

Rotavirüs Enfeksiyonları ve Korunma

Mehmet Ceyhan

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Ünitesi, Ankara, Prof.Dr.

Rotavirüsler bütün dünyada, çocukluk çağı gastroenteritinin en önemli etkenidir. Hemen hemen bütün çocuklar 2-3 yaşına kadar bu virüsle enfekte olurlar. Özellikle hijyen koşullarının iyi olduğu gelişmiş ülkelerde bakteriyel etkenler daha az görüldüğünden, rotavirüs daha sık rastlanır. Ortalama olarak bütün dünyada infant ishallerinin % 10-20'si rotavirüsle bağlıdır. Ülkemizde yapılan bir çalışmada bu oran % 16.6 olarak bulunmuştur. Sanılanın aksine, rotavirüs çoğunlukla dehidratasyonla seyreden ağır diyare ve kusmaya neden olur. Dolayısıyla ishale bağlı hastaneye yatışlarda da etken olarak ilk sırada yer almaktadır. Dünya üzerinde yılda 5-10 milyon olarak hesaplanan ishale bağlı çocuk ölümlerinin % 10-20'si rotavirüs kaynaklıdır. Bu nedenle rotavirüs gastroenteritini önleyebilecek bir aşının yaygın olarak kullanılması, milyonlarca çocuğu ölümden kurtarabilecektir.

Rotavirüsler reovirüsler ailesi içerisinde yer alan, 11 çift iplikçikli RNA segmentinden oluşan bir genomu olan mikroorganizmalardır. Her bir gen segmenti tek bir protein sentezletir. Bunların çoğunluğu yapısal proteinlerdir (vp.1, 2, 3, 6 ve 7). Serotip spesifik immün determinantlar ise dış protein kabukta yer alan vp.3 ve vp.7'dir. Serotipe spesifik nötralizan antikorlar ve immün cevap bu iki proteine karşı gelişir.

Rotavirüs insan yanında, çok sayıda memeli hayvanda da enfeksiyona neden olmaktadır. Ancak hayvan rotavirüslerinin insanda enfeksiyon oluşturduğunu gösteren bir delil henüz bulunamamıştır. En azından altı farklı insan rotavirüs serotipi tanımlanmıştır. Bunların içerisinde en sık rastlanan serotip 1, daha az sıklıkla da serotip 2 ve 3'dür.

Rotavirüs genellikle "weaning" döneminde, yani 6-24 ay arasında ağır gastroenteritlere neden olur. Bu dönemin sonunda hemen hemen bütün çocuklarda parsiyel bir immünite ortaya çıkar. Reenfeksiyonlar bundan sonra yaygın olarak görülür, ancak hafif veya subklinik seyreder.

Rotavirüsle karşı bağışıklık konusunda günümüzde hala anlaşılabilmiş konular olmasına karşın, genel olarak barsak mukozasında bulunan Ig A ve Ig G tipi antikorların koruyucu olduğu kabul edilmektedir. Yapılan çalışmalarda rotavirüs enfeksiyonundan sonra barsakta oluşan antikor cevabının aylarca devam ettiği ve reenfeksiyon sırasında anamnestic bir cevap olarak, hızlı bir antikor artışı olduğu gözlenmiştir. Klinik olarak reenfeksiyonların hafif seyretmesi de bu immünolojik bulguyu desteklemektedir. Yapılan çalışmalarda homotipik korunmayı sağlayan anti-vp.3 ve anti-vp.7 antikorlarının rolü oldukça iyi bir şekilde anlaşılırken, heterotipik korunma, yani kros-immünite için önemli olan anti-vp.6 (iç kapsid) antikorlarının önemi tam olarak saptanamamıştır.

Rotavirus Aşılı

Rotavirüsle karşı aşı geliştirmek için yapılan ilk çalışmalar Jennerian bir yaklaşımla başlamış, yani değişik hayvan rotavirüsleri atenué edilmiştir. Bunun en önemli nedeni insan rotavirüslerinin hücre kültürlerinde üretilmesinin güçlüğüdür. Bu amaçla iki sığır ve bir maymun rotavirüsü çok sayıda çalışmada denenmiştir.

