

Aus dem Institut für Virologie
der Universität zu Köln
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. F. Klein

**Molekulare Charakterisierung und klinische
Beschreibung von
Nicht-Polio-Enteroviren in Stuhlproben von
HIV-positiven
und HIV-negativen Ghanaern**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Universität zu Köln

vorgelegt von
Kristina Weimer

promoviert am 14. Juni 2023

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität zu Köln

2023

Dekan: Universitätsprofessor Dr. med. G. R. Fink

1. Gutachter: Universitätsprofessor Dr. med. F. Klein
2. Gutachterin: Privatdozentin Dr. med. N. Jazmati

Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich Unterstützungsleistungen von folgenden Personen erhalten:

Universitätsprofessor Dr. med. Florian Klein, Dr. med. Veronica Di Cristanziano, Dr. rer. nat. Sindy Böttcher, Prof. Fred Stephen Sarfo, Dr. Albert Dompreeh, Dr. Lucio-Garcia Cesar, Dr. rer. nat. Elena Knops, Dr. rer. nat. Eva Heger, Maike Wirtz, Dr. rer. nat. Rolf Kaiser, Dr. Betty Norman, Prof. Richard Odame Phillips, Dr. med. Torsten Feldt, Dr. med. Kirsten Alexandra Eberhardt und Christina Hellrigel.

Weitere Personen waren an der Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe einer Promotionsberaterin/eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertationsschrift stehen.

Die Dissertationsschrift wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Die dieser Arbeit zugrundeliegenden klinischen Daten und der laborchemische Nachweis von HIV einschließlich der CD4-Zahlen wurden ohne meine Mitarbeit am Komfo Anokye Teaching Hospital in Kumasi, Ghana erhoben.

Der laborchemische Virusnachweis von Entero-, Noro-, Adeno-, Rota-, Astro- und Sapoviren in den Proben der 352 in die Arbeit eingeschlossenen Patienten wurde nach entsprechender Anleitung durch Frau Christina Hellrigel von mir selbst durchgeführt.

Der Nachweis von Casoviren, sowie die Sequenzierung der viralen Genome und die phylogenetische Zuordnung zu den enteroviralen Subgruppen erfolgte am Robert Koch Institut in Berlin durch Dr. rer. nat. Sindy Böttcher.

Die weitergehende Auswertung der gewonnenen Daten wurde, begleitet von beratenden Gesprächen mit den genannten Koautoren, von mir selbst durchgeführt.

Die statistische Analyse vollzog ich in Zusammenarbeit mit Dr. med. Kirsten Alexandra Eberhardt vom Bernhard-Nocht-Institut (BNI, Hamburg).

Erklärung zur guten wissenschaftlichen Praxis:

Ich erkläre hiermit, dass ich die Ordnung zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten (Amtliche Mitteilung der Universität zu Köln AM 132/2020) der Universität zu Köln gelesen habe und verpflichte mich hiermit, die dort genannten Vorgaben bei allen wissenschaftlichen Tätigkeiten zu beachten und umzusetzen.

Köln, den 28.09.2022

Unterschrift: 

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen beteiligten Personen meinen großen Dank aussprechen, die mich bei der Anfertigung meiner Dissertation unterstützt haben.

Ich möchte mich beim gesamten Team des Instituts für Virologie, sowie bei den Mitarbeitern des Robert Koch Instituts für die freundschaftliche Arbeitsatmosphäre, die vielen wertvollen Anregungen und die stete Hilfsbereitschaft bedanken.

Besonders danke ich Universitätsprofessor Dr. med. Florian Klein und Dr. med. Veronica Di Cristanziano, die mir diese Arbeit erst ermöglichten. Frau Dr. med. Di Cristanziano hat durch ihre freundliche Art und ihre hervorragende Betreuung, sowie Diskussions- und Hilfsbereitschaft einen wesentlichen Anteil zu dieser Arbeit beigetragen.

Mein Dank gilt nicht zuletzt meinem Ehemann und meiner Familie, die mich während meines gesamten Studiums unterstützten.

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	7
1. ZUSAMMENFASSUNG	10
2. EINLEITUNG	13
2.1 Enteroviren	13
2.1.1. Epidemiologie	13
2.1.2. Proteinkapsid	15
2.1.3. Genom	16
2.1.4. Replikation	17
2.2 HIV	17
2.2.1. HIV in Ghana	18
2.3 Virale gastrointestinale Co-Infektionserreger	18
2.3.1. Noroviren	18
2.3.2. Adenoviren	19
2.3.3. Rotaviren	19
2.3.4. Astroviren	20
2.3.5. Sapoviren	20
2.3.6. Cosaviren	20
2.3.7. Virale gastrointestinale Infektionserreger in Subsahara-Afrika	21
2.4 Fragestellungen und Ziel der Arbeit	21
3. PUBLIKATION	23
4. DISKUSSION	36
4.1 Epidemiologische Situation	36
4.2 EV-Genotypen	37
4.3 Fazit	39
4.4 Limitationen	40
5. LITERATURVERZEICHNIS	41

6.	ANHANG	47
6.1	Abbildungsverzeichnis	47

Abkürzungsverzeichnis

Å	Ångström
AdV/ AdVs	Adenovirus / Adenoviren
AFM	acute flaccid myelitis
AFP	acute flaccid paralysis
AIDS	acquired immune deficiency syndrome
ART	antiretrovirale Therapie
CD4	cluster of differentiation 4
CoSV / CoSVs	Cosavirus / Cosaviren
Da	Dalton
DNA	deoxyribonucleic acid
ENPEN	Non-Polio-Enterovirus-Netzwerk
EV / EVs	Enterovirus / Enteroviren
GCS	Glasgow Coma Scale
Ggf.	Gegebenenfalls
GPEI	Global Polio Eradication Initiative
HFMD	Hand-, Fuß- und Mundkrankheiten
HAstV / HAstVs	Astrovirus / Astroviren
HIV	humanes Immundefizienz-Virus
IRES	internal ribosomal entry site
Kb	Kilobasen
NoV / NoVs	Norovirus / Noroviren
NPEV	Nicht-Polio-Enteroviren
PABP	Poly(A)-bindendes Protein
PCR	polymerase chain reaction

PLHIV	people living with HIV
PV / PVs	Poliovirus / Polioviren
RNA	ribonucleic acid
RT-PCR	reverse transcription polymerase chain reaction
RV / RVs	Rotavirus / Rotaviren
SaV / SaVs	Sapovirus / Sapoviren
ssRNA	single-stranded RNA
EE	Umwelt-Enteropathie
UNAIDS	United Nations Programme on HIV/AIDS
UTR	untranslatierte Region
VP	Virusprotein
VPg	viral protein genome-linked
WHO	World Health Organisation

Aus Gründen der besseren Lesbarkeit wird in der vorliegenden Arbeit stets das generische Maskulinum verwendet, wenn ein Oberbegriff gemeint ist (z.B. Patient) und sofern es sich nicht um Zitate handelt. Als Oberbegriff verwendete maskuline Bezeichnungen schließen also ebenfalls weibliche Personen mit ein.

1. Zusammenfassung

Enteroviren (EVs) kommen weltweit vor und werden hauptsächlich über den fäkal-oralen-Weg, über Tröpfcheninfektionen oder den direkten Kontakt/ kontaminierte Oberflächen übertragen^{1,2}. Sie zählen aufgrund ihrer frühen Entdeckung in den 1950er Jahren und ihrer leichten Vermehrung in Zellkulturen zu den am besten untersuchten menschlichen Viren³. Die bekanntesten Mitglieder von EVs sind die drei Poliovirus (PV)-Typen, die Erreger der paralytischen Poliomyelitis, einer Infektionskrankheit, die durch eine akute schlanfe Lähmung (AFP) gekennzeichnet ist und hauptsächlich Kinder unter 5 Jahren betrifft⁴.

Nach der Polioeradikation wird der Entdeckung und Charakterisierung von Nicht-Polio-Enteroviren (NPEV) weltweit zunehmend Aufmerksamkeit gewidmet^{5,6}. Die Erkenntnisse über die globale Prävalenz von EVs sind wichtig, um ihre klinische Bedeutung und die Gesamtkrankheitslast zu definieren und bei therapeutischen Entscheidungen zu helfen⁷.

Obwohl EV-Infektionen meistens asymptomatisch verlaufen, zeigen die verfügbaren Daten ein hohes pathogenes Potenzial und es werden weltweit EV-Typen als Ursachen für schwere Erkrankungen sowohl in Einzel-, als auch in epidemischen Fällen nachgewiesen⁸⁻¹⁶. Alter, Geschlecht und Immunstatus können das klinische Erscheinungsbild und den Schweregrad der Infektion beeinflussen¹⁷.

Mit über 100 Serotypen stellen NPEVs ein erhebliches Problem für die öffentliche Gesundheit dar, insbesondere seit EV-D68, EV-A71 und Echovirus-30 (E-30) als Ursache für neurologische Komplikationen - einschließlich AFP, akute schlanfe Myelitis (AFM) und Hirnstamm-Enzephalitis - bei Kindern bekannt geworden sind. Im Allgemeinen wurden EV-D68, EV-A71 und E-30 in mit klinischen Manifestationen wie Atemwegserkrankungen (EV-D68), Hand-, Fuß- und Mundkrankheiten (HFMD, EV-71) und sporadischen Fällen von aseptischer Enzephalitis (E-30) in Verbindung gebracht. Seit 2014 wird jedoch auch EV-D68 als Ursache für AFM-Epidemien gemeldet, EV-A71 verursachte 2017 einen Ausbruch von Hirnstammenzephalitis und seit 2018 wird in ganz Europa ein Anstieg von E-30 beobachtet, auch im Zusammenhang mit Meningitisausbrüchen, die mit Langzeitfolgen verbunden sind.¹⁸

Daten aus afrikanischen Ländern zeigten, dass auch bei scheinbar gesunden Personen eine Vielzahl von EV-Stämmen im Umlauf sind¹⁹⁻²¹. Unterernährung und unzureichende Wasserversorgung, Abwasserentsorgung und Hygiene spielen vermutlich eine entscheidende Rolle bei der Verbreitung von Enteroviren²².

Die Erschöpfung von CD4+ T-Lymphozyten und die damit verbundene Beeinträchtigung des Immunsystems machen HIV-Patienten (Humanes Immundefizienz-Virus) anfälliger für andere Infektionen und für die Entwicklung schwererer Erkrankungen²³. Es wird berichtet, dass Co-Infektionen mit enterischen parasitären Infektionen das Fortschreiten von HIV zum erworbenen Immunschwächesyndrom (AIDS) beschleunigen²⁴. Die Auswirkungen von Darmviren bei

HIV-Infizierten in einkommensschwachen Ländern sind nur unzureichend untersucht. Sie gelten jedoch als relevante Ursache für eine zunehmende Morbidität²⁵. Ferner war das Fortschreiten einer HIV-Infektion mit einer Ausbreitung des Darmviroms verbunden^{26,27}.

In Ghana leben schätzungsweise 300.000 Menschen mit HIV / AIDS und nur 70.000 von ihnen sollen Zugang zu einer antiretroviralen Therapie haben (ART)²⁸.

In unserer vorliegenden Kohorte wurden 352 Stuhlproben analysiert, um den Zusammenhang zwischen einem positiven HIV-Status und einem höheren Risiko einer Co-Infektion mit EVs und anderen viralen gastrointestinalen Co-Infektionserregern zu untersuchen. Es wurden 40 von 352 Stuhlproben positiv auf Enteroviren getestet, was einer Nachweisrate von 11,4 % entspricht. Die Mehrheit der Stämme wurde dem EV C (29/39) zugeordnet, die oft als die häufigste in Afrika südlich der Sahara zirkulierende Gruppe beschrieben wird^{29,30}. Innerhalb dieser Spezies waren CVA20 und EV-C99 die in unserer Kohorte am häufigsten identifizierten Serotypen. Obwohl beide Serotypen von AFP-Patienten isoliert wurden, wurden sie häufiger bei scheinbar gesunden Menschen identifiziert^{20,21,29,31}. Die Beobachtung, dass in unserer Kohorte nur PLHIV (people living with HIV) mit selten zirkulierenden Serotypen infiziert wurden, stellt einen neuen Hinweis dar, dessen Bedeutung weiter untersucht werden muss. Die Beeinträchtigung der gastrointestinalen Immunität, die durch HIV induziert wird, könnte eine mögliche Erklärung sein.

In Übereinstimmung mit diesem Ergebnis konnten neben der Infektion mit EVs fast ausschließlich bei HIV-positiven Patienten auch Infektionen mit anderen enterischen viralen Erregern gefunden werden. Es ist interessant, dass der Nachweis von CoSV (Cosavirus)-Infektionen bei EV-positiven Personen (6/40, 15 %) im Vergleich zu den wenigen verfügbaren Daten anderer Kohorten von Erwachsenen eher höher war. In der vorliegenden Kohorte ist der fast ausschließliche Nachweis von anderen viralen enterischen Erregern bei Enterovirus-positiven HIV-Infizierten ein Hinweis auf eine veränderte Immunität der Darmschleimhaut bei dieser Patientengruppe. Die Assoziation der CD4+ T-Zellzahl bei HIV-positiven Personen mit verschiedenen EV-Spezies stellt einen neuen Aspekt unserer Studie dar. Ein weiterer bemerkenswerter Aspekt dieser Studie ist die Beobachtung, dass eine Co-Infektion mit CoSV signifikant häufiger bei Enterovirus-infizierten PLHIV mit CD4+ T-Zellzahlen unter 200 Zellen/L auftritt, was auf die mögliche Rolle von CoSV als opportunistisches Agens hinweist. Insgesamt liefert die vorliegende Studie die ersten Daten über EVs und zusätzliche enterische Co-Infektionen bei HIV-positiven und HIV-negativen Erwachsenen in Ghana. Obwohl Infektionen mit EVs bei PLHIV nicht häufiger auftraten, wurde eine höhere Diversität von EVs, einschließlich seltener und zoonotischer Typen überwiegend bei HIV-positiven Personen mit einer niedrigen CD4+ T-Zellzahl nachgewiesen. Infektionen mit zusätzlichen enterischen Viren wurden fast ausschließlich bei HIV-infizierten Personen gefunden, was die schädliche Wirkung von HIV auf die Darmhomöostase bestätigt. Da eine verlängerte Enterovirus-Ausscheidung ein Biomarker für eine

defekte Immunabwehr gegen Enteroviren sein könnte, wäre es von Interesse, ob HIV-positive Personen, die mit EVs infiziert sind, eine verlängerte Ausscheidung desselben Serotyps in aufeinanderfolgenden Stuhlproben aufweisen. Daher sind weitere Längsschnittstudien erforderlich, um umfassendere Erkenntnisse über die Rolle solcher Viren auf die Darmhomöostase zu gewinnen.

