Broberger U, Chrystie I, Ransjo U. Rotavirus infections in newborns: an epidemiological and clinical study. *Scand J Infect Dis* 1985;17(4):349-55
37. Hung T, Chen GM, Wang CG, Yao HL, Fang ZY, Chao TX, Chou ZY, Ye W, Chang XJ, Den SS. Waterborne outbreak of rotavirus diarrhea in adults in China caused by a novel rotavirus. *Lancet* 1984 May 26;1(8387):1139-42
38. Dai GZ, Sun MS, Liu SQ, Ding XF, Chen YD, Wang LC, Du DP, Zhao G, Su Y, Li J. First report of an epidemic diarrhoea in human neonates involving the new rotavirus and biological characteristics of the epidemic virus strain (KMB/R85). *J Med Virol* 1987 Aug;22(4):365-73
39. Penaranda ME, Cubitt WD, Sinarachatanant P, Taylor DN, Likanonsakul S, Saif L, Glass RI. Group C rotavirus infections in patients with diarrhea in Thailand, Nepal and England. *J Infect Dis* 1989 Sep;160(3):392-7
40. Brown DWG, Campbell L, Tomkins DS, Hambling MH. School outbreak of gastroenteritis due to atypical rotavirus. *Lancet* 1989 Sep 23;2(8665):737-8
41. Matsumoto K, Hatano N, Kobayashi K, Hasegawa A, Yamazaki S, Nakata S, Chiba S, Kimura Y. An outbreak of gastroenteritis associated with acute rotaviral infection in school children. *J Infect Dis* 1989 Oct;160(4):611-5
42. Davidson GP, Hogg RJ, Kirubakaran CP. Serum and intestinal immune response to rotavirus enteritis in children. *Infect Immunol* 1983 May;40(2):447-52
43. Svensson L, Sheshberadaran H, Vene S, Norrby E, Grandien M, Wadell G. Serum antibody responses to individual viral polypeptides in human rotavirus infections. *J Gen Virol* 1987 Mar;68(3):643-51
44. Padilla-Noriega L, Arias CF, Lopez S, Puerto F, Snodgrass DR, Taniguchi K, Greenberg HB. Diversity of rotavirus serotypes in Mexican infants with gastroenteritis. *J Clin Microbiol* 1990 Jun;28(6):1114-9
45. Chiba S, Yokoyama T, Nakata S, Morita Y, Urasawa T, Taniguchi K, Urasawa S, Nakao T. Protective effects of naturally acquired homotypic and heterotypic

- rotavirus antibodies. *Lancet* 1986 Aug 23;2(8504):417-21
46. Clark HF, Dolan KT, Horton-Slight P, Palmer J, Plotkin SA. Diverse serologic response to rotavirus infection of infants in a single epidemic. *Pediatr Infect Dis* 1985 Nov-Dec;4(6):626-31
47. Friedman MG, Galit A, Sarov B, Margalith M, Katzir G, Midthum K, Taniguchi K, Urasawa S, Kapikian AZ, Edelman R. Two sequential outbreaks of rotavirus gastroenteritis; evidence for symptomatic and asymptomatic reinfections. *J Infect Dis* 1988 Oct;158(4):814-22
48. Rodriguez WJ, Kim HW, Brandt CD, Yolken RH, Arrobio JO, Kapikian AZ, Chanock RM, Parrott RH. Sequential enteric illness associated with different rotavirus serotypes. *Lancet* 1978 Jul 1;1(8079):37
49. Bishop RF, Barnes GL, Cipriani E, Lund JS. Clinical immunity after neonatal rotavirus infection. A prospective longitudinal study in young children. *N Engl J Med* 1983 Jul 14;309(2):72-6
50. Ryder RW, Singh N, Reeves WC, Kapikian AZ, Greenberg HB, Sack RB. Evidence of immunity induced by naturally acquired rotavirus and Norwalk virus infection on two remote Panamanian islands. *J Infect Dis* 1985 Jan;151(1):99-105
51. Bernstein DI, Sander DS, Smith VE, Schiff GM, Ward RL. Protection from rotavirus reinfection: 2-years prospective study. *J Infect Dis* 1991 Aug;164(2):277-83
