

Virusni gastroenteritisi

**Ninoslava VICKOVIĆ, dr. med., specijalist
infektolog**
**Ante BEUS, doc. dr. sc., dr. med., specijalist
infektolog**

Klinika za infektivne bolesti »Dr. Fran
Mihaljević« Zagreb

Ključne riječi

virusi
akutni infekcijski proljevi

Key words

viruses
gastroenteritis acuta

Primljeno: 2005-02-24

Received: 2005-02-24

Prihvaćeno: 2005-03-17

Accepted: 2005-03-17

Uvod

Iza akutnih respiracijskih infekcijskih bolesti najčešći uzrok mortaliteta i morbiditeta u cijelom svijetu su akutni infekcijski proljevi (AIP). Imaju i veliku ekonomsku važnost, jer uzrokuju milijune izgubljenih radnih dana. U nerazvijenim dijelovima svijeta svaki dan umire oko tisuću djece od posljedica dehidracije uzrokovane akut-

Pregledni članak

Virusi čine 30–40 % poznatih uzročnika akutnih infekcijskih proljeva. Među njima najčešći su uzročnici rotavirusi i crijevni adenovirusi, koji uzrokuju proljev u djece od 6–24 mjeseca života. Ponekad se mogu zaraziti i neimuni odrasli u njihovoj okolini. U ostalih uzročnici virusnih proljeva su Norwalk-virus i njemu slični, astrovirusi, kalicivirusi i vjerojatno još neki drugi. Među virusnim gastroenteritisima slični su klinički simptomi. Svi se oni prenose fekalno-oralnim putem i vrlo su kontagiozni, jer zaražene osobe izlučuju veliki broj virusa stolicom (zaraženi s rotavirusom izlučuje 10^{10} virusa u gramu izmeta), a infekcijska doza je vrlo mala – samo nekoliko virusnih čestica može uzrokovati proljeve. U dijagnostici se koriste imunološke metode koje dokazuju virusne čestice u stolici bolesnika. Sada se u Klinici za infektivne bolesti »Dr. F. Mihaljević« može dokazati imunološkim metodama (latex-aglutinacija, imunokromatografski test) u stolici samo virusne čestice rotavirusa i adenovirusa, što je jedan od razloga za etiološki nedokazane akutne infekcijske proljeve u odrasloj populaciji.

Viral gastroenteritis

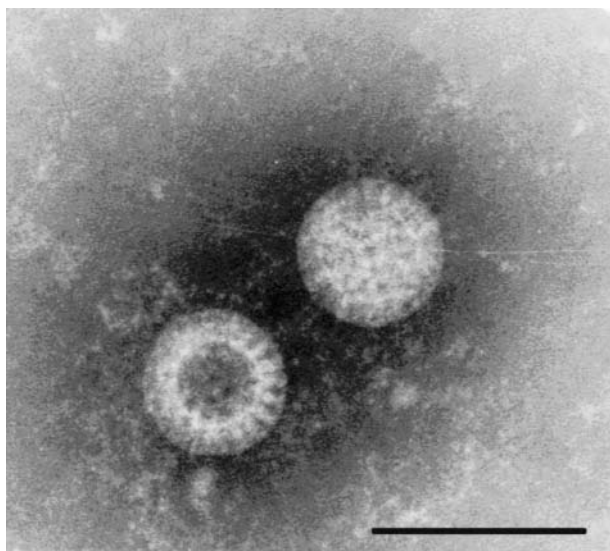
Review article

Viruses make up 30–40 % of known agents causing acute infectious diarrhoea. The most common among them are rotaviruses and intestinal adenoviruses, that cause diarrhoea in children aged 6–24 months. Sometimes nonimmune adults in their surroundings can become infected as well. In others, causative pathogens of viral diarrhoea are Norwalk and Norwalk-like viruses, astroviruses, caliciviruses, etc. Viral gastroenteritis have similar clinical symptoms. They are all transmitted by faecal-oral-route and are highly contagious, because infected persons excrete a large number of viruses by stool (persons with rotavirus infection excrete 10^{10} viruses in one gram of stool), and infectious dose is very small – only a few viral particles can cause diarrhoea. Immunological methods are used to detect viral particles in the stool of infected patients. Immunological methods currently used at the University Hospital for Infectious Diseases »Dr. Fran Mihaljević« (latex-agglutination, immunochromatography test) can detect only viral particles of rotavirus and adenovirus in stool, which is one of the reasons for etiologically unclear cases of acute infectious diarrhoea among adults