2. Einleitung

2.1 Enteroviren

Die Gattung der EVs gehört zur Familie der Picornaviridae und zählt aufgrund ihrer frühen Entdeckung in den 1950er Jahren und ihrer leichten Vermehrung in Zellkulturen zu den am besten untersuchten menschlichen Viren ³.

Der Name Picorna setzt sich aus *pico* (klein) und -rna (RNA-Genom) zusammen ³².

Bisher wurden mehr als 100 verschiedene EV Serotypen identifiziert, die aufgrund ihrer Genetik in 15 Spezies eingeteilt werden. Zu den humanpathogenen Arten gehören die Gruppe Enterovirus A - D und Rhinovirus A - C ^{3,33}.

Die bekanntesten Mitglieder von EVs sind die drei PV-Typen, die der Spezies EV C zugeordnet werden ⁴.

2.1.1. Epidemiologie

EVs kommen weltweit vor und werden hauptsächlich über den fäkal-oralen-Weg, über Tröpfcheninfektionen oder den direkten Kontakt/ kontaminierte Oberflächen übertragen ^{1,2}.

PVs sind die Erreger der paralytischen Poliomyelitis, einer Infektionskrankheit, die durch eine AFP gekennzeichnet ist und hauptsächlich Kinder unter 5 Jahren betrifft ⁴. Der Erfolg der Global Polio Eradication Initiative (GPEI) hat die Verbreitung von Wild-Poliioviren drastisch reduziert ³⁴. Die GPEI begann 1988, nachdem alle WHO-Mitgliedstaaten auf der Weltgesundheitsversammlung einstimmig beschlossen hatten die weltweite Ausrottung der endemischen Poliomyelitis zu unterstützen, einem Jahr, in dem noch 125 Länder weltweit über das Auftreten der endemischen Poliomyelitis berichteten. Seit Beginn der Initiative besteht die wichtigste Strategie zur Feststellung der Übertragung des Poliovirus und zur Überwachung der Auswirkungen der Ausrottungsmaßnahmen in der Überwachung von Kindern unter 15 Jahren die eine AFP aufweisen, dem Leitsymptom der paralytischen Poliomyelitis. Seither sind beeindruckende Fortschritte erzielt worden und die GPEI steht kurz vor dem Ziel der weltweiten Ausrottung ³⁵. Allerdings werden aus Afghanistan und Pakistan immer noch endemische Fälle gemeldet, die ein globales Risiko der Wiedereinschleppung des PV darstellen ¹⁸.

Nach der Polioeradikation wird der Entdeckung und Charakterisierung von NPEV weltweit zunehmend Aufmerksamkeit gewidmet ^{5,6}. Die Erkenntnisse über die globale Prävalenz von EVs sind wichtig, um ihre klinische Bedeutung und die Gesamtkrankheitslast zu definieren und bei therapeutischen Entscheidungen zu helfen ⁷.

Daten aus afrikanischen Ländern zeigten, dass auch bei scheinbar gesunden Personen eine Vielzahl von EV-Stämmen im Umlauf sind und auch in anderen afrikanischen Ländern wurde

eine große Vielfalt an EVs beobachtet, welche gesunde Personen infizierten¹⁹⁻²¹. Unterernährung, unzureichende Wasserversorgung, Abwasserentsorgung und Hygiene spielen vermutlich eine entscheidende Rolle bei der Verbreitung von EVs²².

Obwohl EV-Infektionen meistens asymptomatisch verlaufen, zeigen die verfügbaren Daten ein hohes pathogenes Potenzial. Es wurden weltweit EV-Typen als Ursachen für schwere Erkrankungen sowohl in Einzel-, als auch in epidemischen Fällen nachgewiesen⁸⁻¹⁶.

Im Rahmen der Polioüberwachung wurden verschiedene NPEV von Patienten isoliert, die an AFP erkrankt sind⁵. Ein 22-jähriger, zuvor gesunder Mann, stellte sich in Großbritannien mit produktivem Husten und Fieber (bis zu 38 °C) vor. Er litt unter Kopfschmerzen, Sehstörungen und Schwäche der Gesichtsmuskulatur. Nach zwei Tagen sank sein GCS (Glasgow Coma Scale) von 15 auf 10 und er entwickelte eine globale schlaffe Lähmung mit Anzeichen einer bulbären Lähmung. Mit Hilfe der RT-PCR (reverse transcription polymerase chain reaction) konnte EV-D68 in der bronchoalveolären Lavage des Patienten nachgewiesen werden³⁶.

Auch sind andere klinische Formen von mildem fieberhaftem Infekt, über respiratorische Infekte, bis aseptischer Meningitis und Enzephalitis bekannt^{37,38}. Alter, Geschlecht und Immunstatus können das klinische Erscheinungsbild und den Schweregrad der Infektion beeinflussen¹⁷.

Mit über 100 Serotypen stellen NPEVs ein erhebliches Problem für die öffentliche Gesundheit dar, insbesondere seit EV-D68, EV-A71 und Echovirus-30 (E-30) als Ursache für neurologische Komplikationen, einschließlich AFP, AFM und Hirnstamm-Enzephalitis, bei Kindern bekannt geworden sind. Im Allgemeinen wurden EV-D68, EV-A71 und E-30 mit klinischen Manifestationen wie Atemwegserkrankungen (EV-D68), HFMD (EV-71) und sporadischen Fällen von aseptischer Enzephalitis (E-30) in Verbindung gebracht. Seit 2014 wird jedoch auch EV-D68 als Ursache für AFM-Epidemien gemeldet. EV-A71 verursachte 2017 einen Ausbruch von Hirnstammenzephalitis und seit 2018 wird in ganz Europa ein Anstieg von E-30 beobachtet, auch im Zusammenhang mit Meningitisausbrüchen, die mit Langzeitfolgen verbunden sind¹⁸. In Europa wurde das Non-Polio-Enterovirus-Netzwerk (ENPEN) eingerichtet, um Daten zu schweren EV-Infektionen zu sammeln und die Verbreitung von EV-Typen zu überwachen³⁹. In Subsahara-Afrika stammen die begrenzten Daten zu EV-Infektionen hauptsächlich aus der AFP-Überwachung^{15,40,41}.

In einem 2021 veröffentlichten Artikel von Brouwer et al. wurden die Ergebnisse der Prävalenz und der Verteilung von EV-Typen aus 153 eingeschlossenen Studien zusammengefasst. EV B war die am häufigsten nachgewiesene Spezies, während die anderen kontinentspezifische Unterschiede aufwiesen, wobei EV C mehr in Afrika und EV A mehr in Asien nachgewiesen wurde.⁷

Echovirus 30 war bei weitem der am häufigsten nachgewiesene Typ, insbesondere in Studien, die in Europa durchgeführt wurden^{42,43}. EV-Typen der Art EV B, einschließlich Echovirus 30,

wurden häufig in Patientengruppen mit neurologischen Infektionen und in Liquor nachgewiesen⁴²⁻⁴⁵, während EV C-Typen häufig in Stuhlproben gefunden wurden^{46,47}. Insgesamt war die Bandbreite der in den Studien berichteten Prävalenz groß und reichte von 0 % in einer portugiesischen Studie, mit respiratorischen Proben von älteren Menschen mit akuten Atemwegsinfektionen⁴⁸, bis zu 89,9 % in einer malawischen Kohorte, die aus Kindern unter 5 Jahren mit und ohne Anämie bestand²⁹.

Die mediane Prävalenz, gewichtet nach der Anzahl der in den einzelnen Studien untersuchten Proben, betrug 6,3 % (IQR 3,2-8,1%). Die mediane EV-Prävalenz in den verschiedenen Kontinenten reichte von 2,4 % (in Südamerika) bis 6,2 % (in Europa).⁷

2.1.2. Proteinkapsid

Die Familie der Picornaviren sind unbehüllte ikosaedrische Partikel mit einem Durchmesser von ca. 15- 30 nm, denen eine äußere Lipidschicht oder -hülle fehlt. Die Einzelsträngige (+) RNA im Inneren hat ein Molekulargewicht von $2,58 \times 10^6$ Da. Die RNA macht etwa 30 % und die Proteinhülle etwa 70 % des Gewichts des Virus aus. Das Proteinkapsid besteht aus 60 Untereinheiten (Protomere), die jeweils aus 4 Strukturproteinen (Polypeptide) bestehen, VP1, VP2, VP3 und VP4. Letzteres befindet sich auf der Innenseite der Kapsel und interagiert mit dem Genom. Vereinzelt kommt auch VP0 vor, was den Vorläufer von VP2 und VP4 darstellt.^{2,32,49}

Die mutmaßliche virale Rezeptorbindungsstelle wurde auf der Oberfläche des Virions identifiziert und erscheint als Depression oder Canyon zwischen den Strukturproteinen VP1, VP2 und VP3 mit einer Tiefe von 25 Å, was kleiner als der 35 Å messende Durchmesser eines Fab-Fragments eines Antikörpermoleküls ist. Es wird daher angenommen, dass die Neutralisierung des Virus nicht die Blockierung der Rezeptorbindungsstelle beinhaltet.⁵⁰

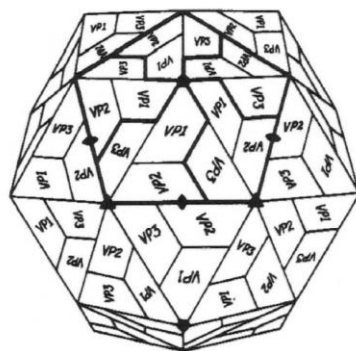


Abbildung 1: Schematische Darstellung der ikosaedrischen Kapsidhülle

Abbildung übernommen aus Rossmann MG, Arnold E, Erickson JW, Frankenberger EA, Griffith JP, Hecht H-J, Johnson JE, Kamer G, Luo M, Mosser AG, Rueckert RR, Sherry B, Vriend G (1985). Structure of a human common cold virus and functional relationship to other picornaviruses. *Nature*. 317(6033): 145-53

2.1.3. Genom

Das virale Genom enthält ein einzelnes offenes Leseraster mit 3 funktionellen Bereichen. Eine untranslatierte Region (UTR) am 5'- und 3'-Ende, einschließlich des 3'-Poly(A)-Schwanzes, sowie den kodierenden Bereich (P1, P2 und P3). Das virale Genom besitzt am 5'-Ende keine Kappe, stattdessen ist dieses kovalent an das virale Protein VPg (viral protein genome-linked) gekoppelt, welches bei der RNA-Replikation als Primer verwendet wird. Die 5'-UTR enthält eine interne ribosomale Eintrittsstelle (IRES), die Cap-unabhängige Translation vermittelt und für die Bindung der Ribosomen an das virale RNA-Genom notwendig ist. Mutationen in diesem Sequenzbereich können die Virulenz, sowie die Translatierbarkeit beeinflussen. Die Virusproteine können durch die Plus-Strang-Orientierung ohne Zwischenschritt von der RNA translatiert werden. Insgesamt ist die Organisation des offenen Leserasters bei allen Picornaviren ähnlich, aber es gibt einige Unterschiede zwischen den Gattungen. Im Fall der EVs kodiert der offene Leseraster für ein Polyprotein, das Abschnitte für Strukturproteine (VP1-4 und ggf. VP0) in der P1-Region enthält. Der Bereich P2 und P3 kodiert für die nicht-strukturellen Proteine (2A - 2C, sowie 3A - 3C). P2 ist wichtig für die Anpassung des Virus an den Zellstoffwechsel. Aus P3 werden die enzymatisch aktiven Komponenten und weitere nicht-strukturelle Proteine gebildet. Das Polyprotein wird zu den viralen Proteinen und den Vorstufen durch die viralen Proteasen 2A^{pro} und 3C^{pro} prozessiert (Abbildung 2).^{32,51}

