

بررسی تنوع ژنتیکی و آنالیز فیلوژنتیک ژنوتیپ‌های VP4(P) روتاویروس در اسهال حاد کودکان

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۳/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۴/۱۳

چکیده

علی اکبر رهبری منش^۱

حسنعلی صابری^{۲*}، شهرزاد مدرس

گیلانی^۳، پیمان سلامتی^۴، هوشنگ

اخترخاوری^۵، زهرا حق شناس^۶

۱- گروه عفونی بیماری‌های کودکان، بیمارستان بهرامی تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۲- گروه بیماری‌های کودکان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۳- گروه ویروس‌شناسی پزشکی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران.

۴- گروه پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۵- گروه گزارش بیماری‌های کودکان

۶- گروه غدد داخلی بیماری‌های کودکان

بیمارستان بهرامی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: تهران، خیابان دماوند، خیابان شهید کیایی، بیمارستان بهرامی
تلفن: ۰۲۱-۴۴۲۴۶۷۸۸
E-mail: Hassansaberi45884@yahoo.com

زمینه و هدف: در جوامع در حال توسعه، اسهال حاد با اتیولوژی روتاویروس یکی از علل مرگ و میر شیرخواران است. هدف این مطالعه تعیین سیمای اپیدمیولوژیک، علایم بالینی و آنالیز مولکولی ژنوتیپ‌های VP4[P] روتاویروس در چرخش بیماران بیمارستان کودکان بهرامی تهران طی زمستان ۱۳۸۷ تا پاییز ۱۳۸۸ بوده است. لذا بهره‌گیری از نتایج حاصله در راستای کاربرد واکسن مناسب روتاویروس جهت پیشگیری اسهال حاد ویروسی کودکان حایز اهمیت می‌باشد. **روش بررسی:** در این مطالعه (Case-series) ۱۵۰ نمونه مدفوع کودکان زیر ۱۴ سال که با بیماری اسهال حاد در بخش عفونی بیمارستان طی سال‌های ۱۳۸۷ و ۱۳۸۸ بستری بوده‌اند همراه با تنظیم پرسشنامه بر اساس پارامترهای اپیدمیولوژیک تهیه گردید. نمونه‌ها به انستیتو پاستور ارسال شد. در آزمایشگاه ویروسی با روش RNA-PAGE اقدام به شناسایی ژنوم (dsRNA) روتاویروس گردید. سپس در نمونه روتاویروس مثبت، ژنوتیپ‌های VP4[P] ویروسی با تکنیک مولکولی RT-PCR مشخص شد. نهایتاً بر اساس سکانس نوکلئوتید ژنوتیپ‌های ویروسی شناسایی شده نسبت به ترسیم Phylogenetic-tree اقدام گردید. **یافته‌ها:** در این مطالعه ۲۹ نفر (۱۹/۳٪) دارای اسهال حاد روتاویروس بوده که بیش از ۹۰٪ دارای الگوی Long-RNA Pattern و کم‌تر از ۱۰٪ عفونت ویروسی با Short RNA Pattern بوده‌اند. در این مطالعه ژنوتیپ VP4[P8] سویه غالب بود. ۲۵ مورد P[8] مثبت بوده (۸۶٪) و سایر ژنوتیپ‌های ویروسی شامل VP4[P6] و VP4[P4] با میزان شیوع برابر ۶/۹٪ بوده‌اند. **نتیجه‌گیری:** نتایج مطالعه بیان‌گر شیوع بالای اسهال حاد روتاویروس در کودکان سنین پایین در تهران بود. آنالیز مولکولی سویه‌های روتاویروس در چرخش حاکی از تشابه ژنتیکی بالای در کشورهای آسیایی بود.