nim infekcijskim proljevima. Potaknuti pojavom nedavne epidemije akutnog infekcijskog proljeva među učenicima u jednoj zagrebačkoj gimnaziji (siječanj 2005.) uzrokovane s Norwalk-virusom, htjeli smo obnoviti i nadopuniti naše znanje o virusnim proljevima. Virusni su uzročnici 30–40 % od svih poznatih uzročnika akutnih infekcijskih proljeva. U najnovijim izvješćima ukazuje se da su virusi najčešći uzročnici akutnih infekcijskih proljeva u industrijaliziranim zemljama [1].

Rotavirusi

Rotavirusi pripadaju porodici *Reoviridae* i sastoje se od troslojne proteinske kapside koja zatvara dvolančanu RNK. Na elektronskom mikroskopu izgledaju poput kotača (latinski *rota* = kotač). Godine 1973. Bishop i suradnici otkrili su rotavirus u sluznici duodenuma u djeteta s akutnim gastroenterokolitisom [2]. Rotavirusi se dijele u grupe, podgrupe i serotipove. Mogu se podijeliti u grupu A, B i C koje su antigeno potpuno različite. Rotavirus grupe A najčešći je uzročnik infekcija u ljudi. Većina infekcija uzrokovana je serotipovima 1–4 [3]. Rotavirus grupe B je 1983. godine prvi puta identificiran kao uzročnik bolesti ljudi. Te godine izbila je velika epidemija uzrokovana ovom grupom AIP u seoskim dijelovima Kine u odrasloj populaciji stanovništva, pa se radi toga u početku nazivao ADRV (*adult diarrheal rotavirus*) [4]. Rotavirus grupe C uzrokuje povremeno epidemije AIP u djece mlađe od 4 godine u Japanu i Ujedinjenom Kraljevstvu [5].



Slika 1. Elektronska fotomikrografija rotavirusa
Figure 1. Elektron micrographs of rotavirus

Najčešće obolijevaju djeca u dobi od 6 mjeseci do 2 godine. Do 3 godine života 90 % djece već ima protutijela na rotavirus. Starija djeca i odrasli rijetko oboljevaju, obično u okviru obiteljskih epidemija. U sredinama s umjerenom klimom rotavirusne infekcije pokazuju tendenciju izbijanja tijekom zime, a u sredinama s tropskom klimom javljaju se tijekom cijele godine [6]. Infekcije se prenose fekalno – oralnim putem. Izlučivanje virusa stolicom počinje odmah po pojavi prvih simptoma i traje 5–7 dana. U 1–2 % slučajeva virusna ekskrecija stolicom traje i do 20 dana [7]. Rotavirusi su značajni uzročnici tzv. putničkih dijareja i nozokomijalnih infekcija. Potonje

upućuje oprez pri prijemu u bolnicu bolesnika sa suspektnim virusnim AIP. Na nozokomijalne infekcije otpada i do 20 % rota virusnih infekcija u hospitaliziranih bolesnika [8]. Širenju epidemija u bolničkim uvjetima pogoduje što zaraženi izlučuju stolicom ogromni broj virusa (10^{10} virusnih čestica po gramu izmeta), a infekcijska doza je vrlo mala (samo 10 virusnih čestica) [9].

Rotavirus je litički virus koji uzrokuje destrukciju epitelnih stanica na vrhu resica tankog crijeva. Inicijalno su napadnute stanice proksimalnog dijela tankog crijeva. Oštećenjem tih visoko diferenciranih apsorptivnih stanica i bujanjem nediferenciranih stanica kripi dolazi do gubitka apsorpcijske sposobnosti za vodu i natrij s posljedičnom osmotskom dijarejom. Istovremeno, radi oštećenja mikrovila enterocita, dolazi do gubitka aktivnosti enzima hidrolaze (sukraza, alkalna fosfataza i laktaza). Radi nedostatka enzima pogoršava se osmotski poremećaj kojeg uzrokuje neprobavljena hrana [10, 11]. Deficit laktaze induciran rotavirusnom infekcijom može trajati od 14–21 dan [12]. U patogenezi rotavirusne infekcije važno je naglasiti tkivni i stanični tropizam (rotavirus inficira samo stanice epitela tankog crijeva). Postoje, doduše i neki radovi prema kojima je rotavirusni antigen nađen u gornjim dišnim putovima i u SŽS-u [13].