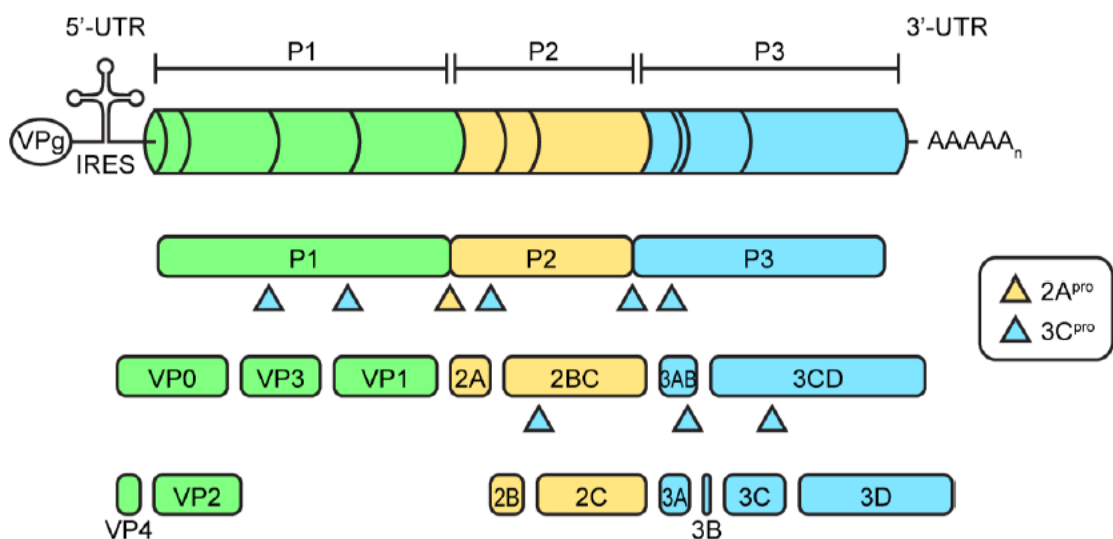


Abbildung 2: Enterovirus Genom

Abbildung übernommen aus Linden LVd, Wolthers KC, Van Kuppeveld FJM (2015). Replication and Inhibitors of Enteroviruses and Parechoviruses. 7(8): 4529-62

2.1.4. Replikation

Der Replikationszyklus wird durch die Bindung des Virus an die Wirtszelle und anschließende Internalisierung (Endozytose) eingeleitet. Anschließend erfolgt die Freisetzung (Uncoating) des RNA-Genoms und die Verbindung des (+)RNA-Stranges mit den Ribosomen. Als Replikase und Primer dient hier das virale Protein VPg, was für die Translation abgespalten wird. Die mRNA wird zunächst zu einem Vorläuferprotein translatiert, welches dann durch eigene Proteasen gespalten wird. Die Spaltung des eukaryotischen Translationsinitiationsfaktors eIF4G und des Poly(A)-bindenden Proteins (PABP) durch 2A^{pro} und 3C^{pro} führen zu einer Blockade der Translation von zellulären Proteinen, dem sogenannten Host-shut-off. Darüber hinaus spalten virale Proteasen verschiedene andere zelluläre Faktoren, um die Virusvermehrung zu unterstützen und/oder angeborene antivirale Reaktionen zu unterdrücken. Die Nichtstrukturproteine vermitteln die Replikation des RNA-Genoms über ein negativsträngiges Intermediat. Der hierdurch neu synthetisierte (+)RNA-Strang kann dann entweder eine weitere Translations- und Replikationsrunde einleiten oder kann in virale Kapsidproteine verpackt werden, um neue infektiöse Viruspartikel zu bilden, die mittels Zelllyse freigesetzt werden. ^{32,51,52}

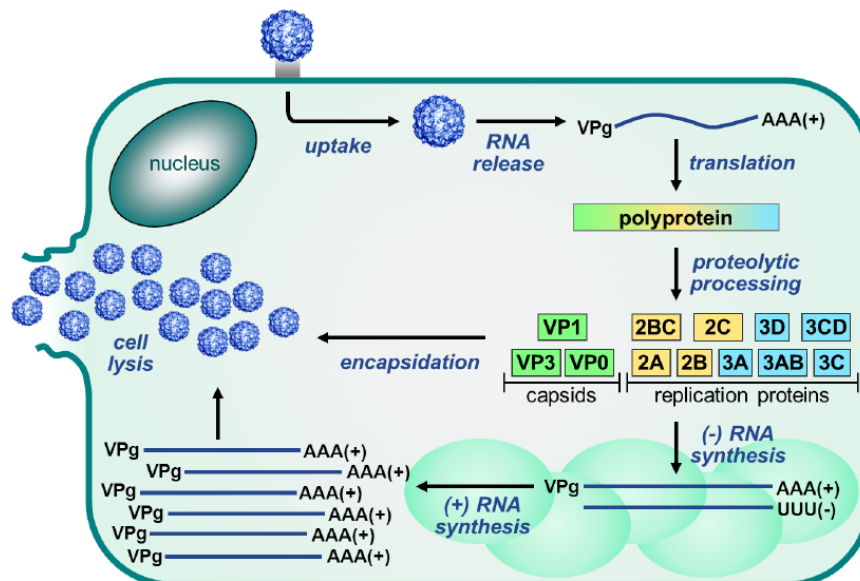


Abbildung 3: Enterovirus Replikationszyklus

Abbildung übernommen aus Linden LVd, Wolthers KC, Van Kuppeveld FJM (2015). Replication and Inhibitors of Enteroviruses and Parechoviruses. 7(8): 4529-62

2.2 HIV

HIV wird in zwei Typen eingeteilt, HIV-Typ 1 (HIV-1) und HIV-Typ 2 (HIV-2). Hauptverursacher von AIDS ist HIV-1, während HIV-2 nur auf einige Regionen in West- und Zentral Afrika beschränkt ist. HIV gehört zur Familie der Retroviridae. Das Genom des Retrovirus besteht aus zwei identischen Kopien von einzelsträngigen RNA-Molekülen. ⁵³

Bekanntermaßen machen die Erschöpfung von CD4 + T-Lymphozyten und die damit verbundene Beeinträchtigung des Immunsystems HIV-Patienten anfälliger für andere Infektionen und für die Entwicklung schwererer Erkrankungen²³. Es wird berichtet, dass Co-Infektionen mit enterischen parasitären Infektionen das Fortschreiten von HIV zum erworbenen Immunschwächesyndrom (AIDS) beschleunigen²⁴. Ein potenziell günstiger immunmodulatorischer Effekt konnte jedoch im Falle einer Co-Infektion mit *Helicobacter pylori* bei HIV-positiven Personen nachgewiesen werden^{54,55}. Die Auswirkungen von Darmviren bei HIV-Infizierten in einkommensschwachen Ländern sind nur unzureichend untersucht, sie gelten jedoch als relevante Ursache für eine zunehmende Morbidität²⁵. Ferner war das Fortschreiten einer HIV-Infektion mit einer Ausbreitung des Darmviroms verbunden^{26,27}.

2.2.1. HIV in Ghana

Schätzungsweise 37,9 Millionen [32,7-44,0 Millionen] Menschen lebten Ende 2018 weltweit mit HIV/AIDS, davon mehr als zwei Drittel (69 %) in Afrika südlich der Sahara⁵⁶. Ghana, das mit einer relativ geringen Zahl zur HIV-Belastung Afrikas beiträgt, hat eine nationale Prävalenz von 1,7. Was das Geschlecht betrifft, so sind Frauen weltweit am meisten von HIV/AIDS betroffen: ca. 63% der etwa 350.000 (2020) diagnostizierten Menschen, die mit HIV in Ghana leben, sind Frauen⁵⁷. Wie viele andere Länder ist Ghana bestrebt, die 90-90-90-Ziele des United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS) zu erreichen (90 % der HIV-Positiven kennen ihren Status, 90 % der Diagnostizierten sind in Behandlung und 90 % der Behandelten sind viral supprimiert). Im September 2016 verabschiedete die ghanaische Regierung die Richtlinie der Weltgesundheitsorganisation (WHO) und somit die Bereitstellung einer ART für alle Menschen mit HIV, unabhängig von ihrer CD4+ Zahl. Es mangelt jedoch an genauen Daten über die HIV-Versorgungskaskade, beispielsweise zur Anzahl der auf HIV getesteten Personen, Zahlen zu Personen, die HIV-positiv getestet wurden, HIV-positive Patienten mit Behandlungsbeginn, HIV-positive Patienten unter der Nachweisgrenze, sowie HIV-positive Personen, die die Behandlung fortgesetzt haben⁵⁸.

2.3 Virale gastrointestinale Co-Infektionserreger

2.3.1. Noroviren

Humane Noroviren (NoVs) sind unbehüllte Viren, die zur Familie der Caliciviridae gehören. Derzeit gibt es sieben anerkannte Genogruppen, wobei I, II und IV (GI, GII und GIV) zu den humanpathogenen Erregern zählen. Das Genom der NoVs besteht aus einer einzelsträngigen RNA mit positiver Polarität (ss(+)-RNA) von etwa 7,5 kb. Die Mehrzahl aller nicht-bakteriellen

Gastroenteritis-Ausbrüche wird durch NoVs verursacht. Die Übertragung erfolgt über den fäkal-oralen Weg, entweder durch den Kontakt mit infizierten Personen, mit kontaminierten Nahrungsmitteln und Wasser oder durch infektiöse Aerosole. Schon wenige Viruspartikel können eine Infektion auslösen. NoV-Infektionen sind bei gesunden Menschen selbstlimitierend, können aber bei immungeschwächten Personen, älteren Menschen und kleinen Kindern mit schweren Komplikationen verbunden sein. NoVs wurden nicht immer mit schwereren Erkrankungen bei Personen mit eingeschränkter Immunkompetenz assoziiert. Es wird vermutet, dass genetische Unterschiede zwischen neu aufgetretenen und historischen Stämmen bestehen.

59,60

2.3.2. Adenoviren

Die humanen Adenoviren (AdVs) sind doppelsträngige, unbehüllte DNA-Viren, die zur Gattung Mastadenovirus und zur Familie Adenoviridae gehören. Aktuell sind über 53 Serotypen und sieben Spezies (A bis G) bekannt.⁶¹

AdV-Infektionen sind leicht übertragbar und in einigen Fällen hochgradig ansteckend. Sie gelten als Erreger von fiebrigen Atemwegsinfektionen, Pharyngokonjunktividen, Keratokonjunktividen, Gastroenteritiden und Diarrhoen. Obwohl die klinischen Verläufe mild und selbstlimitierend sind, können Infektionen schwere Verläufe verursachen, die gelegentlich sogar bei immunkompetenten Personen tödlich enden. AdVs spielen jedoch eine besonders wichtige Rolle bei Patienten mit stark eingeschränkter Immunantwort, bei denen die Viruserkrankung mit einer hohen Morbidität und Mortalität verbunden ist.^{62,63}

2.3.3. Rotaviren

Rotaviren (RVs) gehören zur Familie der Reoviridae und wurden erstmals 1973 in Duodenalbiopsien und Stuhlproben von Menschen mit akutem Durchfall beschrieben. Aktuell werden zehn Gruppen (A bis J) definiert, wobei RVs der Spezies A die häufigste Ursache für Infektionen im Kindesalter darstellen. Das Kapsid der RVs ist ikosaedrisch und sie besitzen ein doppelsträngiges RNA Genom, welches aus 9-12 Segmenten besteht. Trotz der Verfügbarkeit eines Impfstoffs gegen das RV, gibt es weiterhin weltweit mehr als 200.000 Todesfällen pro Jahr. In entwickelten Ländern mit routinemäßigen Impfprogrammen ist die RV-Infektion weniger verbreitet als in nicht entwickelten Ländern, wo sie weiterhin eine Hauptursache für lebensbedrohliche Durchfälle bei Säuglingen und Kindern unter 5 Jahren ist. Zu den häufigsten Symptomen gehören heftiger Durchfall und Erbrechen, aber auch Fieber, Unwohlsein und neurologische Erscheinungen wie Krämpfe, Enzephalitis oder Enzephalopathie sind mögliche seltene Erscheinungsformen.^{64,65}

2.3.4. Astroviren

Die Humanen Astroviren (HAstVs) sind unbehüllte Einzelstrang-RNA-Viren mit positiver Polarität aus der Familie der Astroviridae, die 1975 erstmals beschrieben wurden. Die Familie wird in 2 Gattungen unterteilt: Mamastrovirus und Avastrovirus. HAstVs sind weit verbreitet und etwa 90 % der Bevölkerung ab einem Alter von 9 Jahren weisen Antikörper gegen HAstV Typ 1 auf. Sie sind eine der Hauptursachen für Durchfall bei Kindern, Älteren, sowie von immungeschwächten Menschen. Seit 2008 wurden zwei neue Gruppen von hochgradig divergenten AVs mit den Namen MLB (Melbourne) und VA/HMO (Virginia/Human-Mink-Ovine-like) im Stuhl von Menschen mit Durchfall identifiziert. Obwohl diese neuen Viren ursprünglich bei Kindern mit Gastroenteritis isoliert wurden, ist die Zahl der systematischen epidemiologischen Studien zur Bestimmung ihrer wahren Prävalenz noch gering und es wurde noch kein definitiver Zusammenhang zwischen neuartigen AVs und Gastroenteritis hergestellt. Darüber hinaus wurden beide klassischen, aber insbesondere die neuartigen HAstVs vor kurzem als Ursache unerwarteter Infektionen des zentralen Nervensystems (ZNS) bei gefährdeten Personen identifiziert. Dies unterstreicht, dass diese den Gastrointestinaltrakt umgehen und andere Gewebe und Organe infizieren können. ^{66,67}

2.3.5. Sapoviren

Sapoviren (SaVs) sind einzelsträngige, unbehüllte, positive RNA-Viren, die zur Familie der Caliciviridae gehören. Zu den humanpathogenen Genotypen gehören GI, GII, GIV und GV. Die Übertragung erfolgt über den fäkal-oralen Weg, entweder über kontaminierte Lebensmittel, Wasser, Oberflächen oder durch direkten Kontakt mit infizierten Personen. Der Zugang zu sauberem Trinkwasser spielt demnach eine wichtige Rolle für die Prävention von Infektionen. Die häufigsten Symptome sind Erbrechen und Durchfall. Die SaV-bedingte virale Gastroenteritis ist oft selbstlimitierend und verschwindet in der Regel innerhalb von 3-4 Tagen. Es wurden jedoch auch Fälle berichtet, in denen die Symptome länger und mit überdurchschnittlichem Schweregrad auftraten, insbesondere bei immungeschwächten Personen. Mit ca. 2 Millionen Todesfällen pro Jahr ist Durchfall die zweithäufigste Todesursache bei Kindern unter 5 Jahren. Die Region Subsahara-Afrika ist eine der Regionen mit der höchsten Prävalenz von HIV. Durchfallerkrankungen sind die Hauptursache für Morbidität und Todesfälle bei HIV-infizierten Kindern. ⁶⁸