کلمات کلیدی: اسهال حاد روتاویروس، RT-PCR، RNA-PAGE، آنالیز فیلوژنتیک

مقدمه

توأم با دهیدراتاسیون در کودکان در جوامع صنعتی و در حال توسعه می‌باشد. در کشورهای در حال توسعه سالانه بالغ بر ۱۲۵ میلیون مورد اسهال روتاویروس در کودکان زیر پنج سال دیده می‌شود که بیش از ۱۸ میلیون مورد آن با طیف علایم بالینی متوسط و شدید گزارش شده است.^{۱،۲} این ویروس از خانواده رتوویریده و از جنس روتاویروس طبقه‌بندی شده است. آن‌ها دارای ساختار پروتئینی ۲۰ وجهی بوده که ترکیبی از لایه خارجی، میانی و درونی می‌باشد. ژنوم ویروسی شامل ۱۱ سگمانت از RNA دو رشته‌ای (dsRNA) می‌باشد روتاویروس‌ها بر اساس ساختمان آنتی‌ژنیک کپسید خارجی به

در جوامع در حال توسعه سالانه حدود ۳-۵ میلیون مورد بیماری اسهال حاد (Acute diarrhea) در کودکان زیر پنج سال گزارش می‌شود که علت اصلی مرگ و میر اطفال در جهان می‌باشد. چنان که براساس گزارش سازمان جهانی بهداشت سالانه حدود ۳۵-۱۵٪ از موارد مرگ و میر اطفال در دوره شیرخوارگی و سنین پایین کودکی در دنیا در ارتباط با این بیماری است.^۱ بر اساس مطالعات اپیدمیولوژیک، روتاویروس مهم‌ترین عامل اتیولوژیک اسهال حاد

nested multiplex و پرایمرهای اختصاصی ژنوتیپ‌های روتاویروسی شناسایی شد. سپس با تعیین سکانس نوکلئوتید، تعدادی از ژنوتیپ‌های ویروسی آنالیز فیلوژنتیک با کسب اطلاعات از Gen bank صورت پذیرفته است. نتایج این پژوهش با به‌کارگیری نرم‌افزارهای SPSS ویراست ۱۷ و آزمون آماری Kolmogorov-Smirnov test و Mann Whitney U مورد بررسی و آنالیز قرار گرفت. مقادیر $P < 0/05$ معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها

در این پژوهش ۱۵۰ نمونه Stool دختر و پسر کودکان زیر ۱۴ سال که طی زمستان ۱۳۸۷ تا پاییز ۱۳۸۸ با تشخیص بیماری اسهال حاد در بیمارستان کودکان بهرامی در شهر تهران بستری بودند مورد بررسی قرار گرفت. عفونت روتاویروس گروه A به میزان ۱۹/۳٪ در کودکان بیمار شناسایی شد. بیش‌ترین موارد اسهال روتاویروس در شیرخواران زیر دو سال (۸۳٪) و حداکثر شیوع عفونت ویروسی در سنین ۲۴-۶ ماهگی و کم‌ترین شیوع موارد بیماری در اطفال ۱۴-۵ سال مشاهده شد. $P = 0/0928$ (جدول ۱). از کل مبتلایان به اسهال روتاویروس ۴۸٪ (۱۴ نفر) دختر و ۵۲٪ (۱۵ نفر) پسر بوده‌اند (۲۱٪/۰) بالاترین شیوع بیماری در فصول سرد سال، زمستان ۴۲٪ و پاییز ۲۸٪ و کم‌ترین میزان بیماری در ماه‌های گرم سال، تابستان ۹٪ مشاهده شده است. ۸۳٪ کودکان درجه حرارت $T \geq 38^{\circ}C$ داشتند و ۹۰٪ از این بیماران با عفونت روتاویروس دچار تهوع و استفراغ بوده‌اند. در ۷۸٪ بیماران دهیدراتاسیون متوسط، ۱۸٪ خفیف و ۴٪ نوع

ژنوتیپ‌های VP7[G] و VP4[P] تفکیک می‌شوند که شامل ۱۹ ژنوتیپ G و ۲۸ ژنوتیپ مختلف P می‌باشند. الگوی فصلی اسهال روتاویروس در جوامع صنعتی با حداکثر اپیدمی در ماه‌های سرد سال و در مناطق گرمسیری در تمام فصول سال مشاهده می‌شود.^۴ اسهال روتاویروس غالباً در کودکان شیرخوار در سنین ۲۴-۶ ماهگی اتفاق می‌افتد.^۵ روتاویروس‌ها بر اساس ساختمان آنتی‌ژنتیک (Group Antigen VP6) به هفت گروه تفکیک می‌شوند که روتاویروس گروه A در اکثر موارد سبب گاستروآنتریت حاد در انسان است. در تهران شواهد بالینی، وفور بالای اسهال حاد را در کودکان سنین پایین نشان می‌دهد. از آن‌جا که روتاویروس عامل اصلی اسهال حاد کودکان می‌باشد لذا با انجام این مطالعه ضمن بررسی اپیدمیولوژی، نسبت به شناسایی و آنالیز مولکولی ژنوتیپ‌های VP4[P] روتاویروس در چرخش در کودکان طی یک‌سال در بیمارستان بهرامی تهران اقدام شده است.