Inkubacija iznosi 1–7 dana. Bolest se manifestira povraćanjem, često kao prvim simptomom, uz vodenaste stolice i povišenu temperaturu. U oko trećine bolesnih temperatura je viša od 39 °C. Vrućica i povraćanje najčešće traju 2–3 dana, a proljev sa vodenim stolicama 5–8 dana. U laboratorijskim nalazima postoji blago do umjereno povećana urea uz umjerenu metaboličku acidozu. Tijekom rotavirusnog AIP zabilježena je i blaga jetrena lezija [14]. Uz uobičajene kliničke slike javljaju se i asimptomatski slučajevi, teži oblici bolesti (kod bolesnika koji su pod imunosupresivnom terapijom radi presađivanja koštane srži), kao i kronični oblici bolesti (kod osoba s primarnom imunodeficijencijom kod kojih dijareja može trajati i do 6 mjeseci). U odraslih i starije djece simptomi su mnogo blaži, najvjerojatnije radi stečenog imuniteta, premda je na animalnim modelima dokazano da tijekom godina dolazi do smanjenja broja rotavirusnih receptora na epitelnim stanicama resica tankog crijeva. U novorođenčadi je infekcija rijetko simptomatska zbog prenešenog pasivnog imuniteta od majke [15]. Rotavirus se spominje i kao uzročnik nekrotizirajućeg enterokolitisa na odjelima intenzivne njege [16].

Radi karakterističnog izgleda moguće je lagano dokazati rotavirus pomoću elektronskog mikroskopa. Na tržištu danas postoje različiti imunološki testovi s komercijalnim kitovima za dokazivanje antigena rotavirusa grupe A u stolici bolesnika. Mnogi takvi testovi imaju osjetljivost i specifičnost do 90 % [17].

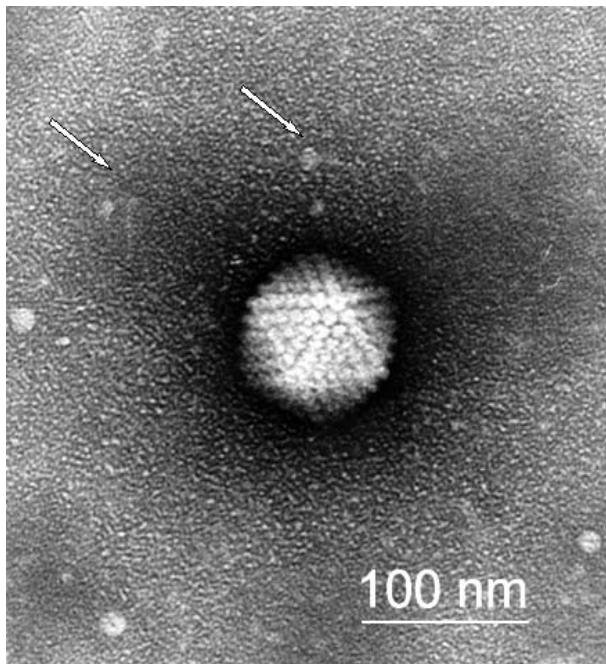
Liječenje je rotavirusnog AIP simptomatsko. Prognoza rotavirusnih infekcija uglavnom je dobra [18]. Higijenske

mjere nisu od velike koristi, jer jednako obolijevaju djeca u zemljama visokog standarda. Godine 1998. bila je u SAD-u odobrena oralna tetravalentna atenuirana rotavirusna vakcina (RRV-TV), ali je ista bila obustavljena već naredne godine. Naime u 15-ero djece se tjedan dana nakon primjene prve doze cjepiva pojavila intususcepcija crijeva [19]. Prema istraživanjima u Finskoj ova vakcina nije šttila od infekcije, već je samo ublažavala kliničku sliku.