Sığır rotavirus aşılı

NCDV (Nebraska Calf Diarrhea Virus)

insanlarda ilk denenilen rotavirus aşısı veterinerlikte geliştirilen NCDV suşudur. Virus ilk olarak ishali bir dananın gaitasından izole edilmiş ve sığır hücre kültürlerinde 200 kez pasajlanarak atenué edilmiştir. Bu aşı yeni doğmuş danalarda yapılan serokonversiyon çalışmalarında ümit verici sonuçlar vermişse de, saha çalışmalarında beklenen etki elde edilememiştir. İnsanlarda yapılan çalışmalarda da yeterli etkinlik gösterilemeyince, virus sığır hücreleri yerine, antijenik olarak insan hücrelerine daha çok benzeyen *Cercophiteus* maymununun böbrek hücrelerinde pasajlanmış ve elde edilen suşa RIT 4237 adlı verilmiştir. Aşı uygulanan 5-12 aylık bebeklerde % 50-70 serokonversiyon gözlenmiştir. Aşının mide asiditesinden ve anne sütündeki antikorlardan etkilenmesi nedeniyle, mama veya sulandırılmış inek sütü veya tampon ile verilmesi önerilmiştir. Finlandiya'da yapılan bir çalışmada aşının rotavirus gastroenteritini önlemede % 50 etkili olduğu gösterilmiş, ancak enfeksiyonun şiddetini azaltmadaki etkisi % 88 olarak bulunmuştur. Daha sonra Finlandiya ve A.B.D.'ndeki çalışmalarda da ümit verici sonuçlar alınmış, ancak gelişmekte olan ve geri kalmış ülkelerde yapılan araştırmalar bu sonuçları desteklememiştir.

WC3 aşısı

Bu aşı Pennsylvania'da ishali bir dananın gaitasından izole edilen bir sığır rotavirusunun CV I hücre kültürlerinde 12 kez pasajlanması ile elde edilmiştir. WC3 suşu NCDV'den antijenik fenotip, RNA elektrofentop ve primat eritrositlerinde hemaglutinasyon yapmaması yönleriyle farklılık gösterir. Infantlarda yapılan çalışmalarda yan etki gözlenmemiş, ancak NCDV gibi, bu aşıda da, gaitadan virus atılımı düşük bulunmuştur. WC3 suşuna karşı % 90 homotipik antikor cevabı yanında, insan serotip 3 rotavirusuna karşı da % 50 heterotipik antikor cevabı gözlenmiştir. Ancak her iki aşıda da en sık ishal görülen gelişmekte olan ülkelerde etkili olmamıştır. Bunun nedeni bu ülkelerde bakteriyel ishallerin daha sık olması veya serotip farklılığı olabilir.

Maymun rotavirus aşısı

Hayvan orijinli aşılardan üçüncüsü, ishali bir maymunun gaitasından izole edilen rhesus rotavirusunun FRhL-2 hücre kültürlerinde 16 kez pasajlanması ile geliştirilen rhesus rotavirus aşısı (RRV)'dir. Rhesus rotavirusunun nötralizan antijen fenotipi serotip 3 insan rotavirusu ile aynıdır. İnsanda ishale yol açmayan bu virus gaitadan % 50 oranında atılır. Sığır rotaviruslarından farklı olarak, bu aşı ile insanlarda % 90 serum antikor cevabı elde edilmiştir. Bu cevap daha çok serotip 3'e karşıdır, ancak heterolog antikor cevabı da ortaya çıkmaktadır. Ancak A.B.D. ve Finlandiya'da yapılan çalışmalarda yüksek oranda serolojik ve klinik koruyuculuk saptanması nedeniyle ortaya çıkan iyimser hava, gelişmekte olan ülkelerde elde edilen negatif sonuçlar nedeniyle yerini hayal kırıklığına bırakmıştır.