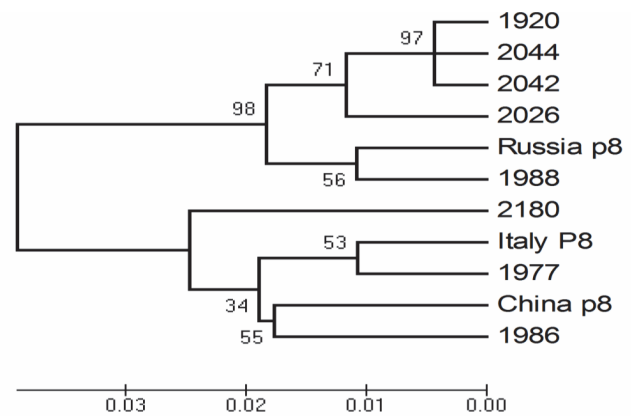
روش بررسی

در این مطالعه براساس Case-series از ۱۵۰ کودک دختر و پسر سنین زیر ۱۴ سال که با تابلوی بالینی اسهال حاد از زمستان ۱۳۸۷ تا پاییز ۱۳۸۸ در بخش عفونی بیمارستان کودکان بهرامی تهران بستری بوده‌اند با تشخیص پزشکان متخصص اطفال، نمونه بالینی Stool همراه با تنظیم پرسشنامه براساس پارامترهای اپیدمیولوژیک مورد بررسی، تهیه گردید. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه ویروس‌شناسی انستیتو پاستور با بهره‌گیری از تکنیک‌های آزمایشگاهی مولکولار ویروژنیک شامل RNA-PAGE و Semi-

جدول- ۱: توزیع فراوانی سنی گاستروآنتریت روتاویروس و غیرروتاویروس در کودکان زیر ۱۴ سال بستری در بیمارستان کودکان بهرامی تهران از زمستان ۸۷ تا پاییز ۸۸

سن	مبتلایان به اسهال حاد		عفونت روتاویروس مثبت		عفونت روتاویروس منفی	
	فراوانی مطلق	فراوانی نسبی	فراوانی مطلق	فراوانی نسبی	فراوانی مطلق	فراوانی نسبی
۶-۰ ماه	۱۵	٪۱۰	۱	٪۳	۱۴	٪۱۲
۱۲-۶ ماه	۴۲	٪۲۸	۱۰	٪۳۵	۳۲	٪۲۶
۲-۱ سال	۴۰	٪۲۷	۱۴	٪۴۸	۲۶	٪۲۱
۵-۲ سال	۳۸	٪۲۵	۴	٪۱۴	۳۴	٪۱۳
۱۴-۵ سال	۱۵	٪۱۰	۰	٪۰	۱۵	٪۱۳
مجموع	۱۵۰	٪۱۰۰	۲۹	٪۱۰۰	۱۲۱	٪۱۰۰