Crijevni adenovirusi

Adenovirusi pripadaju porodici *Adenoviridae* i sadrže dvolančanu DNK. Otkriveni su 1953. godine prvenstveno kao uzročnici respiratornih infekcija, a tek 1975. otkriveni su adenovirusi koji uzrokuju AIP [20]. Danas je poznato 49 serotipova humanih adenovirusa, koji su podijeljeni u 6 podgrupa (A–F). Serotipovi 40, 41 i 31 koji pripadaju podgrupi F su uzročnici akutnih gastroenterokolitisa [21].

Crijevni adenovirusi najčešće uzrokuju infekcije u djece mlađe od 2 godine. Iza 10. godine života većina osoba posjeduje serumska protutijela protiv multiplih serotipova adenovirusa. Oni su češće uzročnici AIP u razvijenim zemljama nego u nerazvijenim [22]. Infekcije adenovirusima javljaju se tijekom cijele godine. Zaraza se prenosi fekalno-oralnim putem. Oboljeli izlučuju velike količine virusa u stolici (10^{11} u gramu izmeta), a lučenje počinje dva dana prije pojave prvih simptoma i traje 10–14 dana [23].



Slika 2. Elektronska fotomikrografija adenovirusa pročišćenog iz stolice koristeći metodu centrifugiranja

Figure 2. Elektron micrographs of adenovirus

Malo se zna o načinu djelovanja crijevnih adenovirusa. Veliki broj virusa u stolici zaraženih ukazuje da se virus u crijevu razmnožava. Crijevni adenovirusi često se izoliraju iz stolice bolesnika s AIDS-om, u kojih uzrokuju kronične smetnje [24].

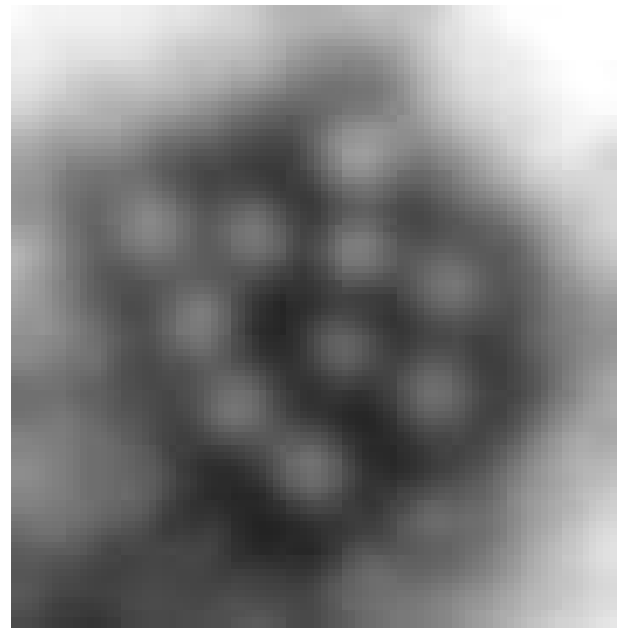
Inkubacija iznosi 3 do 10 dana, a proljev može trajati i do 14 dana. Klinička slika AIP uzrokovana adenovirusima slična je AIP uzrokovanog rotavirusima, ali je nešto blaža i traje dulje. Bolesnici mogu imati povišenu temperaturu i respiratorne simptome. Prema nekim istraživanjima, crijevni adenovirusi bi mogli imati neku ulogu u razvoju celijakije [25].

U dijagnostici crijevnih adenovirusa danas se koriste testovi za otkrivanje virusnog antigena u stolici za serotipove 40 i 41 [26].

Za sada nema specifične antivirusne terapije, te je terapija simptomatska (parenteralna ili oralna rehidracija). Vakcina ne postoji niti se radi na pripremi, jer crijevni adenovirusi nisu značajni uzročnik AIP u nerazvijenim zemljama svijeta, gdje su dijarealne bolesti najčešći uzročnik mortaliteta i morbiditeta [27].