52. Saulsbury FT, Winkelstein JA, Yolken RH. Chronic rotavirus infection in immunodeficiency. *J Pediatr* 1980 Jul;97(1):61-5
53. Bell LM, Clark HF, Offit PA, Slight PH, Arbeter AM, Plotkin SA. Rotavirus serotype-specific neutralizing activity in human milk. *Am J Dis Child* 1988 Mar;142(3):275-8
54. Yolken RH, Wyatt RG, Mata L, Urrutia JJ, Garcia B, Chanock RM, Kapikian AZ. Secretory antibody directed against rotavirus in human milk-measurement by means of enzyme-linked immunosorbent assay. *J Pediatr* 1978 Dec;93(6):916-21
55. Ringenbergs M, Albert MJ, Davidson GP, Goldworthy W, Haslam R. Serotype-specific antibodies to rotavirus in human colostrum and breast milk and in maternal and cord blood. *J Infect Dis* 1988 Aug;158(2):477-80
56. Clemens J, Rao M, Ahmed F, Ahmed F, Ward R, Huda S, Chakraborty J, Yunus M, Khan MR, Ali M, Kay B. Breast feeding and the risk of life-threatening rotavirus diarrhea: prevention or postponement? *Pediatrics* 1993 Nov;92(5):680-5
57. Glass RI, Stoll BJ, Wyatt RG, Hoshino Y, Banu H, Kapikian AZ. Observations

- questioning a prospective role for breast-feeding in severe rotavirus diarrhea. *Acta Paediatr Scand* 1986 Sep; 75(5): 713-8
58. Duffy LC, Riepenhoff-Talty M, Byers TE, La Scolea LJ, Zielezny MA, Dryja DM, Ogra PL. Modulation of rotavirus enteritis during breast-feeding. Implications on alterations in the intestinal bacterial flora. *Am J Dis Child* 1986 Nov;140(11): 1164-8
59. McLean BS, Holmes IH. Effects of antibodies, trypsin, and trypsin inhibitors on susceptibility of neonates to rotavirus infection. *J Clin Microbiol* 1981 Jan;13(1):22-9
60. McLean BS, Holmes IH. Transfer of anti-rotaviral antibodies from mothers to their infants. *J Clin Microbiol* 1980 Sep;12(3): 320-5
61. Brussow H, Benitez O, Uribe F, Sidoti J, Rosa K, Cravioto A. Rotavirus-inhibitory activity in serial milk samples from Mexican women and rotavirus infections in their children during the first year of life. *J Clin Microbiol* 1993 Mar; 31(3): 593-7
62. Hoshino Y, Wyatt RG, Flores J, Midthum K, Kapikian AZ. Serotypic characterization of rotaviruses derived from asymptomatic human neonatal infections. *J Clin Microbiol* 1985 Mar;21(3):425-30
63. Bhan MK, Lew JF, Sazawal S, Das BK, Gentsch JR, Glass RI. Protection conferred by neonatal rotavirus infection against subsequent rotavirus diarrhea. *J Infect Dis* 1993 Aug;168(2): 282-7
64. Snyder JD, Merson MH. The magnitude of the global problem of acute diarrhoeal disease: a review of active surveillance data. *Bull WHO* 1982;60(4):605-13
65. Ventura A, Nassimbeni G, Martelossi S, Bohm P, D'Agaro PL. Experience with gamma globulinper os in the therapy and prevention of infectious diarrhea. *Pediatr Med Chir* 1993 Jul-Aug; 15(4):343-6
66. Turner RB, Kelsey DK. Passive immunization for prevention of rotavirus illness in healthy infants. *Pediatr Infect Dis J* 1993 Sep;12(9):718-22
67. Ebina T, Ohta M, Kanamaru Y, Yamamoto-Osumi Y, Baba K. Passive immunizations of suckling mice and infants with bovine colostrum containing antibodies to human rotavirus. *J Med Virol* 1992 Oct;38(2):117-23