بیمارستان می‌باشد.^{۱۳} با توجه به نقش مهم روتاویروس در گاستروآنتریت حاد کودکان، در این مطالعه اقدام به شناسایی ژنوتیپ‌های VP4 در چرخش در کودکان با این مشکل بهداشتی شده است. در این بررسی عفونت روتاویروسی گروه A در ۱۹/۳٪ کودکان زیر ۱۴ سال مبتلا به گاستروآنتریت حاد بستری در بیمارستان کودکان بهرامی مشخص شد. بر اساس مطالعات اپیدمیولوژیک در مناطق مختلف جهان، عفونت روتاویروس در ۱۰٪ تا ۷۰٪ کودکان مبتلا به گاستروآنتریت مشاهده شده است. بیش از ۵۰٪ از موارد بستری شدن مبتلایان به عفونت سیستم گوارشی در بیمارستان‌ها در رابطه با عفونت روتاویروس می‌باشند.^۳ در این مطالعه حدود ۸۳٪ از موارد اسهال روتاویروس در شیرخواران زیر دو سال با حداکثر شیوع عفونت ویروسی در گروه سنی ۲۴-۶ ماهه و کم‌ترین موارد بیماری در کودکان ۱۴-۵ سال مشاهده شد. مطالعات انجام شده در سایر جوامع در حال توسعه و صنعتی شیوع اسهال روتاویروسی را در سنین ۲۴-۶ ماهگی نشان داده شده است.^{۷،۸} در این مطالعه عفونت روتاویروس در کودکان دختر و پسر تقریباً به‌طور یکسان مشاهده گردید تاکنون هیچ یک از مطالعات انجام شده در سطح جهان برتری جنس خاصی را در ابتلا به اسهال روتاویروس گزارش نکرده است.^۲ حدود ۴۲٪ از موارد اسهال روتاویروس در فصول سرد سال و کم‌ترین موارد این بیماری در تابستان اتفاق افتاده است (۹٪) که با آمار جوامع با آب و هوای معتدل مطابقت دارد. مطالعات مشابه نیز بیش‌ترین موارد اسهال روتاویروس را در فصول سرد و معتدل سال گزارش کرده‌اند. هرچند در مناطق گرمسیر عفونت روتاویروس در فصول مختلف اتفاق افتاده است.^۳ در مطالعه حاضر اکثر کودکان مبتلا به اسهال روتاویروس دارای تب با دمای بالای ۳۸°C بوده که تهوع، استفراغ و اسهال آبکی با درجات خفیف، متوسط و شدید در آن‌ها وجود داشته است. در این مطالعه بر اساس آنالیز مولکولی سویه‌های روتاویروس اخذ شده از کودکان بیمار بیش از ۹۰٪ دارای الگوی Long RNA Pattern و کم‌تر از ۱۰٪ Short RNA Pattern بوده‌اند. تعیین شیوع ژنوتیپ‌های مختلف روتاویروس در مناطق مختلف دنیا و تغییرات ژنتیکی این ویروس در طول زمان در راستای نحوه به‌کارگیری واکسن مناسب روتاویروس حایز اهمیت می‌باشد. در این مطالعه ژنوتیپ روتاویروس غالب P[8] VP4 ۸۶٪ بوده است و هم‌چنین ژنوتیپ‌های P[4] و P[6] در کودکان مبتلا به اسهال



نمودار- ۱: درخت Phylogenetic جهت مقایسه سکانس‌های به‌دست آمده از مطالعه ما با سکانس‌های سایر کشورها

شدید مشاهده شد ($P=1$). براساس روند مهاجرت سگمانت‌های ۱۰ و ۱۱ RNA روتاویروس در سیستم PAGE بیش از ۹۰٪ نمونه‌های بالینی عفونت روتاویروس با الگوی Long RNA و کم‌تر از ۱۰٪ نمای RNA Short نشان داده‌اند. در این مطالعه توزیع ژنوتیپ‌های روتاویروسی شامل ۲۵ مورد P[8] (۸۶/۲٪)، دو مورد P[6] (۶/۹٪) و دو مورد P[4] (۶/۹٪) بوده است. هم‌چنین جهت مقایسه سکانس‌های به‌دست آمده از مطالعه ما با سکانس‌های سایر کشورها توسط برنامه MEGA4 مدل Neighbor joining با Boot strap ۱۰۰۰ و تکنیک درخت فیلوژنتیک، درخت فیلوژنتیک رسم گردید که در نمودار ۱ آمده است. در آنالیز فیلوژنتیک سویه‌های روتاویروس مشخص شد که سویه‌های P[8] در چرخش در کودکان تهران از نظر سکانس نوکلئوتیدی با ژنوتیپ‌های P[8] در چرخش در کشورهای آسیایی و اروپایی شامل روسیه، چین و ایتالیا بیش‌ترین همولوژی را داشتند. این امر نشان‌گر تشابه سویه‌های روتاویروس در چرخش در کشورهای آسیایی می‌باشد.