Norwalk virus (NV) i njemu slični virusi (Norvirusi)

Norwalk-virus (NV) pripada porodici *Caliciviridae*, koja je dobila ime prema latinskoj riječi *calyx* = kalež zbog svog izgleda na elektronskom mikroskopu. NV sadrži jednolančanu RNK i mali je virus veličine 27 nm,



Slika 3. Elektronska fotomikrografija NV iz stolice bolesnika
Figure 3. Elektron micrographs of Norwalk-virus in human fecial specimen

čija je kapsida jedinstvene građe među svim animalnim virusima. Kapsida je građena od jednog jedinog kapsidnog proteina, što je karakteristika biljnih virusa [28]. To je prvi virus koji je otkriven kao uzročnik AIP u ljudi. Identificiran je 1972. godine iz uzoraka stolica sačuvanih tijekom epidemije iz 1968., koja je izbila u osnovnoj školi u Norwalku u SAD-u [29].

Najčešći je uzročnik virusnih AIP u SAD-u. Godišnje oboli oko 23 milijuna ljudi [30]. Norwalk-virus uzrokuje akutne infekcijske proljeve u starije djece i u odraslih tijekom cijele godine. Infekcija se prenosi fekalno-oralnim putem. U epidemijama se može prenositi putem zagađene vode te putem termički neobrađene ili kontaminirane hrane (konzumiranje kamenica, sirovih školjki, pijenje kontaminirane vode). Epidemije se najčešće javljaju u kampovima, na velikim turističkim brodovima, u školama, u dječjim vrtićima, vojarnama i bolnicama [31]. Najveća epidemija je zabilježena u Australiji, kada je oboljelo 2000 ljudi koji su jeli kamenice [32]. NV se može naći u povraćanom sadržaju, pa se pretpostavlja da se infekcija može širiti i aerosolom, koji može kontaminirati površine [33]. Norwalk-virus je vrlo kontagiozan, jer samo nekoliko virusnih čestica (10 virusnih čestica) može uzrokovati bolest. Zaražena osoba počinje izlučivati viruse stolicom 15 sati prije pojave prvih simptoma bolesti, a može ih izlučivati do 2 tjedna nakon ozdravljenja [34].

Norwalk-virus aficira proksimalni dio tankog crijeva, gdje uzrokuje skraćivanje resica i bujanje stanica kripti uz mononuklearnu infiltraciju sluznice. U oboljelih je smanjena aktivnost enzima (alkalna fosfataza, sukraza) radi čega se javlja blaga steatoreja i reverzibilna malapsorpcija [35].

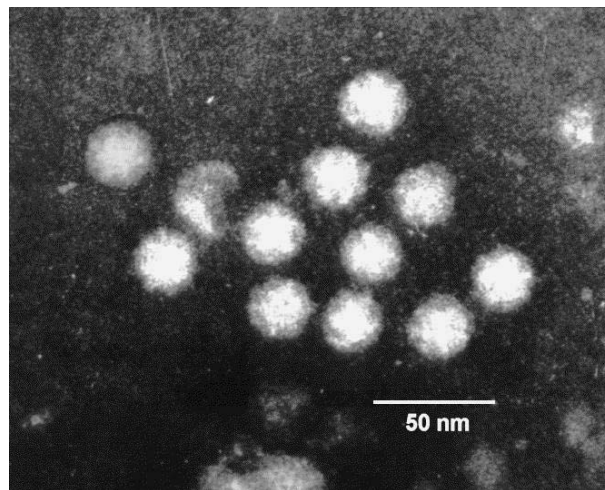
Inkubacija iznosi 1–2 dana, a bolest je obično kratkotrajna (2–3 dana). Počinje naglo s vodenastim stolicama, povraćanjem, te grčevitim abdominalnim bolovima. Polovica oboljelih ima povišenu temperaturu i glavobolju [36].

NV se u stolici i u povraćanom sadržaju može dokazati elektronskim mikroskopom, lančanom reakcijom polimeraze (PCR) i imunološkim testovima (ELISA). Najbolji rezultati se postižu ako se analizira stolica uzeta unutar 48 do 72 sata od početka simptoma [37].

Liječenje AIP uzrokovanog s Norwalk virusom je samo simptomatsko. Zbog izlučivanja virusa u stolici još 2 tjedna po ozdravljenju, osobe koje rade s hranom moraju kroz to vrijeme paziti na osobnu higijenu.