68. Matson DO, O'Ryan ML, Herrera I, Pickering LK, Estes MK. Fecal antibody responses to symptomatic and asymptomatic rotavirus infections. *J Infect Dis* 1993 Mar; 167(3):577-83
69. Vesikari T, Isolauri E, D'Hondt E, Delem A, Andre FE, Zissis G. Protection of infants against rotavirus diarrhea by RIT 4237 attenuated bovine rotavirus strain vaccine. *Lancet* 1984 May 5;1(8384):977-81

70. Vesikari T, Isolauri E, Delem A, d'Hondt E, Andre FE, Beards GM, Flewett TH. Clinical efficacy of the RIT 4237 live attenuated bovine rotavirus vaccine in infants vaccinated before a rotavirus epidemic. *J Pediatr* 1985 Aug;107(2):189-94
71. De Mol P, Zissis G, Butzler JP, Mutwewingabo A, Andre FE. Failure of live, attenuated oral rotavirus vaccine. *Lancet* 1986 Jul 12;2(8498):108
72. Hanlon P, Hanlon L, Marsh V, Byass P, Shenton F, Hassan-King M, Jobe O, Sillah H, Hayes R, M'Boge BH. Trial of an attenuated bovine rotavirus vaccine (RIT 4237) in Gambian infants. *Lancet* 1987 Jun 13;1(8546):1342-5
73. Santosham M, Letson GW, Wolff M, Reid R, Gahagan S, Adams R, Callahan C, Sack RB, Kapikian AZ. A field study of the safety and efficacy of two candidate rotavirus vaccines in a native American population. *J Infect Dis* 1991 Mar;163(3):483-7
74. Bernstein DI, Smith VE, Sander DS, Pax KA, Schiff GM, Ward RL. Evaluation of WC<sub>3</sub> rotavirus vaccine and correlates to protection in healthy infants. *J Infect Dis* 1990 Nov;162(5):1055-62
75. Clark HF, Borian FE, Bell LM, Modesto K, Gouvea V, Plotkin SA. Protective efficacy of WC<sub>3</sub> vaccine against rotavirus diarrhea in infants during a predominantly serotype 1 rotavirus season. *J Infect Dis* 1988 Sep;158(3):570-87
76. Vesikari T, Rautanen T, Varis T, Beards GM, Kapikian AZ. Rhesus rotavirus candidate vaccine clinical trial in children vaccinated between 2 and 5 months of age. *Am J Dis Child* 1990 Mar;144(3):285-9
77. Flores J, Perez-Schael I, Gonzalez M, Garcia D, Perez M, Daoud N, Cunto W, Chanock RM, Kapikian AZ. Protection against severe rotavirus diarrhea by rhesus rotavirus vaccine in Venezuelan infants. *Lancet* 1987 Apr 18;1(8538):882-4
78. Perez-Schael I, Garcia D, Gonzalez M, Gonzales R, Daoud N, Perrez M, Cunto W, Kapikian AZ, Flores J. Prospective study of diarrheal disease in Venezuelan children to evaluate the efficacy of rhesus rotavirus vaccine. *J Med Virol* 1990 Mar;30(3):219-29
79. Simasathien S, Migasena S, Samakoses R, Pitisuttitham P, Sangaroom P, Aree C, Bishop R, Bugg H, Davidson BL, Vesikari T. Vaccination of Thai infants with rhesus-human reassortant tetravalent oral rotavirus vaccine. *Pediatr Infect Dis J* 1994 Jul;13(7):590-6
80. Perez-Schael I, Blanco M, Vilar M, Garcia D, White L, Gonzales R, Kapikian AZ, Flores J. Clinical studies of a quadrivalent rotavirus vaccine in Venezuelan infants. *J Clin Microbiol* 1990 Mar;28(3):553-8

81. Kobayashi M, Thompson J, Tollefson SJ, Reed GW, Wright PF. Tetravalent rhesus rotavirus vaccine in young infants. *J Infect Dis* 1994 Nov;170(5):1260-3
82. Friedman MG, Segal B, Zedaka R, Sarov B, Margalith M, Bishop R, Dagam R. Serum and salivary responses to oral tetravalent reassortant rotavirus vaccine in newborns. *Clin Exper Immunol* 1993 May;92(2):194-9