İnsan rotavirus aşısı (M37)

M37 insan rotavirus suşu Venezuela'da asemptomatik bir bebeğin gaitasından izole edilmiş ve hücre kültürlerinde kısmen yeterli üreme gösteren bu suşun insan serotip 1 rotavirusu ile vp.7, diğer insan suşları ile de vp.4 antijenik benzerliği olması nedeniyle hayvan rotaviruslarından daha iyi koruyuculuk sağlayacağı ümit edilmiştir. Ancak Venezuela ve Finlandiya'da yapılan çalışmalar bu aşının da beklenildiği kadar etkili olmadığını göstermiştir.

Monotipik reassortant aşılar

Hayvan rotaviruslarından geliştirilen aşılarla beklenildiği kadar heterotipik, insan rotaviruslarına karşı antikor cevabı elde edilemeyince, aşılamada insan rotaviruslarının kullanılması gerektiği konusunda fikir birliğine varılmıştır. Ancak insan rotaviruslarının hücre kültürlerinde kolay üretilmemesi, bu konuda en önemli problem olmuştur. Bu problemi halledebilmek için rotavirusların kültür ortamında birbirlerinden rastgele gen transferi yapabilme özelliği kullanılmıştır. Farklı rotaviruslar aynı kültür ortamında çoğalırken, birbirlerinden gen değişimi yapmakta ve ortaya her iki virustan da farklı, yeni bir "reassortant" virus çıkmaktadır. İlk olarak serotip 3 RRV ile, serotip I insan rotavirusu çaprazlanarak, yeni bir reassortant virus elde edilmiştir. Bu yeni virus hem serotip 1 insan rotavirusunun antijenik özelliklerini taşımaktadır, hem de RRV'nin hücre kültürlerinde kolay üreyebilme özelliklerine sahiptir (Şekil 1).

Bu aşı ile yapılan ilk çalışmada, serotip 3 RRV aşısı ile reassortant aşı (DxRRV, serotip 1) karşılaştırılmış, 3 rotavirus sezonu boyunca RRV aşısı ile % 65, DxRRV ile % 78 olarak bulunmuştur.

Kısa bir süre sonra geliştirilen DxRRV, serotip 2 aşısı Finlandiya'da yapılan bir çalışmada DxRRV, serotip 1 aşısı ile karşılaştırılmış, serotip 2 reassortant aşısı klinik cevap daha iyi olarak bulunmuştur. Ancak bu farklılığın toplumda daha yaygın olarak bulunan serotip I'e karşı antikorların anneden plasenta veya anne sütü ile geçip bebekteki aşı cevabını inhibe etmesine bağlı olma olasılığı yüksektir. Daha sonra Peru'da yapılan bir çalışmada da her iki reassortant aşının da rotavirus gastroenteritini önlemede etkili olmadığı bulunmuştur. Bu çalışmalar homotipik cevap ile heterotipik cevaptan hangisinin korunmada daha önemli olduğu sorusunu gündeme getirmiştir. Aşıların etkisi konusunda çelişkili sonuçlar bulunmasa rağmen, yine de homotipik cevabın daha önemli olduğu konusunda yaygın bir düşünce mevcuttur.