Astrovirusi

Astrovirusi su mali RNK virusi koji pripadaju porodici *Astroviridae*. Prvi su puta opisani 1975. kao uzročnici AIP u djece u Škotskoj [38]. Dobili su ime po karakterističnom izgledu na elektronskom mikroskopu – glatka



Slika 4. Elektronska fotomikrografija astrovirusa
Figure 4. Elektron micrographs of astrovirus

zaobljena površina sa šestokrakom ili petokrakom zvijezdastom građom u sredini [39].

Astrovirusni AIP rasprostranjeni su po cijelom svijetu. Humani astrovirusi uzrokuju dijareju u djece mlađe od 7 godina kao i u imunokompromitiranih osoba (HIV-bolesnici, nakon transplatacije koštane srži). Epidemije se mogu javiti u staračkim domovima. Infekcija se prenosi fekalno-oralnim putem, a češće nastaju tijekom hladnijih mjeseci [40]. Većina infekcija je uzrokovana serotipom 1.

Inkubacija iznosi 3–4 dana, a bolest se manifestira vodenastim stolicama u trajanju od 1–4 dana bez povišene temperature [41]. U Ujedinjenom Kraljevstvu 75 % djece između 3 i 4 godine života već ima protutijela za astroviruse, što nam ukazuje da je većina infekcija asimptomatska [42].

Za dokazivanje virusa u stolici koristi se elektronski mikroskop, a rabe se i imunoenzimski testovi. Metode za rutinsku dijagnostiku nisu razvijene [43].

Dehidracija je blaga pa je dovoljna samo peroralna rehidracija [44].

Drugi virusi uzročnici akutnog infekcijskog proljeva

Sapporo-virus pripada porodici *Caliciviridae*. Prvi put je opisan 1977. kao uzročnik epidemije gastroenterokolitisa među djecom u Japanu (Sapporo). Za koronavirus, torovirus, parvovirus i pikobirnavirus nije se moglo pouzdano dokazati da uzrokuju AIP [45].

Zaključak

U Klinici za infektivne bolesti »Dr. F. Mihaljević« moguće je za sada dokazati imunološkim metodama (la-

tex-aglutinacija, imunokromatografski test) u stolici samo virusne čestice rotavirusa i crijevnih adenovirusa, što je i razlog velikom broju etiološki nedokazanih AIP. Na Norwalk-virus kao uzročnika epidemije (siječanj 2005.) među učenicima jedne zagrebačke gimnazije posumnjali smo na temelju Kaplanovih epidemioških kriterija – sve koprokulture su bile negativne na bakterijske uzročnike, 50 % učenika je povraćalo, bolest je trajala od 12 do 60 sati, a vrijeme inkubacije je bilo od 24 do 48 sati, što smo i dokazali [46]. Norwalk-virus je dokazan u stolici oboljelih učenika nakon obrade stolice u mikrobiološkom laboratoriju HZJZ.

Danas je poznato nešto preko 70 % uzročnika akutnih infekcijskih proljeva (AIP). Većinu poznatih uzročnika čine bakterije, na viruse otpada manji dio (30–40 % poznatih uzročnika), a najmanji dio čine paraziti. Paraziti su uglavnom uzročnici kroničnih infekcijskih proljeva. U rutinskoj dijagnostici AIP u nas se, uz bakteriološke pretrage, rabe samo virusološke pretrage na rotaviruse i crijevne adenoviruse u djece. Veliki dio bakteriološki negativnih stolica otpada vjerojatno na virusne uzročnike. Zbog poboljšanja dijagnostike trebalo bi na svim infektološkim odjelima u Hrvatskoj uvesti pretragu dokazivanja Norwalk-virusa komercijalno dostupnim jednostavnim i brzim testovima. Ovi testovi se ne bi trebali koristiti u rutinskoj dijagnostici, nego kod bakteriološki negativnih epidemija akutnih gastroenterokolitisa