83. Dagan R, Kassis I, Sarov B, Midthun K, Davidson BL, Vesikari T, Sarov I. Safety and immunogenicity of oral tetravalent human-rhesus reassortant rotavirus vaccine in neonates. *Pediatr Infect Dis J* 1992 Dec;11(12):991-6
84. Albrecht H, Stellbrink HJ, Fenske S, Ermer M, Raedler A, Greten H. Rotavirus antigen detection in patients with HIV infection and diarrhea. *Scand J Gastroenterol* 1993 Apr;28(4):307-10
85. Rennels MB, Wasserman SS, Glass RI, Keane VA. Comparison of immunogenicity and efficacy of rhesus rotavirus reassortant vaccines in breastfed and nonbreastfed children. US Rotavirus Vaccine Efficacy Group. *Pediatrics* 1995 Dec;96(6):1132-6
86. Ceyhan M, Kanra G, Secmeer G, Midthun K, Davidson BL, Zito ET, Vesikari T. Take of rhesus-human reassortant tetravalent rotavirus vaccine in breast-fed infants. *Acta Paediatr* 1993 Mar;82(3):223-7
87. Isolauri E, Joensuu J, Suomalainen H, Luomala M, Vesikari T. Improved immunogenicity of oral Dx RRV reassortant rotavirus vaccine by *Lactobacillus casei* GG. *Vaccine* 1995 Feb;13(3):310-2
88. Ward RL, Bernstein DI. Lack of correlation between serum rotavirus antibody titers and protection following vaccination with reassortant RRV vaccine. US Rotavirus Vaccine Efficacy Group. *Vaccine* 1995 Sep;13(13):1226-32
89. Treanor JJ, Clark HF, Pichichero M, Christy C, Gouvea V, Shrager D, Palazzo S, Offit P. Evaluation of the protective efficacy of a serotype 1 bovine-human rotavirus reassortant vaccine in infants. *Pediatr Infect Dis J* 1995 Apr;14(4):301-7
90. Bernstein DI, Glass RI, Rodgers G, Davidson BL, Sack DA. Evaluation of rhesus rotavirus monovalent and tetravalent reassortant vaccines in US children. US Rotavirus Vaccine Efficacy Group. *JAMA* 1995 Apr 19;273(15):1191-6
91. Madore HP, Christy C, Pichichero M, Long C, Pincus P, Vosefsky D, Kapikian AZ, Dolin R. Field trial of rhesus rotavirus or human-rhesus rotavirus reassortant vaccine of VP<sub>7</sub> serotype 3 or 1 specificity in infants. The Elmwood, Panorama and Westfall Pediatric Groups. *J Infect Dis* 1992 Aug;166(2):235-43



92. Migasena S, Simasathien S, Samakoses R, Pitisuttitham P, Sangaroon P, van Steenis G, Beuvery EC, Bugg H, Bishop R, Davidson BL. Simultaneous administration of oral rhesus-human reassortant tetravalent (RRV-TV) rotavirus vaccine and oral poliovirus vaccine (OPV) in Thai infants. *Vaccine* 1995 Feb;13(2):168-74
93. Rennels MB, Ward RL, Mack ME, Zito ET. Concurrent oral poliovirus and rhesus-human reassortant rotavirus vaccination: effects on immune responses to both vaccines and on efficacy of rotavirus vaccines. The US Rotavirus Vaccine Efficacy Group. *J Infect Dis* 1996 Feb;173(2):306-13
94. Flores J, Midthun K, Hoshino Y, Green K, Gorziglia M, Kapikian AZ, Chanock RM. Conservation of the fourth gene among rotaviruses from asymptomatic newborn infants and its possible role in attenuation. *J Virol* 1986 Dec;60(3):972-9
95. Prasad BV, Wang GJ, Clerx JP, Chiu W. Three-dimensional structure of rotavirus. *J Mol Biol* 1988 Jan 20;199(2):269-75
96. Gorziglia M, Larralde G, Kapikian AZ, Chanock RM. Antigenic relationships among human rotavirus as determined by outer capsid protein VP4. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1990 Sep;87(18):7155-9