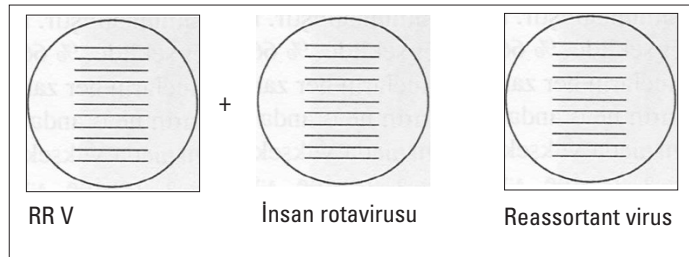
Tetralan aşılar

Monotipik aşılarla yeterli homotipik antikor cevabın elde edilememesi üzerine; serotip 1, serotip 2 ve serotip 4 reassortant insan rotavirus suşları ve tip 3 RRV kombine edilmiştir. A.B.D.'nde 23 eyalette yapılan geniş bir çalışmada 4 serotipe karşı da, % 70 civarında serokonversiyon elde edilmiştir. Peru'da yapılan çalışmada ise, tek dozla % 59 olan serokonversiyonun 2,3 ve 4. aylarda uygulanan 3 dozla % 75'e çıktığı gösterilmiştir. Ancak serotip 4'e karşı immünolojik cevap A.B.D. araştırmalarına göre düşük bulunmuştur.

Gelişmiş ülkelerde elde edilen bu sonuçlardan sonra tetralan aşı geliştirmekte olan ülkelerde de denenmiş, ancak daha önceki monotipik aşılarla olduğu gibi, beklenildiği kadar etkili bulunmamıştır. Ceyhan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada gelişmiş ülkelere benzer şekilde % 66 oranında immünolojik cevap elde edildiği bildirilmiştir. Ancak immünolojik sonuçların her zaman klinik korumayı yansıtmaması nedeniyle, elde edilen sonuçların ne oranda kliniğe yansıtılabileceği tartışmalıdır.

Bu aşı (Rotashield®) 6-26 haftalık bebeklere 4 hafta ara ile 3 kez oral uygulanmıştır (virus konsantrasyonu 4 x 100.000 pfu / doz). Aşının güvenilirliği, immünojenitesi ve etkinliği pek çok çalışmada incelenmiştir. Aşı yapılanların % 20'sinde RRV-TV aşısının ilk dozunun takip eden 3-4 günlerde 38-39°C ateş ve beraberinde huzursuzluk, iştahsızlık ortaya çıkmıştır. Bu aşının aynı ülkelerde yapılan saha araştırmalarında herhangi bir rotavirus gastroenteritinde etkinliği % 48-68 iken, ciddi hastalıklarda etkinliğinin % 64-91 olduğu bildirilmiştir. Anne sütü ile beslenmenin, RRV-TV aşısının etkinliğini azaltmadığı gösterilmiştir. RRV-TV aşısı difteri-boğmaca-tetanoz, oral polio, hepatit B ve Haemophilus influenza tip b aşıları gibi eş zamanlı çocukluk çağı aşılarına karşı gelişen immün cevabı etkilememiştir. Hastalık yükünü azaltmak için geliştirilen ve FDA'den onay alan aşı ABD'de rutin aşı takvimine girmiştir (31 Ağustos 1998). Aşı piyasaya verildikten sonra yapılan çalışmalarda aşıdan sonraki 2-3 hafta içinde invajinasyon vakalarında artma gözlenmiştir. Ağustos 1998 ve Temmuz 1999 tarihleri arasında yaklaşık 1.5 milyon aşılanan çocukta aşılama ile zamansal ilişki gösteren 21 invajinasyon vakası bildirilmiştir. Aşı uygulaması 15 Temmuz 1999'da durdurulmuş ve 15 Ekim 1999'da tüm aşılar piyasadan çekilmiştir. Rotavirus aşılarının risk ve yarar analizi invajinasyon yan etkisinin tartışmasını gerektirmektedir. Invajinasyon sağlıklı bebeklerde görülmektedir. CDC/FDA Aşı Yan Etki Takip programı da lisans sonrası RRV-TV aşı uygulaması sırasında invajinasyon sıklığında olası bir artış olduğunu tesbit etmiş ve takip eden kohort ve vaka kontrol çalışmaları ilk aşının 1-2. haftalarında 25 kattan fazla relatif risk ile bu ilişkiyi desteklemiştir. İlk olarak riskin 2500 aşıda 1 vaka olduğu bildirilirken, daha sonra 9474 aşıda 1 vaka olduğu hesaplanmıştır. Takip eden geniş kapsamlı epidemiyolojik çalışmalarda A.B.D.'nde aşı ile ilişkili invajinasyon vakalarında gerçek sıklığa göre bir artış görülmüştür. Bu gelişkinin nedeni invajinasyon riskinde artma aşıdan sonra ilk iki hafta içinde iken, daha sonra kontrol grubuna göre riskte önemli bir azalma saptanması olabilir. RRV-TV aşı dozlarını önerildiği gibi 2, 4, 6. aylarda alan çocuklarda invajinasyon absolü riski 1/11,000-16,000'dür. CDC'nin yeni vaka kontrol analizlerinde aşıdan sonra kısa dönem içinde görülen invajinasyon riskinde artışın 3. aydan sonra ilk doz aşısı alanlarda olduğu görülmüştür. Invajinasyon riski 3 aydan büyük bebeklerde 1. ve 2. aşılamadan sonra 3-7 günler arasında en yüksek olup, sırası ile 37.3 ve 3.8'dir. Aşı yenidoğan döneminde yapıldığında (0-1 ay) ise risk 32,000-59,000'de birdir. Aşılanmanın durdurulması nedeniyle risk yarar analizi geliştirmekte olan ülkelerde yapılamamıştır.