Literatura

- [1] Lopman BA, Reacher MH, Duijnhoven Y, Hanon FX, Brown D, Koopmans M. Viral Gastroenteritis Outbreaks in Europe, 1995–2000. *Emerg Infect Dis* (serial online) 2003 Jan.
- [2] Bishop R, Davidson G, Holmes I, et al. Viral particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute non-bacterial gastroenteritis. *Lancet* 1973;2:1281–1283.
- [3] Estes M, Cohen J. Rotavirus gene structure and function. *Microbiol Rev* 1989;53: 410–449.
- [4] Hung T, Chen GM, Wang CG, et al. Rotavirus-like agent in adult non-bacterial diarrhoea in China (Letter). *Lancet* 1983;2:1078–1079.
- [5] Ishmaru Y, Nakano H, Oseto M et al. Group C rotavirus infection and infiltration. *Acta Paediatr Jpn* (Overseas Edition) 1990;32:523–529.
- [6] Hulian S, Zhen LG, Mathan MM, et al. Etiology of acute diarrhoea among children in developing countries: a multicentre study in five countries. *Bull WHO* 1991;69:549–555.
- [7] Richardson S, Grimwood K, Gorell R, Palombo E, Barnes G, Bishop R. Extended excretion of rotavirus after severe diarrhoea in young children. *Lancet* 1998;351:1844–1848.
- [8] Bartlett AV, Reves RR, Pickering LK. Rotavirus in infant-toddler day care centres: Epidemiology relevant to disease control strategies. *J Pediatr* 1988;113:435–441.
- [9] Graham DY, Dufuor GR, Estes MK. Minimal infective dose of rotavirus. *Arch Virol* 1987;92:261–271.
- [10] Snodgrass DR, Angus KW, Gray EW. Rotavirus in lambs: pathogenesis and pathology. *Arch Virol* 1977;55:263–271.
- [11] Osborne MP, Haddon SJ, Spencer AJ. An electron microscopic investigation of time-related changes in the intestine of neonatal mice infected with rotavirus. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1988;7:236–248.
- [12] Hyams J, Krause P, Gleason P. Lactose malabsorption following rotavirus infection in young children. *J Pediatr* 1981;99:916–918.
- [13] Hongou K, Konishi T, Yagi S., et al. Rotavirus encephalitis mimicking afebrile benign convulsions in infants. *Pediatr Neurol* 1998;18:354–357.
- [14] Walther FJ, Bruggeman C, Daniels BM, et al. Symptomatic and asymptomatic rotavirus infection in hospitalized children. *Acta Paediatr Scand* 1983; 72:659–663.
- [15] Kovacs A, Chan L, Hotrakitya C, et al. Rotavirus gastroenteritis: Clinical and laboratory features and use of rotazy test. *Am J Dis Child.* 1987;141:161–166.
- [16] Rotbart HA, Levin MJ, Yolken RH, et al. An outbreak of rotavirus-associated neonatal necrotizing enterocolitis. *J Pediatr* 1988;112:454–459.
- [17] Honma H, Ushijima H, Takagi M, et al. Evaluation of a new enzyme immunoassay (TESTPACK ROTAVIRUS) for diagnosis of viral gastroenteritis. *Kaneshogaku Zasshi* 1990;64:174–178.
- [18] Avery ME, Snyder JD. Oral therapy for acute diarrhea: The underused simple solution. *N Engl J Med.* 1990;323:891–894.
- [19] Centres for Disease Control and Prevention. Withdrawal of rotavirus vaccine recommendation. *JAMA* 1999;282:2113–2114.
- [20] DeJong JC, Bijlsma K, Wermenbol AF, et al. Detection, typing and subtyping of enteric adenovirus 40 and 41 from fecal samples and observation of changing incidences of infection with these types and subtypes. *J Clin Microbiol.* 1993;31: 1562–1569.
- [21] Madeley CR. The emerging role of adenovirus as inducers of gastroenteritis. *Pediatr Infect Dis* 1986;5:S63–S74.
- [22] Uhnou I, Wadell G, Svensson L, et al. Importance of enteric adenoviruses 40 and 41 in acute gastroenteritis in infants and young children. *J Clin Microbiol* 1984;20:365–372.
- [23] Uhnou I, Olding-Stenkvist E, Kreuger A. Clinical features of acute gastroenteritis associated with rotavirus enteric adenoviruses, and bacteria. *Arch Dis Child* 1986;61:732–738.
- [24] Grohmann GS, Glass RI, Pereira HG, et al. Enteric virus and diarrhea in HIV-infected patients. *N Engl J Med* 1993;329:14–20.
- [25] Kagnoff MF, Austin RK, Hubert JJ, et al. Possible role for a human adenovirus in the pathogenesis of celiac disease. *J Exp Med* 1984;160:1544–1557.
- [26] Cruz JR, Caceres P, Cano F, et al. Adenovirus types 40 and 41 and rotaviruses associated with diarrhea in children from Guatemala. *J Clin Microbiol* 1990;28:1780–1784.
- [27] Blaser MJ, Smith PD, Ravdin JI, Greenberg HB, Guerrant RL. *Infections of the Gastrointestinal Tract.* 2. izd. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, 2002.
- [28] Glass PJ, White LJ, Ball JM, et al. Norwalk virus open reading frame 3 and codes a minor structural protein. *J Virol* 2000;74:6581–6591.
- [29] Kapikian AZ, Gerin JL, Watt RG, et al. Density in cesium chloride of the Norwalk agent: Determination by ultracentrifugation and immunoelectron microscopy. *Proc Soc Exp Biol Med* 1973;142:874–877.
- [30] Matty AS, Marion PG, Koopmans, Yvonne THP. Risk factors for Norovirus, Sapporo-like Virus, and group A Rotavirus Gastroenteritis. *Emerging Infectious Diseases* 2003;9:1563–1569.