2.3.6. Cosaviren

Das humane Cosavirus (CoSV) wurde erstmals 2008 in Pakistan aus Fäkalproben sowohl von gesunden Kindern als auch von Kindern mit AFP ohne Polio identifiziert. CoSVs gehören zur Familie der Picornaviridae und werden in fünf Arten eingeteilt - A, B, D, E, F. Die Etablierung

von Gruppe C steht aufgrund unvollständiger Virussequenzen noch aus. Das Akronym Cosavirus steht für common stool-associated picornavirus. Die ätiologische Rolle von CoSV bei menschlichen Darmerkrankungen ist jedoch noch unbekannt, da Fall-Kontroll-Studien das Vorhandensein von Cosaviren auch bei einer signifikanten Anzahl von Individuen ohne Diarrhöe feststellten.⁶⁹

2.3.7. Virale gastrointestinale Infektionserreger in Subsahara-Afrika

Nach wie vor stellen Durchfallerkrankungen eines der wichtigsten öffentlichen Gesundheitsprobleme dar und sind die Hauptursache für Morbidität und Mortalität bei Kindern unter 5 Jahren. In den letzten drei Jahrzehnten hat sich die Überlebensrate von Kindern zwar weltweit deutlich verbessert, jedoch besteht weiterhin ein Ungleichgewicht zwischen und innerhalb der Länder. Diarrhoen führen täglich zu mehr als 2.100 Todesfällen bei Kindern unter 5 Jahren, davon ereignen sich mehr als drei Viertel in den meist armen und weniger entwickelten Ländern der Welt, 42 % davon in Afrika südlich der Sahara. Durchfall ist bei Kindern, die an Unterernährung leiden, oft schwerer und tödlich. In Entwicklungsländern, in denen wiederkehrende Durchfälle häufig sind und Unterernährung ein öffentliches Gesundheitsproblem darstellt, entsteht ein Teufelskreis aus Durchfall und Unterernährung. Auch spielt die unzureichende Wasser- und Sanitärversorgung, der fehlende Zugang zu Impfungen und die unzureichende Behandlung von Durchfall eine Rolle.⁷⁰⁻⁷²

Darüber hinaus wird angenommen, dass die chronische Exposition gegenüber Darmpathogenen einer der Hauptfaktoren ist, der mit dem Auftreten eines subklinischen Zustands korreliert, der als "Umwelt-Enteropathie" (EE) bezeichnet wird und durch Dünndarmentzündung, reduzierte Absorptionskapazität und erhöhte intestinale Permeabilität gekennzeichnet ist. EE trägt dazu bei, den Zustand der Unterernährung zu verschlimmern und die Menschen anfälliger für Infektionskrankheiten zu machen.⁷³

Eine Meta-Analyse von 23 Studien zeigte, dass das häufigste mit Gastroenteritis assoziierte Virus bei Kindern unter 5 Jahren in Subsahara-Afrika das RV war, gefolgt vom NoV. Der RV-Nachweis war am höchsten in der westafrikanischen Region und am niedrigsten in Südafrika. AdVs und HAstV waren die am wenigsten nachgewiesenen Viren.⁷⁴

2.4 Fragestellungen und Ziel der Arbeit

Es wurden weltweit EV-Typen als Ursachen für schwere Erkrankungen sowohl in Einzel-, als auch in epidemischen Fällen nachgewiesen. Es sind jedoch nur wenige Daten über die Verbreitung von EVs bei HIV immungeschwächten Personen in Endemiegebieten verfügbar. Die chronisch enterovirale Meningoenzephalitis bei immungeschwächten Patienten ist seit langem

bekannt ^{22,75,76}. Die potenzielle Rolle von HIV-positiven Patienten als Quelle von EV-Infektionen in tropischen Gebieten wurde bisher jedoch kaum untersucht ⁷⁷.





In Ghana leben schätzungsweise 300.000 Menschen mit HIV / AIDS und nur 70.000 von ihnen sollen Zugang zu einer ART haben ²⁸.

Ziel der Studie ist die Untersuchung von 352 Stuhlproben zufällig ausgewählter HIV-positiver (n= 250) und HIV-negativer (n= 102) ghanaischer Erwachsener auf das Vorhandensein von humanen EVs und deren genetische Untersuchung.

Der Zusammenhang, ob der HIV-positive Status und eine CD4+ T-Zellzahl unter oder über 200 Zellen/ μ l mit einem höheren Risiko einer Co-Infektion mit EVs und auch anderen viralen gastrointestinalen Co-Infektionen, wie NoVs, AdVs, RVs, HAstVs, SaVs und CoSVs, verbunden ist, soll analysiert werden.

Article

Molecular Characterization and Clinical Description of Non-Polio Enteroviruses Detected in Stool Samples from HIV-Positive and HIV-Negative Adults in Ghana

Veronica Di Cristanziano ^{1,†}, Kristina Weimer ^{1,†}, Sindy Böttcher ², Fred Stephen Sarfo ^{3,4}, Albert Dompfeh ⁴, Lucio-Garcia Cesar ⁵, Elena Knops ¹, Eva Heger ¹, Maïke Wirtz ¹, Rolf Kaiser ¹, Betty Norman ^{3,4}, Richard Odame Phillips ^{3,4,6}, Torsten Feldt ⁷ and Kirsten Alexandra Eberhardt ^{8,*}

¹ Institute of Virology, University of Cologne, Faculty of Medicine and University Hospital of Cologne, 50935 Cologne, Germany; veronica.di-cristanziano@uk-koeln.de (V.D.C.); kristina.weimer@yahoo.de (K.W.); elena.knops@uk-koeln.de (E.K.); eva.heger@uk-koeln.de (E.H.); maïke.wirtz@uk-koeln.de (M.W.); rolf.kaiser@uk-koeln.de (R.K.)

² National Reference Centre for Poliomyelitis and Enteroviruses, Robert Koch Institute, 13353 Berlin, Germany; BoettcherS@rki.de

³ Kwame Nkrumah University of Science and Technology, Kumasi 00233, Ghana; stephensarfo78@gmail.com (F.S.S.); branorman@yahoo.com (B.N.); rodamephillips@gmail.com (R.O.P.)

⁴ Komfo Anokye Teaching Hospital, Kumasi 00233, Ghana; adompfeh@gmail.com

⁵ Autonomous University of the Mexico State, 50000 Toluca, Mexico; cesar_lucio@msn.com

⁶ Kumasi Center for Collaborative Research in Tropical Medicine, Kumasi 00233, Ghana

⁷ Clinic of Gastroenterology, Hepatology and Infectious Diseases, University Hospital Düsseldorf, 40225 Düsseldorf, Germany; Torsten.Feldt@med.uni-duesseldorf.de

⁸ Department of Tropical Medicine, Bernhard Nocht Institute for Tropical Medicine and I. Department of Medicine, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, 20359 Hamburg, Germany

* Correspondence: k.eberhardt@bnitm.de; Tel.: +49-40-428-180

† These authors contributed equally to this work.

Received: 21 December 2019; Accepted: 12 February 2020; Published: 16 February 2020



Abstract: In the post-polio eradication era, increasing attention is given to non-polio enteroviruses. Most of the data about enteroviruses in sub-Saharan Africa are related to acute flaccid paralysis surveillance and target the pediatric population. This study aimed to investigate the presence of enterovirus in PLHIV (people living with HIV) and HIV-negative individuals in Ghana. Stool samples from HIV-positive individuals ($n = 250$) and healthy blood donors ($n = 102$) attending the Komfo Anokye Teaching Hospital in Kumasi, Ghana, were screened by real-time PCR for enterovirus. Molecular typing of the VP1 region was performed. Enterovirus-positive samples were tested for norovirus, adenovirus, rotavirus, sapovirus, and cosaviruses. Twenty-six out of 250 HIV-positive subjects (10.4%) and 14 out of 102 HIV-negative individuals (13.7%) were detected enterovirus-positive, not showing a significant different infection rate between the two groups. HIV-negative individuals were infected with *Enterovirus C* strains only. HIV-positive participants were detected positive for species *Enterovirus A*, *Enterovirus B*, and *Enterovirus C*. Co-infections with other viral enteric pathogens were almost exclusively detected among HIV-positive participants. Overall, the present study provides the first data about enteroviruses within HIV-positive and HIV-negative adults living in Ghana.

Keywords: enterovirus; HIV; Ghana; cosavirus; enteric infection

1. Introduction

Enteroviruses belong to the family *Picornaviridae* and are non-enveloped single stranded RNA viruses. So far more than 100 different serotypes have been identified to infect humans and grouped into 4 species (*Enterovirus A- Enterovirus D*) on the basis of their genetic divergence [1]. Enteroviruses are endemic worldwide and mainly transmitted via the fecal–oral route or by droplets and direct contacts [2]. The most known members of the genus *Enterovirus* are represented by the three poliovirus types (PV), assigned within the species *Enterovirus C*. Polioviruses are the etiologic agents of paralytic poliomyelitis, an infectious disease characterized by acute flaccid paralysis (AFP) and whose main target is children under 5 years of age [3]. The success of the Global Polio Eradication Initiative (GPEI) has dramatically reduced the circulation of wild PVs [4]. Since 1988, the number of polio endemic countries has declined from 125 to 3, represented by Nigeria, Pakistan and Afghanistan, with Nigeria being on the verge of being certified as polio free [4,5].

In the post-polio eradication era, increasing attention is given worldwide to the detection and characterization of non-polio enteroviruses [6,7]. Although enterovirus infections are mostly asymptomatic, the available data evidenced a high pathogenic potential. Different non-polio enteroviruses have been isolated from patients affected from AFP in the context of polio surveillance [6]. Other severe clinical forms associated with enteroviruses include aseptic meningitis, myocarditis, encephalitis, and respiratory diseases [8,9]. Age, gender, and host immune status can influence the clinical presentation and severity of infection [10]. Furthermore, emerging enterovirus variants have been recognized worldwide as causes of severe clinical manifestations in both sporadic and epidemic cases [11–18].

In Europe, the non-polio enterovirus network (ENPEN) was recently established, with the aim to collect data on severe enterovirus infections and monitor the circulation of enterovirus types [19].

In sub-Saharan Africa, the limited data about enterovirus infections are mostly related to AFP surveillance [20–22]. A previous survey in Côte d’Ivoire evidenced a high variety of enterovirus strains circulating in apparently healthy individuals [23]. A high diversity in enterovirus isolates infecting healthy individuals was also observed in other African countries [24,25].

Malnutrition and inadequate supply of water, sanitation, and hygiene presumably play a crucial role in the spread of this group of viruses [26]. However, few data are available about the presence of enteroviruses in immunocompromised individuals living in these areas, namely PLHIV (people living with Human Immunodeficiency Virus). Chronic meningoencephalitis associated to enterovirus in immunocompromised patients have long been known [27–29]. Nevertheless, the potential role of HIV-positive patients as a source of enterovirus infections in tropical areas has been barely examined [30].

As known, the depletion of CD4+ T lymphocytes and the associated impairment of the immune system make HIV patients more vulnerable to acquiring other infections and to developing more severe clinical manifestations [31]. Remarkably, co-infections with enteric parasitic infections are reported to worsen the progression of the HIV infection to Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS) [32]. On the contrary, a potential beneficial immunomodulatory effect was evidenced in case of co-infection with *Helicobacter pylori* in HIV-positive persons [33,34]. The impact of enteric viruses in HIV-positive people living in low-income countries is poorly investigated; however, they are considered a relevant cause of morbidity in this group of patients [35]. Furthermore, HIV progression was associated with the expansion of enteric virome [36,37].

In Ghana, 300,000 people are estimated to be living with HIV/AIDS and only 70,000 of them are reported to have access to antiretroviral therapy (ART) [38].

The aim of the present study was to analyze and molecularly characterize the spectrum of enteroviruses infecting HIV-positive and HIV-negative adults living in Ghana, in order to evidence if HIV infection was associated with a higher risk for infection with enteroviruses.

2. Materials and Methods

2.1. Study Participants

The present study comprised participants from an observational cohort study on clinical and sociodemographic determinants of *H. pylori* infection among HIV-infected and non-infected persons [33,34]. Adult HIV-positive patients from the HIV Outpatient Department of the Komfo Anokye Teaching Hospital in Kumasi, Ghana, were enrolled between November 2011 and November 2012. Additionally, blood donors from the same hospital were recruited to serve as a HIV-negative control group. From this cohort, we randomly selected HIV-positive patients with CD4+ T cell counts below or more than 200 cells/ μ L ($n = 119$ and 131 , respectively), and 102 HIV-negative individuals to analyze the prevalence and clinical implications of human enteroviruses.

2.2. Ethics Statement

Ethical approval for this study was obtained from the Committee on Human Research of the Kwame Nkrumah University of Science and Technology in Kumasi, Ghana: HRPE/AP/12/11, and the ethics committee of the Medical Council in Hamburg, Germany: PV3771. Written informed consent was obtained from all participants before enrolment in accordance with the World Medical Association's Declaration of Helsinki.