İkinci jenerasyon reassortant aşılarından biri sığır rotavirus serotipi (WC3) ve sık rastlanan dört insan rotavirus serotipini (G1, G2, G3, G4) ve en sık görülen P serotipini (P[8]) içermektedir (Rota-Teq®). Aşı 6-12. haftalardan başlayarak 4-10 hafta ara ile üç doz olarak yapılmaktadır. Bu beşli reassortant aşı gastrointestinal sistemde çok az çoğalmakta, yüksek dozda verildiğinde bebeklerin % 10'unun dışkıında tesbit edilmektedir. Yetmişbinden fazla çocuğun katıldığı saha çalışmalarında invajinasyon açısından güvenliği test edilmiş ve aşının iyi tolere edildiği, invajinasyon ile ilişkisi olmadığı görülmüştür. Gelişmiş ülkelerde rotavirus ishallerinde % 74, ciddi ishal ataklarına karşı % 94 koruyuculuk sağladığı görülmüştür. Prematüre bebeklerde de iyi tolere edildiği saptanmıştır. Aşının difteri, tetanoz, Hib, HBV ve konjuge pnömokok



Şekil 1. İnsan-maymun reassortant virusunun geliştirilmesi

pnömokok aşılı ile eş zamanlı yapıldığında etkinlikte değişikliğe yol açmadığı bildirilmiştir. Rotateq® Şubat 2006'da ABD Gıda ve İlaç Uygulamaları tarafından lisans almıştır ve 2 hafta sonra CDC-ACIP (ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri'nin Bağışıklama Uygulamaları Danışma Komitesi) tarafından ABD'de rutin çocukluk çağı aşılamalarında önerilmiştir.

Son dönemde kullanıma giren bir başka aşı da G1 insan rotavirus suşu bulunduğu monovalan attenüe P[8]G1 (Rotarix®) aşısıdır. Üç aydan küçük bebeklerde yapılan geniş kapsamlı güvenlik çalışmalarında aşının ateş, kusma, ishal ya da diğer enterik enfeksiyonlarda artışa yol açmadığı görülmüştür. Finlandiya'da yapılan çalışmalarda güvenilir, immunojenik ve etkin olduğu görülmüştür. Latin Amerika'da yapılan faz II klinik çalışmalarda herhangi bir rotavirus ishaline karşı % 70-85 etkinlik, şiddetli ishale karşı % 85-93 etkinlik olduğu gösterilmiştir. Gelişmiş ülkelerde herhangi bir gastroenterit atağında etkinliği % 73 iken, şiddetli ishalde etkinliği % 90 olarak bildirilmiştir. Latin Amerika'da yapılan bir çalışma da Rotarix aşısının tek G ve P serotipini taşımakla birlikte, özellikle G9'a karşı koruyucu olduğu (% 83) görülmüştür. Rotarix® insan türü olması nedeni ile, daha fazla ve daha uzun süre dışkı ile atılması beklenmektedir. Aşılananların % 50'sinde birinci dozdan sonra virus atılımı görülmektedir. Rotavirus aşısının herhangi bir nedene bağlı ishalleri hastalıklarda hastaneye yatışı da % 41 azalttığı bildirilmiştir. Oniki Latin Amerika ülkesi ve Finlandiya'da yapılan plasebo kontrollü güvenilirlik çalışmasında (63.000 bebek içeren) aşının invajinasyona neden olmadığı gösterilmiştir. Rotarix® DTB, IPV, Hib, HBV, OPV aşıları ile eş zamanlı yapıldığında etkinlikte değişiklik olmadığı görülmüştür. Rotarix® ilk olarak Meksika'da (2004 yılında) ve sonra 35'ten fazla ülkede ve Avrupa Birliği'nde lisans almıştır.