- [31] White KE, Osterholm MT, Mariotti JA, et al. A foodborne outbreak of Norwalk virus gastroenteritis. Evidence for post-recovery transmission. *Am J Epidemiol* 1986;124:120–126.
- [32] Murphy AM, Grohmann GS, Christopher PJ, et al. An Australia-wide outbreak of gastroenteritis from oysters caused by Norwalk virus. *Med J Aus* 1979;2:329–333.
- [33] Kilgore P, Belay ED, Hamlin DM, et al. A university outbreak of gastroenteritis due to a small round-structured virus. Application of molecular diagnostic to identify the etiologic agent and patterns of transmission. *J Infect Dis.* 1996;173:787–793.
- [34] Hedberg CW, Osterholm MT. Outbreaks of food-borne and water-borne viral gastroenteritis. *Clin Microbiol Rev* 1993;6:199–210.
- [35] Levy AG, Widerlite L, Schwartz CJ, et al. Jejunal adenylate cyclase activity in human subjects during viral gastroenteritis. *Gastroenterology* 1976;70:321–325.
- [36] Lopman B, Vennema H, Kohli, et al. Increases in viral gastroenteritis outbreaks in Europe and epidemic spread of new norovirus variant. *Lancet* 2004;363:682–688.
- [37] Green J, Norcott JP, Lewis D, et al. Norwalk-like viruses: demonstration of genomic diversity by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1993;31:3007–3012.
- [38] Kurtz JB, Lee TW. Human astrovirus serotypes. *Lancet* 1984;2:1405.
- [39] Madeley CR, Cosgrove BP. 28 nm particles in faeces in infantile gastroenteritis *Lancet* 1975;2:451–452.
- [40] Herrmann JE, Taylor DN, Echeverria P, et al. Astroviruses as a cause of gastroenteritis in children. *N Engl J Med* 1991;324:1757–1760.
- [41] Midthun K, Greenberg HB, Kurtz JB, et al. Characterization and seroepidemiology of types 5 astrovirus associated with an outbreak of gastroenteritis in Marin County, California *J Clin Microbiol* 1993;31:955–962.
- [42] Kriston S, Willcocks MM, Carter MJ, et al. Seroprevalence of astrovirus types 1 and 6 in London determined using recombinant virus antigen. *Epidemiol Infect.* 1996;117:159–164.
- [43] Kurtz JB, Lee TW. Astroviruses: human and animal In: Bock G, Whelan J, eds. *Novel diarrhea viruses*. Ciba Foundation Symposium 128. Chichester: Wiley, 1987:92–107.
- [44] Cruz JR, Bartlett AV, Herrman JE, et al. Astrovirus – associated diarrhea among Guatemalan ambulatory rural children. *J Clin Microbiol* 1992;30:1140–1144.
- [45] Chiba S, Nakata S, Kinoshita KN, et al. Sapporo virus: History and Recent Findings *J of Infect Diseases* 2000;181:S303–S308.
- [46] Marks PJ, Vipond IB, Regan FM, et al. A school outbreak of Norwalk-like virus: evidence of airborne transmission *Epidmiol Infect* 2003;131:727–736.