2.3. Specimen Collection, Handling and Storage

Trained study personnel collected demographic and clinical data using a standardized questionnaire. Aliquots of native stool samples were freshly frozen and stored at -80 °C before being transported to Germany on dry ice. Blood samples were collected and the analysis of CD4+ T cell count was performed in Ghana using a FACSCalibur flow cytometer (Becton Dickinson, Mountain View, California).

2.4. Viral Nucleic Acid Extraction

A 10% suspension of each stool sample was prepared using PBS. Viral nucleic acids were extracted from 700 μ L of the stool suspension by using the automated platform VERSANT kPCR Molecular System and the VERSANT Sample Preparation 1.0 Reagents Kit (Siemens Healthcare Diagnostics, Erlangen, Germany) into an elution volume of 100 μ L, according to the manufacturer's instructions.

2.5. Detection of Enteroviruses and Other Viral Enteric Co-Infections

Samples were screened for enteroviruses using the Enterovirus real-time RT-PCR Kit (TaqMan) (AnDiaTec GmbH & Co.KG, Kornwestheim, Germany) according to the manufacturer's protocol. Enterovirus-positive samples were screened for the presence of other viral enteric pathogens. Norovirus (NoV), adenovirus (AdV), rotavirus (RV), astrovirus (HAstV), and sapovirus (SaV) were detected using the multiplex FTD Viral gastroenteritis (Fast-Track Diagnostics, Luxembourg), in accordance with the manufacturer's instructions. Cosaviruses (CoSV) were detected as described by Kapoor et al. [39].

2.6. VP1 Amplification, Sequencing and Molecular Typing

All enterovirus strains were sequenced in the 5' non-coding region (5'NCR) for enterovirus species assignment. Molecular typing of enterovirus strains was performed using generic and species-specific VP1-primer systems [23,25]. Sequencing was done directly on amplification products using BigDye 3.1 (Applied Biosystems). Assignment to enterovirus types was done using BLAST and the Enterovirus Genotyping Tool [40,41]. Sequences were deposited in GenBank under accession numbers MN812172-MN812201.

In addition to molecular assays, enterovirus-positive stool samples were inoculated to RD-A cells and passaged three times. If CPE was observed, RNA was extracted from 140 μ L cell culture

supernatant and subjected to enterovirus PCR, targeting the 5' non-coding region (NCR) and VP1 region. Sequencing was performed to exclude the presence of polioviruses.

2.7. Statistical Analysis

Statistical analyses were conducted using R (version 3.6.1, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Categorical variables were compared using either the χ^2 test or the Fisher exact test, as appropriate. Continuous variables were expressed as median (interquartile range, IQR) or mean \pm standard deviation (SD) and compared using the Wilcoxon rank sum test or the unpaired Student's t-test. A multiple linear regression model was used to assess the association between covariates and the continuous outcome CD4+ T cell count cells/ μ L. Two-sided *p*-values were presented, and statistical significance was determined at $\alpha = 5\%$.

3. Results

3.1. Characteristics of Enterovirus-positive and Negative Participants

Forty (11.4%) out of 352 stool samples were tested positive for enteroviruses (Table 1). Out of 250 samples of HIV-positive subjects, twenty-six (10.4%) were tested enterovirus-positive, and fourteen out of 102 HIV-negative individuals (13.7%, $p = 0.362$) were tested enterovirus-positive (Figure 1a). The proportion of HIV infections was not different between enterovirus-positive and enterovirus-negative participants (65.0% vs. 71.8%, respectively). Furthermore, the two groups did not differ regarding the presence of clinical symptoms between enterovirus-positive and enterovirus-negative individuals. Remarkably, within the group of HIV-positive participants, those with an enterovirus infection had significantly higher median CD4+ T cell counts compared to those that were tested enterovirus-negative (416 [IQR 168-535] vs 204 [IQR 78-460] cells/ μ L, $p = 0.017$), but did not differ in regard to antiretroviral therapy, intake of antibiotics, or time since diagnosis of HIV (Table S1 and S2). Interestingly, this finding was restricted to HIV-positive subjects and was not observed in participants without HIV infection. On the other hand, HIV-negative adults infected with enterovirus were significantly younger than those without enterovirus infection (28.6 ± 6.4 vs. 33.6 ± 12.9 , $p = 0.029$).

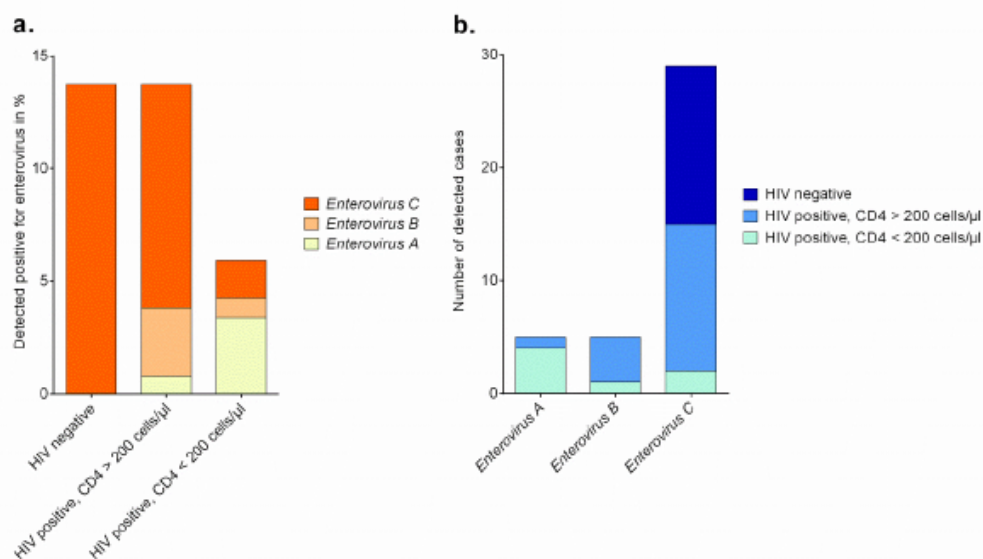


Figure 1. (a). Absolute numbers of enterovirus strains assigned to species in HIV-positive adults with high and low CD4+ T cell count and HIV-negative persons in Ghana in %. (b). Absolute numbers of enterovirus strains assigned to species detected in adult participants in Ghana.

Table 1. Demographical and clinical characteristics of enterovirus-positive and enterovirus-negative participants.

Parameters	Total (n = 352)	Enterovirus-Positive Subjects (n = 40, 11.4%)	Enterovirus-Negative Subjects (n = 312, 88.6%)	p-Value
Age in years, mean ± SD:	38.2 ± 10.6	37.7 ± 10.7	38.3 ± 10.6	0.760
in HIV-positive subjects	40.3 ± 9.1	42.3 ± 9.2	40.0 ± 9.1	0.186
in HIV-negative subjects	32.9 ± 12.3	28.6 ± 6.4	33.6 ± 12.9	0.029
Female gender, n (%)	247 (70.6)	31 (77.5)	216 (69.7)	0.307
HIV status:				
positive, n (%)	250 (71.0)	26 (65.0)	224 (71.8)	0.372
negative, n (%)	102 (29.0)	14 (35.0)	88 (28.2)	
CD4+ T cells/μL (IQR):				
in HIV-positive subjects	221 (87–474)	416 (168–535)	204 (78–460)	0.017
in HIV-negative subjects	969 (786–1150)	958 (769–1038)	982 (787–1153)	0.726
Low BMI (<18.5 kg/m ²), n (%):	37 (11.1)	1 (2.7)	36 (12.2)	0.099
in HIV-positive subjects	34 (13.9)	1 (3.8)	33 (15.1)	0.143
in HIV-negative subjects	3 (3.4)	0 (0.0)	3 (3.9)	1.00
Clinical symptoms during last 6 months:				
Gastrointestinal symptoms, n (%)	64 (18.4)	8 (20.0)	56 (18.2)	0.780
Feverish symptoms, n (%)	42 (18.5)	5 (18.5)	37 (18.5)	0.998
Cough, n (%)	56 (16.1)	7 (17.5)	49 (15.9)	0.797
Skin rashes, n (%)	26 (7.5)	3 (7.5)	23 (7.5)	1.000
Access to tap water, n (%)	190 (54.6)	21 (52.5)	169 (54.9)	0.777
Fridge/freezer in household, n (%)	249 (71.6)	30 (75.0)	219 (71.1)	0.607
Electricity in household, n (%)	326 (93.7)	40 (100.0)	286 (92.9)	0.091

IQR—interquartile range; SD—standard deviation; BMI—Body Mass Index.

3.2. Enterovirus Typing

Enterovirus strains were characterized by sequencing the V1 region for type assignment. For strains remaining negative for VP1 amplification, sequencing of the 5' 5'NCR allowed enterovirus species assignment. Thirty-three strains could be assigned to a type and six could be typed on species level. One real-time RT-PCR positive sample remained negative in the typing PCR assays. The identified enterovirus types were assigned to species *Enterovirus A*, *Enterovirus B* and *Enterovirus C* (Table 2). The presence of polioviruses was also excluded using cell culture assays. Only one stool sample (HP0932) showed CPE in RD-A cells and molecular typing resulted in EV-A76 detection. Remarkably, whereas HIV-negative individuals were infected exclusively with *Enterovirus C* strains, HIV-positive participants also showed infections with *Enterovirus A* strains and *Enterovirus B* strains (Figure 1a,b). None of the 15 HIV-infected participants with *Enterovirus C* strains detected reported any gastrointestinal complaints and thirteen out of them had CD4+ T cell counts higher than 200 cells/μL (Table 2). In contrast to this, four out of five participants with *Enterovirus A* strain co-infection had CD4+ T cell counts below 200 cells/μL.

3.3. Co-Infection with Other Enteric Viruses

Fifteen (37.5%) out of 40 enterovirus-positive participants were co-infected with additional enteric viruses. Out of them, 10 samples were tested positive for one further viral pathogen and 5 samples for 2 other viruses. AdV and CoSV were the most common co-infections (Table 2). Remarkably, all but one of these infections with additional enteric pathogens were observed in HIV-positive individuals. It is worth noting that four of five co-infections with CoSV in HIV-positive participants were detected in subjects with CD4+ T cell counts below 200 cells/μL ($p = 0.02$).

Table 2. Characteristics, clinical features and enterovirus typing results of enterovirus-positive adults living in Ghana.

ID	HIV Status	Sex	Age in Years	CD4+ T Cells/ μ l	On ART	Feverish Symptoms	Cough	Gastrointestinal Symptoms	Skin Rashes	Enterovirus Typing Result	Enterovirus Species	Other Enteric Infections
CHP012	neg	f	33	NA	NA	-	-	-	-	Enterovirus C	Enterovirus C	-
CHP013	neg	f	23	1276	NA	-	-	-	-	CVA19	Enterovirus C	-
CHP021	neg	f	32	921	NA	-	-	-	-	CVA13	Enterovirus C	-
CHP023	neg	f	28	940	NA	-	-	+	-	Enterovirus C	Enterovirus C	-
CHP027	neg	m	23	977	NA	-	-	-	-	CVA20	Enterovirus C	-
CHP028	neg	f	29	735	NA	+	+	-	-	CVA13	Enterovirus C	-
CHP029	neg	f	26	1698	NA	-	-	-	-	EV-C99	Enterovirus C	-
CHP042	neg	f	33	967	NA	+	-	+	+	Enterovirus C	Enterovirus C	-
CHP051	neg	m	19	958	NA	-	-	+	-	CVA19	Enterovirus C	-
CHP061	neg	m	22	1381	NA	-	-	-	-	EV-C99	Enterovirus C	CoSV-D
CHP065	neg	m	39	680	NA	-	-	-	-	Enterovirus C	Enterovirus C	-
CHP105	neg	f	25	1038	NA	-	-	+	+	Enterovirus C	Enterovirus C	-
CHP138	neg	m	27	363	NA	-	-	-	-	CVA20	Enterovirus C	-
CHP165	neg	f	41	769	NA	-	+	-	-	EV-C99	Enterovirus C	-
HP0008	pos	f	55	65	-	NA	-	+	-	EV-A119	Enterovirus A	AdV, CoSV-A
HP0010	pos	m	56	522	+	+	-	-	-	EV-C99	Enterovirus C	NoV G2, AdV
HP0038	pos	m	38	396	+	NA	-	-	-	CVA5	Enterovirus A	-
HP0063	pos	f	40	470	+	NA	-	-	-	EV-C99	Enterovirus C	-
HP0120	pos	f	50	331	-	NA	-	-	-	CVA20	Enterovirus C	-
HP0123	pos	f	28	134	-	NA	-	-	-	CVA17	Enterovirus C	AdV
HP0130	pos	f	30	465	-	NA	-	-	-	Enterovirus C	Enterovirus C	-
HP0210	pos	f	48	356	-	+	-	-	-	E27	Enterovirus B	NoV GI
HP0216	pos	m	43	851	-	NA	-	-	-	EV-C113	Enterovirus C	-
HP0255	pos	f	26	455	-	NA	-	-	-	EV-C113	Enterovirus C	-
HP0274	pos	f	43	539	+	NA	+	-	-	CVA20	Enterovirus C	AdV
HP0297	pos	f	36	655	+	NA	+	+	-	EV-B74	Enterovirus B	SaV
HP0335	pos	f	36	391	+	NA	-	-	-	EV-C113	Enterovirus C	SaV
HP0361	pos	f	27	725	+	NA	-	-	-	CVA20	Enterovirus C	-
HP0407	pos	f	47	1677	+	NA	-	-	-	CVA19	Enterovirus C	-
HP0578	pos	f	59	635	+	-	-	-	-	CVA13	Enterovirus C	NoV GII
HP0648	pos	f	57	318	-	-	-	-	-	E14	Enterovirus B	-
HP0762	pos	f	45	151	-	-	-	-	-	EV-A119	Enterovirus A	AdV, CoSV-D
HP0800	pos	f	44	555	-	+	+	+	-	EV-B106	Enterovirus B	AdV
HP0845	pos	m	39	93	-	-	-	-	-	CVB6	Enterovirus B	CoSV-D

Table 2. Cont.