Yeni aşı yaklaşımları

Vp.7 spesifik serotiplerle yapılan çalışmaların yanında A.B.D.'nde bir grup, vp. 4 spesifik serotiplerin etkinliği üzerinde çalışmaktadır. Bu amaçla, rotavirusların yeni bir sınıflaması da geliştirilmiştir. Ancak henüz vp. 4'ün homotipik cevapta ne kadar önemli olduğu bilinmemektedir. Diğer bir yeni yaklaşım da, boş rotavirus kapsidlerinin subunit aşısı olarak kullanılmasıdır. Bu konudaki çalışmalar devam etmektedir. Ancak maliyetin yüksekliği, subunit aşıları için önemli bir handikap oluşturmaktadır.

Sonuç olarak rotavirus önemli bir sağlık sorunudur ve daha fazla epidemiyolojik bilgiye ihtiyaç vardır. Bütün dünyada her yıl milyonlarca çocuğun ölümüne neden olan rotavirus ishalinin önlenmesi için etkin bir aşı geliştirme çabaları devam etmektedir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda karşılaşılan en önemli problem gelişmiş ülkelerde elde edilen iyi sonuçların gelişmekte olan ve geri kalmış ülkelerde yapılan çalışmalarla desteklenememesidir. Ancak % 50 civarında etkili bir aşının bile yaygın olarak kullanılması yılda en az 250,000 çocuğu ölümden kurtaracaktır.