بحث

مطالعات اخیر نشان داده است که در کشورهای در حال توسعه، روتاویروس عامل اصلی گاستروآنتریت اپیدمیک بوده و سبب ۲۰٪ از موارد مرگ و میر اطفال در سنین قبل از دبستان است. در جوامع صنعتی اسهال روتاویروس، یکی از علل مهم بستری شدن کودکان در

مشابهت دارند.^{۱۴،۱۵} در سال‌های اخیر پیشگیری اسهال روتاویروس از طریق ایمن‌سازی با به‌کارگیری واکسن‌های روتاویروس یک ظرفیتی (Rota Trix) که شامل ژنوتیپ [P8] G1 بوده و پنج ظرفیتی (Rota Taq) که شامل ژنوتیپ‌های [P8] G1, G2, G3, G4, G9 می‌باشد در برخی از نقاط دنیا اعمال شده است.^{۱۶،۱۷} نتایج این مطالعه نشان‌گر آن است که روتاویروس عامل مهم اتیولوژیک بیماری اسهال حاد کودکان در تهران بوده و ژنوتیپ [P8] VP4، سویه ویروسی شایع در کودکان بیمار می‌باشد و با در نظر گرفتن شیوع بالای عفونت روتاویروس به‌کارگیری واکسن مناسب روتاویروس در کنترل و پیشگیری اسهال روتاویروس در کودکان کشورمان راه‌گشا خواهد بود.

روتاویروسی چرخش داشته‌اند. در مطالعات قبلی که در تهران انجام شد، ژنوتیپ [P8] شایع‌ترین سویه ویروسی بوده و بر طبق گزارشات جهانی روتاویروس سویه‌های [P4]، [P6]، [P8] از چرخش بالا در جوامع مختلف برخوردار بوده‌اند چنان‌که در ترکیه [P8] ۶۹٪ مشخص شده است.^۹ در بنگلادش [P8] و [P4] بیش از ۵۰٪ از سویه‌های روتاویروس را تشکیل داده‌اند^{۱۱} و در کشورهای هلند، هند و برزیل سویه ویروسی شایع [P8] و [P4] بوده است.^{۱۱-۱۳} در آنالیز فیلوژنتیک سویه‌های [P8] که در این مطالعه مشاهده شده است، سکانس نوکلئوتید سویه‌های روتاویروس در چرخش در ایران با ژنوتیپ‌های شناسایی شده در کشورهای آسیایی شامل چین و روسیه بیش از ۹۵٪

References

- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Melnick and Adelberg's Medical Microbiology. New York, NY: Raven Press; 1998. p. 460-80.
- Ester K, Kapikian Z. Rotaviruses. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, Chanock RM, Melnick JL, Monath TP, et al, editors. Fields Virology. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996. p. 1625-708.
- Cook SM, Glass RI, LeBaron CW, Ho MS. Global seasonality of rotavirus infections. *Bull World Health Organ* 1990;68(2):171-7.
- Bishop RF. Natural history of human rotavirus infections. In: Kapikian AZ, editor. Viral Infections of the Gastrointestinal Tract. 2nd ed. New York: Marcel Dekker Inc; 1994. p. 31-168.
- Estes MK, Kapikian AZ. Rotaviruses. In: Knipe DM, Howley PM, editors. Fields Virology. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2007. p. 1917-74.
- Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, editors. Nelson Textbook of Pediatrics. 18th ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier; 2007. p. 1399-401.
- Cunliffe NA, Kilgore PE, Bresee JS, Steele AD, Luo N, Hart CA, et al. Epidemiology of rotavirus diarrhoea in Africa: a review to assess the need for rotavirus immunization. *Bull World Health Organ* 1998;76(5):525-37.
- Griffiths FH, Steele AD, Alexander JJ. The molecular epidemiology of rotavirus-associated gastro-enteritis in the Transkei, southern Africa. *Ann Trop Paediatr* 1992;12(3):259-64.
- Cataloluk O, Iturriza M, Gray J. Molecular characterization of rotaviruses circulating in the population in Turkey. *Epidemiol Infect* 2005;133(4):673-8.
- Paul SK, Kobayashi N, Nagashima S, Ishino M, Watanabe S, Alam MM, et al. Phylogenetic analysis of rotaviruses with genotypes G1, G2, G9 and G12 in Bangladesh: evidence for a close relationship between rotaviruses from children and adults. *Arch Virol* 2008;153(11):1999-2012.
- Khamrin P, Peerakome S, Tonusin S, Malasao R, Okitsu S, Mizuguchi M, et al. Changing pattern of rotavirus G genotype distribution in Chiang Mai, Thailand from 2002 to 2004: decline of G9 and reemergence of G1 and G2. *J Med Virol* 2007;79(11):1775-82.
- van der Heide R, Koopmans MP, Shekary N, Houwers DJ, van Duynhoven YT, van der Poel WH. Molecular characterizations of human and animal group A rotaviruses in the Netherlands. *J Clin Microbiol* 2005;43(2):669-75.
- Samajdar S, Varghese V, Barman P, Ghosh S, Mitra U, Dutta P, et al. Changing pattern of human group A rotaviruses: emergence of G12 as an important pathogen among children in eastern India. *J Clin Virol* 2006;36(3):183-8.
- Cao XR, Akihara S, Fang ZY, Nakagomi O, Ushijima H. Genetic variation in the VP4 and NSP4 genes of human rotavirus serotype 3 (G3 type) isolated in China and Japan. *Microbiol Immunol* 1999;43(2):171-5.
- Dey SK, Thongprachum A, Ota Y, Phan TG, Nishimura S, Mizuguchi M, et al. Molecular and epidemiological trend of rotavirus infection among infants and children in Japan. *Infect Genet Evol* 2009;9(5):955-61.
- Dennehy PH. Rotavirus vaccines: an overview. *Clin Microbiol Rev* 2008;21(1):198-208.
- Ruiz-Palacios GM, Pérez-Schael I, Velázquez FR, Abate H, Breuer T, Clemens SC, et al. Safety and efficacy of an attenuated vaccine against severe rotavirus gastroenteritis. *N Engl J Med* 2006;354(1):11-22.