ID	HIV Status	Sex	Age in Years	CD4+ T Cells/ μ l	On ART	Feverish Symptoms	Cough	Gastrointestinal Symptoms	Skin Rashes	Enterovirus Typing Result	Enterovirus Species	Other Enteric Infections
HP0916	pos	f	38	181	+	-	-	-	-	CVA20	<i>Enterovirus C</i>	-
HP0932	pos	f	51	83	-	-	+	+	+	EV-A76	<i>Enterovirus A</i>	CoSV-B
HP0995	pos	f	37	435	+	-	+	-	-	CVA13	<i>Enterovirus C</i>	SaV, CoSV-D
HP1007	pos	f	47	87	+	-	-	-	-	EV-A119	<i>Enterovirus A</i>	NoV GII2, AdV
HP1097	pos	f	40	163	-	-	-	-	-	Positive	NA	-
HP1107	pos	f	48	466	-	-	-	-	-	EV-C99	<i>Enterovirus C</i>	-

+—present; —not present; f—female; m—male.

3.4. Factors Associated with CD4+ T Cell Count in HIV-Positive Participants With and Without Enterovirus Co-Infection

In the simple linear regression models age, ART-intake and being infected with Enterovirus C strains compared to not carrying enteroviruses were significantly associated with an increased CD4+ T cell count in HIV-positive participants (Table 3). When adjusting for age, sex and ART-intake, detection of *Enterovirus C* strains was still found to be independently associated with a higher CD4+ T cell count in HIV-positive participants compared to those with an enterovirus-negative status ($p = 0.042$).

Table 3. Factors associated with increased CD4+ T cell count in HIV-positive participants with and without enterovirus co-infection.

Variable	HIV-Positive With and Without Enterovirus Co-Infection			
	Simple Linear Regression Models		Multiple Linear Regression Model	
	β -Coef	p Value	β -Coef	p Value
Age in years	4.12	0.077	3.91	0.073
Male	−41.74	0.381	−28.65	0.517
ART intake	275.13	<0.001	262.09	<0.001
Enterovirus species compared to enterovirus-negative status				
<i>Enterovirus A</i>	−160.03	0.287	−199.38	0.152
<i>Enterovirus B</i>	78.975	0.599	101.43	0.465
<i>Enterovirus C</i>	235.37	0.008	167.77	0.042

ART—antiretroviral therapy; β -Coef—linear regression coefficient.

4. Discussion

Non-polio enteroviruses are recognized worldwide as an emerging cause of different diseases. The outbreaks caused by enteroviruses that affected Europe, America and Asia in the recent years evidenced the high pathogenic potential of this group of viruses [42].

Data on enterovirus infections circulating in people living in sub-Saharan Africa are still limited and mostly addressing the pediatric population. Recently, Brouwer et al. detected enteroviruses by real-time RT-PCR in 89.9% of fecal samples collected from a cohort of children ≤ 5 years of age in Malawi, not showing differences in enterovirus detection rates between children with and without severe anemia [43]. So far, no other studies could evidence a comparable high detection rate [44].

In our present cohort 40 out of 352 stool samples were tested positive for enteroviruses, indicating a detection rate of 11.4%. Although apparently modest, this result confirms that enterovirus circulation in Ghana is a phenomenon not limited to childhood, considering that the mean age of participants was 38.2 (± 10.6). Nevertheless, we observed a lower mean age in HIV-negative participants infected with enterovirus compared to those without enterovirus infection in our adult cohort. A recent study reported a similar infection rate in healthy individuals living in Nigeria, including children and adults [25]. Apparently, HIV infection was not shown to be associated with a higher rate of enterovirus infections compared to HIV-negative adults. Previous available data seem to confirm this result regardless of age [45,46].

However, the higher diversity of enteroviruses as well as the detection of rare and zoonotic enterovirus types, mostly in HIV-positive individuals, provide further incentives to understand better the meaning of enterovirus infections within PLHIV.

In our study, the majority of strains were assigned to *Enterovirus C* (29/39), which is often described as the most common group circulating in sub-Saharan Africa [43,47]. Within this species, CVA20 and EV-C99 were the most common serotypes identified in our cohort. Although both serotypes have been isolated from AFP patients, they have been more commonly identified in apparently healthy

individuals [23,25,43,48]. In our cohort, all but one of the HIV-positive individuals infected with these serotypes had a CD4+ T cell count higher than 200 cells/ μ L. These two serotypes could be detected in both HIV-positive and HIV-negative individuals. On the contrary, the rarely reported EV-C113 was detected in HIV-positive patients only [49].

Interestingly, the detection of enterovirus strains belonging to the species *Enterovirus A* and *Enterovirus B* was restricted to HIV-infected participants. In particular, two HIV-positive participants with CD4+ T cell count > 200 cells/ μ L were detected positive for two rarely described serotypes, namely EV-B106 and EV-B74 [50,51].

The serotype EV-A119 was detected in three female HIV-positive individuals with CD4+ T cell counts below 200 cells/ μ L and an age of 45 years or higher, whereas EV-A76 was found in a HIV-positive patient with a low CD4+ T cell count and multiple clinical complaints, including cough, gastrointestinal symptoms, and skin rash. Both of them are known for their zoonotic potential and have been isolated in non-human primates in West and Central Africa [52–55].

The observation that in our cohort only PLHIV were infected with rarely circulating serotypes represents a novel evidence whose meaning needs to be investigated further. The impairment of gastrointestinal immunity induced by HIV might be one possible explanation.

In line with this result, infections with other enteric viral pathogens in addition to infection with enteroviruses could be found almost exclusively in HIV-positive patients.

It is interesting to note that the detection of CoSV infections in enterovirus-positive individuals (6/40, 15%) was rather higher when compared to the limited available data of other cohorts of adults [25]. So far, CoSV infections in adults have been rarely reported worldwide. CoSV were found in one of 1000 adult patients with gastroenteritis in Scotland and in one of 150 stool samples from adults with diarrhea living in Thailand [39,56]. Similar data were obtained from immunocompromised individuals. Among HIV-infected patients, CoSV were detected in one of 154 patients suffering from gastroenteritis in Brazil and in three of 196 patients with and without diarrhea in the Netherlands [57,58]. A case of persistent CoSV infection and chronic diarrhea was also described in a lung transplant recipient [59].

In the present cohort, the almost exclusive detection of other viral enteric agents in enterovirus-positive persons infected with HIV is suggestive of an altered intestinal mucosal immunity affecting this group of patients.

A recent investigation targeting a cohort of Ugandan patients evidenced that advanced HIV/AIDS is associated with the expansion of enteric virome, in particular adenoviruses [36]. Our data confirmed a higher burden, in terms of enterovirus variability and rate of co-infections with other gastrointestinal viruses, among HIV-infected patients compared to HIV-negative individuals. Adenovirus represented the most common viral agent detected as co-infection.

The association of the CD4+ T cell count in HIV-positive individuals with different enterovirus species represents a new aspect of the present study. Rarely reported *Enterovirus A* infections as well as infections with zoonotic potential types were almost exclusively detected in HIV-positive individuals with an impaired immune system, as indicated by a low CD4+ T cell count.

Contrastingly, the infection with members of *Enterovirus C* types in HIV-positive participants was independently associated with a higher CD4+ T cell count compared to PLHIV not infected with enteroviruses. So far, *Enterovirus C* is the only species of human enteroviruses that was not detected in animals, confirming it as highly specific to humans. Considering that *Enterovirus C* species is more prevalent in healthy people, it might be supposed that members of this group of viruses are able to stably replicate in the human gut, reflecting a favorable health status [60]. On the other hand, the higher CD4+ T cells/ μ L count detected in HIV+ individuals infected with *Enterovirus C* strains compared to HIV-positive participants without enterovirus infection might indicate a cell-mediated immune response toward the co-infection.

Another remarkable aspect of this study is represented by the fact that co-infection with CoSV was significantly more common in enterovirus-infected PLHIV with CD4+ T cell counts below 200 cells/ μ L, indicating the potential role of CoSV as an opportunistic agent.

Overall, the present study provides the first data about enteroviruses and additional enteric co-infections within HIV-positive and HIV-negative adults living in Ghana. Although infections with enteroviruses were not more frequent in PLHIV, a higher diversity of enteroviruses, including rare and zoonotic types, was predominantly detected among HIV-positive individuals with a low CD4+T cell count. Infections with additional enteric viruses were almost exclusively detected among HIV-infected individuals, confirming the detrimental effect of HIV on gut homeostasis. As prolonged enterovirus shedding might be a biomarker for defective immune defenses against enteroviruses, it would be of interest if HIV-positive individuals infected with enterovirus had prolonged shedding of the same serotype in consecutive stool samples. Therefore, further longitudinal studies are required to gain more comprehensive knowledge about the role of such viruses on gut homeostasis.

Surveillance of non-polio enterovirus diversity among distinct patient groups in African countries, including PLHIV, plays an important role in not underestimating this neglected occurrence of EV infections and their potential impact on public health.

Supplementary Materials: Supplementary materials can be found at <http://www.mdpi.com/1999-4915/12/2/221/s1>.

Author Contributions: Conceptualization, V.D.C., K.W., S.B., F.S.S., T.F., K.A.E.; formal analysis, V.D.C., K.W., K.A.E.; investigation, V.D.C., K.W., E.K., E.H., S.B., A.D., M.W., L.-G.C.; methodology, S.B., K.W., K.A.E.; project administration, A.D.; resources, V.D.C., R.K., R.O.P., B.N.; supervision, F.S.S., R.K., R.O.P., B.N., T.F., A.D.; writing—original draft, V.D.C., K.W., S.B., K.A.E.; writing—review and editing, E.K., E.H., R.K., T.F., R.O.P., B.N., F.S.S., L.-G.C. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript

Funding: The present study was supported by the Koeln Fortune Program of the Faculty of Medicine of the University of Cologne (Germany), ESTHER Germany, and the German Federal Ministry of Education and Research (Project No. 01KA1102).

Acknowledgments: The authors are grateful to the patients and medical staff at the Komfo Anokye Teaching Hospital in Kumasi, Ghana.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

References

- Knowles, N.J.; Hovi, T.; Hyypiä, T.; King, A.M.Q.; Lindberg, A.M.; Pallansch, M.A.; Palmenberg, A.C.; Simmonds, P.; Skern, T.; Stanway, G.; et al. *Picornaviridae*; Andrew, M.Q., King, E.L., Michael, J., Adams, E.B., Carstens, S.D., Eds.; Elsevier: London, UK, 2012. [CrossRef]
- Wells, A.I.; Coyne, C.B. Enteroviruses: A Gut-Wrenching Game of Entry, Detection, and Evasion. *Viruses* **2019**, *11*, 460. [CrossRef]
- Minor, P.D. Live attenuated vaccines: Historical successes and current challenges. *Virology* **2015**. [CrossRef] [PubMed]
- Greene, S.A.; Ahmed, J.; Datta, S.D.; Burns, C.C.; Quddus, A.; Vertefeuille, J.F.; Wassilak, S.G.F. Progress Toward Polio Eradication-Worldwide, January 2017–March 2019. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **2019**, *68*, 458–462. [CrossRef] [PubMed]
- Bahl, S.; Bhatnagar, P.; Sutter, R.W.; Roesel, S.; Zaffran, M. Global Polio Eradication-Way Ahead. *Indian J. Pediatr.* **2018**, *85*, 124–131. [CrossRef] [PubMed]
- Suresh, S.; Forgie, S.; Robinson, J. Non-polio Enterovirus detection with acute flaccid paralysis: A systematic review. *J. Med. Virol.* **2018**, *90*, 3–7. [CrossRef]
- Morens, D.M.; Folkers, G.K.; Fauci, A.S. Acute Flaccid Myelitis: Something Old and Something New. *MBio* **2019**, *10*. [CrossRef]
- Lugo, D.; Krogstad, P. Enteroviruses in the early 21st century: New manifestations and challenges. *Curr. Opin. Pediatr.* **2016**, *28*, 107–113. [CrossRef]
- Rudolph, H.; Schroten, H.; Tenenbaum, T. Enterovirus Infections of the Central Nervous System in Children: An Update. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **2016**, *35*, 567–569. [CrossRef]
- Tebruegge, M.; Curtis, N. Enterovirus infections in neonates. *Semin. Fetal Neonatal Med.* **2009**, *14*, 222–227. [CrossRef]