Kaynaklar

1. Barnes GL, Lund JS, Adams L, Mora A, Mitchell SV, Caples A, Bishop RF. Phase 1 trial of a candidate rotavirus vaccine (RV3) derived from a human neonate. *J Paediatr Child Health* 1997;33:300-304.
2. Barnes GL, Bishop RF. Rotavirus infection and prevention. *Curr Opin Pediatr* 1997;9:19-23.
3. Bernstein DI, Smith VE, Sander DS, Pax KA, Schiff GM, Ward RL. Evaluation of WC3 rotavirus vaccine and correlates of protection in healthy infants. *J Infect Dis* 1990;162:1055-1062.
4. Block SL, Vesikari T, Goveia MG, Rivers SB, Adeyi BA, Dallas MJ, Bauder J, Boslego JW, Heaton PM. Efficacy, immunogenicity, and safety of a pentavalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine at the end of shelf life. *Pediatrics* 2007;119:11-18.
5. Ceyhan M, Kanra G, Yeniay I, Ciliv G, Vesikari T. Rotaviruses in infants with diarrhea studied by viral RNA electrophoresis in Ankara, Turkey. *Turk J Pediatr* 1987;29:145-149.
6. 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;82:223-227.
7. 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;11:991-996.
8. Dennehy PH. A short report on the highlights of world-wide development of RIX4414: a North American experience comparative evaluation of safety and immunogenicity of two dosages of an oral live attenuated human rotavirus vaccine (RIX4414) in infants in the United States and Canada. *Vaccine* 2006;24:3780-3781.
9. Glass RI, Gentsch JR, Ivanoff B. New lessons for rotavirus vaccines. *Science* 1996;272:46-48.
10. Glass RI, Bresee JS, Turcios R, Fischer TK, Parashar UD, Steele AD. Rotavirus vaccines: targeting the developing world. *J Infect Dis* 2005;192 Suppl 1:S160-S166.
11. 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;1:1342-1345.
12. Joensuu J, Koskenniemi E, Pang XL, Vesikari T. Randomised placebo-controlled trial of rhesus-human reassortant rotavirus vaccine for prevention of severe rotavirus gastroenteritis. *Lancet* 1997;350:1205-1209.
13. Kapikian AZ, Hoshino Y, Chanock RM, Perez-Schael I. Jennerian and modified Jennerian approach to vaccination against rotavirus diarrhea using a quadrivalent rhesus rotavirus (RRV) and human-RRV reassortant vaccine. *Arch Virol Suppl* 1996;12:163-175.
14. Keusch GT, Cash RA. A vaccine against rotavirus--when is too much too much? *N Engl J Med* 1997;337:1228-1229.
15. Lanata CF, Black RE, Flores J, Lazo F, Butron B, Linares A, Huapaya A, Ventura G, Gil A, Kapikian AZ. Immunogenicity, safety and protective efficacy of one dose of the rhesus rotavirus vaccine and serotype 1 and 2 human-rhesus rotavirus reassortants in children from Lima, Peru. *Vaccine* 1996;14:237-243.
16. Perez-Schael I. The impact of rotavirus disease in Venezuela. *J Infect Dis* 1996;174 Suppl 1:S19-S21.
17. van d, V, Pant N, Wolvers D, Bezemer S, Hermans PV, Bellamy K, Sarker SA, van der Logt CP, Svensson L, Verrips CT, Hammarstrom L, van Klinken BJ. Reduction in morbidity of rotavirus induced diarrhoea in mice by yeast produced monovalent llama-derived antibody fragments. *Vaccine* 2006;24:4130-4137.
18. Vesikari T, Varis T, Green K, Flores J, Kapikian AZ. Immunogenicity and safety of rhesus-human rotavirus reassortant vaccines with serotype 1 or 2 VP7 specificity. *Vaccine* 1991;9:334-339.
19. Vesikari T. Rotavirus vaccines against diarrhoeal disease. *Lancet* 1997;350:1538-1541.
20. Vesikari T, Matson DO, Dennehy P, Van DP, Santosham M, Rodriguez Z, Dallas MJ, Heyse JF, Goveia MG, Black SB, Shinefield HR, Christie CD, Ylitalo S, Itzler RF, Coia ML, Onorato MT, Adeyi BA, Marshall GS, Gofhefors L, Campens D, Karvonen A, Watt JP, O'Brien KL, DiNubile MJ, Clark HF, Boslego JW, Offit PA, Heaton PM. Safety and efficacy of a pentavalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine. *N Engl J Med* 2006;354:23-33.
21. Vesikari T, Clark HF, Offit PA, Dallas MJ, DiStefano DJ, Goveia MG, Ward RL, Schodel F, Karvonen A, Drummond JE, DiNubile MJ, Heaton PM. Effects of the potency and composition of the multivalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine on efficacy, safety and immunogenicity in healthy infants. *Vaccine* 2006;24:4821-4829.
22. Vesikari T, Karvonen A, Puustinen L, Szakal ED, Zeng SQ, Delem A, De VB. A short report on highlights of world-wide development of RIX4414: an European experience. *Vaccine* 2006;24:3779.
23. Vesikari T, Karvonen AV, Majuri J, Zeng SQ, Pang XL, Kohberger R, Forrest BD, Hoshino Y, Chanock RM, Kapikian AZ. Safety, Efficacy, and Immunogenicity of 2 Doses of Bovine-Human (UK) and Rhesus-Rhesus-Human Rotavirus Reassortant Tetravalent Vaccines in Finnish Children. *J Infect Dis* 2006;194:370-376.