The genetic diversity and phylogenetic characteristics of rotavirus VP4(P) genotypes in children with acute diarrhea

Received: June 01, 2011 Accepted: July 04, 2011

Abstract

Aliakbar Rahbarimanesh M.D.¹
Hassanali Saberi. M.D.^{2*}
Shahrzad Modarres gilani
M.D.³
Peiman Salamati M.D.⁴
Hooshang Akhtarkhvari M.D.⁵
Zahra Haghshenas M.D.⁶

1- Department of Pediatric, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

2- Department of Pediatric, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran.

3- Medical Virologist, Institute Pausture of Iran, Tehran, Iran.

4- Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran.

5- Department of Pediatrics, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran.

6- Department of Pediatrics, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran.

Background: Acute gastroenteritis is a major cause of morbidity and mortality among children in developing countries. Rotaviruses are recognized as the most common etiologic factors of gastroenteritis. In this study, we determined the epidemiologic features, clinical symptoms and molecular structure of rotavirus VP4(P) genotypes in children with acute diarrhea in Bahrami Hospital in Tehran Iran, during 2009 for justifying the routine use of rotavirus vaccines in children.

Methods: One hundred fifty fecal samples from 150 children with acute diarrhea in Bahrami Pediatric Hospital in Tehran, Iran were collected from January to December 2009. The patients' mean age was 20.90±18.19 years (ranging from 1 month to 14 years). Fecal samples were transported on ice to the laboratory of virology department of Pasture Institute of Iran. The demographic and clinical data for each case were entered in an author-devised questionnaire. Group A rotavirus was detected by dsRNA-PAGE. Subsequently, rotavirus genotyping (VP4) was performed by semi-nested multiple RT-PCR and the phylogenetic tree of the Rotavirus nucleotides was constructed. The data were analyzed by statistical tests including Wilcoxon signed and Mann-Whitney U.

Results: Rotavirus was isolated in 19.3% of the samples, more than 90% of which had long RNA patterns. The predominant genotype (VP4) was P[8] (86%) and other genotypes respectively were P[6] (6.9%) and P[4] (6.9%).

Conclusion: A high prevalence of the P[8] genotype was found to be the cause of acute diarrhea. The analysis of P[8] genotype sequence showed a high level of similarity of the virus in this study with those of other Asian countries.

Keywords: Acute diarrhea, analysis, phylogenetic, RNA PAGE, rotavirus, RT-PCR.

* Corresponding author: Pediatric infectious diseases group, Bahrami Hospital, Kiaee St, Damavand Ave- Tehran, Iran.
Tel: +98- 21- 44246788
E-mail: hassansaberi45884@yahoo.com