11. Verma, N.A.; Zheng, X.T.; Harris, M.U.; Cadichon, S.B.; Melin-Aldana, H.; Khetsuriani, N.; Oberste, M.S.; Shulman, S.T. Outbreak of life-threatening coxsackievirus B1 myocarditis in neonates. *Clin. Infect. Dis.* **2009**, *49*, 759–763. [[CrossRef](#)]
12. Bragstad, K.; Jakobsen, K.; Rojahn, A.E.; Skram, M.K.; Vainio, K.; Holberg-Petersen, M.; Hungnes, O.; Dudman, S.G.; Kran, A.M. High frequency of enterovirus D68 in children hospitalised with respiratory illness in Norway, autumn 2014. *Influenza Other Respir. Viruses* **2015**, *9*, 59–63. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Esposito, S.; Chidini, G.; Cinnante, C.; Napolitano, L.; Giannini, A.; Terranova, L.; Niesters, H.; Principi, N.; Calderini, E. Acute flaccid myelitis associated with enterovirus-D68 infection in an otherwise healthy child. *Virol. J.* **2017**, *14*, 4. [[CrossRef](#)]
14. Messacar, K.; Asturias, E.J.; Hixon, A.M.; Van Leer-Buter, C.; Niesters, H.G.M.; Tyler, K.L.; Abzug, M.J.; Dominguez, S.R. Enterovirus D68 and acute flaccid myelitis-evaluating the evidence for causality. *Lancet Infect. Dis.* **2018**, *18*, e239–e247. [[CrossRef](#)]
15. Doitsh, G.; Galloway, N.L.; Geng, X.; Yang, Z.; Monroe, K.M.; Zepeda, O.; Hunt, P.W.; Hatano, H.; Sowinski, S.; Muñoz-Arias, I.; et al. Cell death by pyroptosis drives CD4 T-cell depletion in HIV-1 infection. *Nature* **2014**, *505*, 509–514. [[CrossRef](#)]
16. Taravilla, C.N.; Perez-Sebastian, I.; Salido, A.G.; Serrano, C.V.; Extremera, V.C.; Rodriguez, A.D.; Marin, L.L.; Sanz, M.A.; Traba, O.M.S.; Gonzalez, A.S. Enterovirus A71 Infection and Neurologic Disease, Madrid, Spain, 2016. *Emerg. Infect. Dis.* **2019**, *25*. [[CrossRef](#)]
17. Takechi, M.; Fukushima, W.; Nakano, T.; Inui, M.; Ohfuji, S.; Kase, T.; Ito, K.; Kondo, K.; Maeda, A.; Shimizu, H.; et al. Nationwide Survey of Pediatric Inpatients With Hand, Foot, and Mouth Disease, Herpangina, and Associated Complications During an Epidemic Period in Japan: Estimated Number of Hospitalized Patients and Factors Associated With Severe Cases. *J. Epidemiol.* **2019**, *29*, 354–362. [[CrossRef](#)]
18. Solomon, T.; Lewthwaite, P.; Perera, D.; Cardosa, M.J.; McMinn, P.; Ooi, M.H. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of enterovirus 71. *Lancet Infect. Dis.* **2010**, *10*, 778–790. [[CrossRef](#)]
19. Harvala, H.; Broberg, E.; Benschop, K.; Berginc, N.; Ladhani, S.; Susi, P.; Christiansen, C.; McKenna, J.; Allen, D.; Makiello, P.; et al. Recommendations for enterovirus diagnostics and characterisation within and beyond Europe. *J. Clin. Virol.* **2018**, *101*, 11–17. [[CrossRef](#)]
20. Momou, K.J.; Akoua-Koffi, C.; Akre, D.S.; Adjogoua, E.V.; Tieoulou, L.; Dosso, M. Detection of enteroviruses in urban wastewater in Yopougon, Abidjan. *Pathol. Biol.* **2012**, *60*, e21–e26. [[CrossRef](#)]
21. Odoom, J.K.; Obodai, E.; Barnor, J.S.; Ashun, M.; Arthur-Quarm, J.; Osei-Kwasi, M. Human Enteroviruses isolated during acute flaccid paralysis surveillance in Ghana: Implications for the post eradication era. *Pan Afr. Med. J.* **2012**, *12*, 74–82.
22. Faleye, T.O.C.; Adewumi, M.O.; Japhet, M.O.; David, O.M.; Oluyeye, A.O.; Adeniji, J.A.; Famurewa, O. Non-polio enteroviruses in faeces of children diagnosed with acute flaccid paralysis in Nigeria. *Virol. J.* **2017**, *14*, 175. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Cristanziano, V.D.; Bottcher, S.; Diedrich, S.; Timmen-Wego, M.; Knops, E.; Lubke, N.; Kaiser, R.; Pfister, H.; Kabore, Y.; D'Alfonso, R. Detection and characterization of enteroviruses and parechoviruses in healthy people living in the South of Cote d'Ivoire. *J. Clin. Virol.* **2015**, *71*, 40–43. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Attoh, J.; Obodai, E.; Adiku, T.; Odoom, J.K. Prevalence of human enteroviruses among apparently healthy nursery school children in Accra. *Pan Afr. Med. J.* **2014**, *18*, 66. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Osundare, F.A.; Opaleye, O.O.; Akindede, A.A.; Adedokun, S.A.; Akanbi, O.A.; Bock, C.T.; Diedrich, S.; Böttcher, S. Detection and Characterization of Human Enteroviruses, Human Cosaviruses, and a New Human Parechovirus Type in Healthy Individuals in Osun State, Nigeria, 2016/2017. *Viruses* **2019**, *11*, 37. [[CrossRef](#)]
26. Di Cristanziano, V.; Timmen-Wego, M.; Lubke, N.; Kaiser, R.; Pfister, H.; Di Cave, D.; Berrilli, F.; Kabore, Y.; D'Alfonso, R. Application of Luminex Gastrointestinal Pathogen Panel to human stool samples from Cote d'Ivoire. *J. Infect. Dev. Ctries* **2015**, *9*, 884–889. [[CrossRef](#)]
27. Wilfert, C.M.; Buckley, R.H.; Mohanakumar, T.; Griffith, J.F.; Katz, S.L.; Whisnant, J.K.; Eggleston, P.A.; Moore, M.; Treadwell, E.; Oxman, M.N.; et al. Persistent and fatal central-nervous-system ECHOvirus infections in patients with agammaglobulinemia. *N. Engl. J. Med.* **1977**, *296*, 1485–1489. [[CrossRef](#)]
28. Halliday, E.; Winkelstein, J.; Webster, A.D. Enteroviral infections in primary immunodeficiency (PID): A survey of morbidity and mortality. *J. Infect.* **2003**, *46*, 1–8. [[CrossRef](#)]

29. Tellez, R.; Lastinger, A.M.; Hogg, J.P. Chronic enteroviral meningoencephalitis in a patient on rituximab for the treatment of psoriatic arthritis: A case report and brief literature review. *IDCases* **2019**, *17*, e00558. [[CrossRef](#)]
30. Chakraborty, R.; Iturriza-Gomara, M.; Musoke, R.; Palakudy, T.; D'Agostino, A.; Gray, J. An epidemic of enterovirus 71 infection among HIV-1-infected orphans in Nairobi. *Aids* **2004**, *18*, 1968–1970. [[CrossRef](#)]
31. Alemu, G.; Alelign, D.; Abossie, A. Prevalence of Opportunistic Intestinal Parasites and Associated Factors among HIV Patients while Receiving ART at Arba Minch Hospital in Southern Ethiopia: A Cross-sectional Study. *Ethiop. J. Health Sci.* **2018**, *28*, 147–156. [[CrossRef](#)]
32. Gedle, D.; Kumera, G.; Eshete, T.; Ketema, K.; Adugna, H.; Feyera, F. Intestinal parasitic infections and its association with undernutrition and CD4 T cell levels among HIV/AIDS patients on HAART in Butajira, Ethiopia. *J. Health Popul. Nutr.* **2017**, *36*, 15. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Eberhardt, K.A.; Sarfo, F.S.; Dompok, A.; Kuffour, E.O.; Geldmacher, C.; Soltau, M.; Schachscheider, M.; Drexler, J.F.; Eis-Hübinger, A.M.; Häussinger, D.; et al. Helicobacter pylori Coinfection Is Associated With Decreased Markers of Immune Activation in ART-Naive HIV-Positive and in HIV-Negative Individuals in Ghana. *Clin. Infect. Dis.* **2015**, *61*, 1615–1623. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Sarfo, F.S.; Eberhardt, K.A.; Dompok, A.; Kuffour, E.O.; Soltau, M.; Schachscheider, M.; Drexler, J.F.; Eis-Hübinger, A.M.; Häussinger, D.; Oteng-Seifah, E.E.; et al. Helicobacter pylori Infection Is Associated with Higher CD4 T Cell Counts and Lower HIV-1 Viral Loads in ART-Naive HIV-Positive Patients in Ghana. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0143388. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Portes, S.A.R.; Carvalho-Costa, F.A.; Rocha, M.S.; Fumian, T.M.; Maranhao, A.G.; de Assis, R.M.; Xavier, M.; Miagostovich, M.P.; Leite, J.P.G.; Volotao, E.M. Enteric viruses in HIV-1 seropositive and HIV-1 seronegative children with diarrheal diseases in Brazil. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0183196. [[CrossRef](#)]
36. Monaco, C.L.; Gootenberg, D.B.; Zhao, G.; Handley, S.A.; Ghebremichael, M.S.; Lim, E.S.; Lankowski, A.; Baldridge, M.T.; Wilen, C.B.; Flagg, M.; et al. Altered Virome and Bacterial Microbiome in Human Immunodeficiency Virus-Associated Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Cell Host Microbe* **2016**, *19*, 311–322. [[CrossRef](#)]
37. Handley, S.A.; Desai, C.; Zhao, G.; Droit, L.; Monaco, C.L.; Schroeder, A.C.; Nkolola, J.P.; Norman, M.E.; Miller, A.D.; Wang, D.; et al. SIV Infection-Mediated Changes in Gastrointestinal Bacterial Microbiome and Virome Are Associated with Immunodeficiency and Prevented by Vaccination. *Cell Host Microbe* **2016**, *19*, 323–335. [[CrossRef](#)]
38. Mensah, K.A.; Okyere, P.; Doku, P.N. An evaluation of a community-based food supplementation for people living with HIV in Ghana: Implications for community-based interventions in Ghana. *BMC Res. Notes* **2015**, *8*, 519. [[CrossRef](#)]
39. Kapoor, A.; Victoria, J.; Simmonds, P.; Slikas, E.; Chieochansin, T.; Naeem, A.; Shaukat, S.; Sharif, S.; Alam, M.M.; Angez, M.; et al. A highly prevalent and genetically diversified Picornaviridae genus in South Asian children. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 20482–20487. [[CrossRef](#)]
40. Kroneman, A.; Vennema, H.; Deforche, K.V.D.; Avoort, H.V.D.; Penaranda, S.; Oberste, M.S.; Vinje, J.; Koopmans, M. An automated genotyping tool for enteroviruses and noroviruses. *J. Clin. Virol.* **2011**, *51*, 121–125. [[CrossRef](#)]
41. Harvala, H.; Robertson, I.; McWilliam Leitch, E.C.; Benschop, K.; Wolthers, K.C.; Templeton, K.; Simmonds, P. Epidemiology and clinical associations of human parechovirus respiratory infections. *J. Clin. Microbiol.* **2008**, *46*, 3446–3453. [[CrossRef](#)]
42. Holm-Hansen, C.C.; Midgley, S.E.; Fischer, T.K. Global emergence of enterovirus D68: A systematic review. *Lancet Infect. Dis.* **2016**, *16*, e64–e75. [[CrossRef](#)]
43. Brouwer, L.; van der Sanden, S.M.G.; Calis, J.C.J.; Bruning, A.H.L.; Wang, S.; Wildenbeest, J.G.; Rebers, S.P.H.; Phiri, K.S.; Westerhuis, B.M.; van Hensbroek, M.B.; et al. High frequency of Polio-like Enterovirus C strains with differential clustering of CVA-13 and EV-C99 subgenotypes in a cohort of Malawian children. *Arch. Virol.* **2018**, *163*, 2645–2653. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Sadeuh-Mba, S.A.; Bessaud, M.; Massenet, D.; Joffret, M.L.; Endegue, M.C.; Njouom, R.; Reynes, J.M.; Rousset, D.; Delpeyroux, F. High frequency and diversity of species C enteroviruses in Cameroon and neighboring countries. *J. Clin. Microbiol.* **2013**, *51*, 759–770. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Gouandjika-Vasilache, I.; Akoua-Koffi, C.; Begaud, E.; Dosseh, A. No evidence of prolonged enterovirus excretion in HIV-seropositive patients. *Trop. Med. Int. Health* **2005**, *10*, 743–747. [[CrossRef](#)]

46. Khetsuriani, N.; Helfand, R.; Pallansch, M.; Kew, O.; Fowlkes, A.; Oberste, M.S.; Tukei, P.; Muli, J.; Makokha, E.; Gary, H. Limited duration of vaccine poliovirus and other enterovirus excretion among human immunodeficiency virus infected children in Kenya. *BMC Infect. Dis.* **2009**, *9*, 136. [[CrossRef](#)]
47. Adeniji, J.A.; Oragwa, A.O.; George, U.E.; Ibok, U.I.; Faleye, T.O.C.; Adewumi, M.O. Preponderance of enterovirus C in RD-L20B-cell-culture-negative stool samples from children diagnosed with acute flaccid paralysis in Nigeria. *Arch. Virol.* **2017**, *162*, 3089–3101. [[CrossRef](#)]
48. Zhang, Y.; Sun, Q.; Cui, H.; Yan, D.; Fan, Q.; Song, Y.; Zhu, S.; Li, X.; Huang, G.; Ji, T.; et al. Circulation of multiple serotypes of highly divergent enterovirus C in the Xinjiang Uighur Autonomous Region of China. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 33595. [[CrossRef](#)]
49. Tokarz, R.; Haq, S.; Sameroff, S.; Howie, S.R.; Lipkin, W.I. Genomic analysis of coxsackieviruses A1, A19, A22, enteroviruses 113 and 104: Viruses representing two clades with distinct tropism within enterovirus C. *J. Gen. Virol.* **2013**, *94*, 1995–2004. [[CrossRef](#)]
50. Tang, J.; Tao, Z.; Ding, Z.; Zhang, Y.; Zhang, J.; Tian, B.; Zhao, Z.; Zhang, L.; Xu, W. Complete genome characterization of a novel enterovirus type EV-B106 isolated in China, 2012. *Sci. Rep.* **2014**, *4*, 4255. [[CrossRef](#)]
51. Sousa, I.P.; Burlandy, F.M.; Tavares, F.N.; da Silva, E.E. Enterovirus B74 associated with hand, foot and mouth disease. *Infect. Genet. Evol.* **2018**, *65*, 15–17. [[CrossRef](#)]
52. Harvala, H.; Van Nguyen, D.; McIntyre, C.; Ahuka-Mundeye, S.; Ngole, E.M.; Delaporte, E.; Peeters, M.; Simmonds, P. Co-circulation of enteroviruses between apes and humans. *J. Gen. Virol.* **2014**, *95*, 403–407. [[CrossRef](#)]
53. Ayukekbong, J.; Kabayiza, J.C.; Lindh, M.; Nkuo-Akenji, T.; Tah, E.; Bergström, T.; Norder, H. Shift of Enterovirus species among children in Cameroon—identification of a new enterovirus, EV-A119. *J. Clin. Virol.* **2013**, *58*, 227–232. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Sadeuh-Mba, S.A.; Bessaud, M.; Joffret, M.L.; Endegue Zanga, M.C.; Balanant, J.; Mpoudi Ngole, E.; Njouom, R.; Reynes, J.M.; Delpeyroux, F.; Rousset, D. Characterization of Enteroviruses from non-human primates in Cameroon revealed virus types widespread in humans along with candidate new types and species. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2014**, *8*, e3052. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Harvala, H.; McIntyre, C.L.; Imai, N.; Clasper, L.; Djoko, C.F.; LeBreton, M.; Vermeulen, M.; Saville, A.; Mutapi, F.; Tamoufé, U.; et al. High seroprevalence of enterovirus infections in apes and old world monkeys. *Emerg. Infect. Dis.* **2012**, *18*, 283–286. [[CrossRef](#)]
56. Khamrin, P.; Chaimongkol, N.; Malasao, R.; Suantai, B.; Saikhruang, W.; Kongsricharoern, T.; Ukarapol, N.; Okitsu, S.; Shimizu, H.; Hayakawa, S.; et al. Detection and molecular characterization of cosavirus in adults with diarrhea, Thailand. *Virus Genes* **2012**, *44*, 244–246. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
57. Stöcker, A.; Souza, B.F.; Ribeiro, T.C.; Netto, E.M.; Araujo, L.O.; Corrêa, J.I.; Almeida, P.S.; de Mattos, A.P.; Ribeiro, H.A.C.; Pedral-Sampaio, D.B.; et al. Cosavirus infection in persons with and without gastroenteritis, Brazil. *Emerg. Infect. Dis.* **2012**, *18*, 656–659. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
58. Oude Munnink, B.B.; Canuti, M.; Deijns, M.; de Vries, M.; Jebbink, M.F.; Rebers, S.; Molenkamp, R.; van Hemert, F.J.; Chung, K.; Cotten, M.; et al. Unexplained diarrhoea in HIV-1 infected individuals. *BMC Infect. Dis.* **2014**, *14*, 22. [[CrossRef](#)]
59. Campanini, G.; Rovida, F.; Meloni, F.; Cascina, A.; Ciccocioppo, R.; Piralla, A.; Baldanti, F. Persistent human cosavirus infection in lung transplant recipient, Italy. *Emerg. Infect. Dis.* **2013**, *19*, 1667–1669. [[CrossRef](#)]
60. Mukhopadhyay, I.; Segal, J.P.; Carding, S.R.; Hart, A.L.; Hold, G.L. The gut virome: The ‘missing link’ between gut bacteria and host immunity? *Therap. Adv. Gastroenterol.* **2019**, *12*. [[CrossRef](#)]



4. Diskussion

4.1 Epidemiologische Situation

Nicht-Polio-Enteroviren wird nach Ausrottung der Kinderlähmung zunehmend mehr Aufmerksamkeit geschenkt.

Sie gelten weltweit als Ursache für verschiedene Krankheiten und EV-bedingte Ausbrüche in Europa, Amerika und Asien in den letzten Jahren bewiesen das hohe pathogene Potenzial dieser Virusgruppe⁷⁸. Eine Studie in Norwegen ergab, dass 40 % der Kinder unter 12 Monaten und 90 % der Kinder unter 2 Jahren bereits eine EV-Infektion durchgemacht haben⁷⁹.

In einem Kinderkrankenhaus in Salt Lake City (Utah, USA) wurden zwischen Dezember 1996 und Dezember 1997 Kinder (n=345) in einem Alter von 90 Tagen und jünger mit einem fieberhaften Infekt auf Enteroviren untersucht. 89 Probanden (25,8 %) wurden EV positiv getestet. Die Inzidenz lag zwischen 3,2 % im Januar und 50 % im August und Oktober.⁸⁰

Verboon et al. beschreiben in den Niederlanden eine Inzidenz von 26 pro 100.000 Neugeborenen in einem Alter von 30 Tagen und jünger.⁸¹

Auch die aktuelle Übersichtsarbeit von Brouwer et al. zeigt, dass Enteroviren weltweit verbreitet sind und vergleichbare Prävalenzraten auf allen Kontinenten aufweisen. EV B war die am häufigsten nachgewiesene Spezies, während die anderen kontinentspezifische Unterschiede aufwiesen, wobei EV C mehr in Afrika und EV A mehr in Asien nachgewiesen wurde.⁷

Verschiedene Studien, die auf dem afrikanischen Kontinent mit asymptomatischen Teilnehmern durchgeführt wurden, beschäftigen sich mit der Nachweiserate von Enteroviren in Stuhlproben. Dies könnte zu einer Verzerrung der Nachweiserate von EV C geführt haben, da die Typen dieser Spezies vorwiegend gastrointestinale Symptome verursachen und die Prävalenz bei Kindern besonders hoch ist. Diese Ergebnisse stehen jedoch im Einklang mit Ergebnissen aus afrikanischen Umweltproben, in denen EV C Stämme besonders häufig vorkommen.^{46,47}

Auch in unserer Kohorte wurde die Mehrheit der Stämme dem EV C zugeordnet, was einerseits die kontinentspezifischen Unterschiede bestätigt, andererseits zu einer Verzerrung geführt haben könnte, da wir ausschließlich Stuhlproben auf Enteroviren getestet haben.

Daten über EV-Infektionen, die bei Menschen in Afrika südlich der Sahara auftreten, sind generell noch begrenzt und beziehen sich meist auf die pädiatrische Bevölkerung. Brouwer et al. wiesen in 89,9 % der Stuhlproben von Kindern aus Malawi im Alter von 5 Jahren Enteroviren mittels Echtzeit-RT-PCR. Hierbei ergaben sich keine Unterschiede in den Enterovirus-Nachweiseraten zwischen Kindern mit und ohne schwere Anämie.²⁹

Keine andere Studie konnte bislang eine vergleichbar hohe Nachweiserate belegen⁸².

In unserer vorliegenden Kohorte wurden 352 Stuhlproben analysiert, um den Zusammenhang zwischen einem positiven HIV-Status und einem höheren Risiko einer Co-Infektion mit EVs zu

untersuchen. Es wurden 40 von 352 Stuhlproben positiv auf EVs getestet, was einer Nachweisrate von 11,4 % entspricht. Obwohl dieses Ergebnis scheinbar bescheiden ist, bestätigt es, dass die Zirkulation von EVs in Ghana ein Phänomen ist, das nicht auf die Kindheit beschränkt ist, wenn man bedenkt, dass das Durchschnittsalter der Teilnehmer 38,2 (\pm 10,6) betrug. Dennoch wurde beobachtet, dass in unserer Erwachsenenkohorte ein niedrigeres Durchschnittsalter bei HIV-negativen Teilnehmern mit EV-Infektion im Vergleich zu denen ohne EV-Infektion vorlag. Eine Studie berichtete über eine ähnliche Infektionsrate bei gesunden Personen in Nigeria, einschließlich Kindern und Erwachsene ²⁰. Offenbar war die HIV-Infektion nicht mit einer höheren Rate an EV-Infektionen im Vergleich zu HIV-negativen Erwachsenen assoziiert. Bisher verfügbare Daten scheinen dieses Ergebnis unabhängig vom Alter zu bestätigen ^{83,84}.

Die höhere Diversität der EVs sowie der Nachweis von seltenen und zoonotischen EV-Typen, meist bei HIV-positiven Personen, bieten jedoch weitere Anreize, die Bedeutung von EV-Infektionen bei PLHIV besser zu verstehen.

4.2 EV-Genotypen

Es liegen wenige Studien vor, die sich mit einer möglicherweise unterschiedlichen Pathogenität der verschiedenen EV-Subtypen bei gesunden und immunsupprimierten Patienten beschäftigen. Zumeist wird nur die Verteilung der einzelnen EV-Typen in der Allgemeinbevölkerung untersucht. In unserer Studie wurde die Mehrheit der Stämme dem EV C (29/39) zugeordnet, die oft als die häufigste in Afrika südlich der Sahara zirkulierende Gruppe beschrieben wird ^{29,30}. Innerhalb dieser Spezies waren CVA20 und EV-C99 die in unserer Kohorte am häufigsten identifizierten Serotypen. Obwohl beide Serotypen von AFP-Patienten isoliert wurden, wurden sie häufiger bei scheinbar gesunden Menschen identifiziert ^{20,21,29,31}.

In unserer Kohorte hatten alle HIV-positiven Personen, bis auf einen, die mit diesen Serotypen infiziert waren, eine CD4+ T-Zellzahl von mehr als 200 Zellen/ μ l. Diese beiden Serotypen konnten sowohl bei HIV-positiven als auch bei HIV-negativen Personen nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu wurde das selten berichtete EV-C113 nur bei HIV-positiven Patienten nachgewiesen ⁸⁵.

Interessanterweise war der Nachweis von Enterovirus-Stämmen, die zu den Spezies Enterovirus A und Enterovirus B gehören, auf HIV-infizierte Teilnehmer beschränkt. Insbesondere zwei HIV-positive Teilnehmer mit einer CD4+ T-Zellzahl > 200 Zellen/ μ l wurden positiv für zwei selten beschriebene Serotypen getestet, nämlich EV-B106 und EV-B74 ^{86,87}.

Der Serotyp EV-A119 wurde bei drei weiblichen HIV-positiven Personen mit einer CD4+ T-Zellzahl von unter 200 Zellen/ μ l und einem Alter von 45 Jahren oder mehr nachgewiesen, während EV-A76 bei einem HIV-positiven Patienten mit einer niedrigen CD4+ T-Zellzahl und

mehreren klinischen Beschwerden, einschließlich Husten, gastrointestinalen Symptomen und Hautausschlag, gefunden wurde. Beide Serotypen sind für ihr zoonotisches Potenzial bekannt und wurden bei nichtmenschlichen Primaten in West- und Zentralafrika isoliert ⁸⁸⁻⁹¹.

Die Beobachtung, dass in unserer Kohorte nur PLHIV mit selten zirkulierenden Serotypen infiziert wurden, stellt einen neuen Hinweis dar, dessen Bedeutung weiter untersucht werden muss. Die Beeinträchtigung der gastrointestinalen Immunität, die durch HIV induziert wird, könnte eine mögliche Erklärung sein.

In Übereinstimmung mit diesem Ergebnis konnten neben der Infektion mit EVs fast ausschließlich bei HIV-positiven Patienten auch Infektionen mit anderen enterischen viralen Erregern gefunden werden.

Es ist interessant, dass der Nachweis von CoSV-Infektionen bei EV-positiven Personen (6/40, 15 %) im Vergleich zu den wenigen verfügbaren Daten anderer Kohorten von Erwachsenen eher höher war ²⁰.

Bislang wurden CoSV-Infektionen bei Erwachsenen weltweit nur selten berichtet. CoSV wurde bei einem von 1000 erwachsenen Patienten mit Gastroenteritis in Schottland und in einer von 150 Stuhlproben von Erwachsenen mit Diarrhöe in Thailand gefunden ^{92,93}. Ähnliche Daten wurden von immungeschwächten Personen gewonnen.

Bei HIV-infizierten Patienten wurde CoSV bei einem von 154 Patienten, die an Gastroenteritis in Brasilien und bei drei von 196 Patienten mit und ohne Diarrhoe in den Niederlanden nachgewiesen ^{94,95}. Ein Fall von persistierender CoSV-Infektion und chronischer Diarrhö wurde auch bei einem Lungentransplantationsempfänger beschrieben ⁹⁶.

In der vorliegenden Kohorte ist der fast ausschließliche Nachweis von anderen viralen enterischen Erregern bei EV-positiven HIV-Infizierten ein Hinweis auf eine veränderte Immunität der Darmschleimhaut bei dieser Patientengruppe.

Eine durchgeführte Untersuchung an einer Kohorte ugandischer Patienten zeigte, dass fortgeschrittenes HIV / AIDS mit der Ausbreitung des enterischen Viroms, insbesondere der AdVs, assoziiert ist ²⁷.

Unsere Daten bestätigten eine höhere Belastung, in Bezug auf die Variabilität der EVs und die Rate der Co-Infektionen mit anderen gastrointestinalen Viren bei HIV-infizierten Patienten im Vergleich zu HIV-negativen Personen. AdVs stellten den häufigsten viralen Erreger dar, der als Co-Infektion nachgewiesen wurde.

Die Assoziation der CD4+ T-Zellzahl bei HIV-positiven Personen mit verschiedenen EV-Spezies stellt einen neuen Aspekt der vorliegenden Studie dar. Selten berichtete EV A-Infektionen sowie Infektionen mit zoonotischen potenziellen Typen wurden fast ausschließlich bei HIV-positiven Individuen mit einem geschwächten Immunsystem, wie durch eine niedrige CD4+ T-Zellzahl angezeigt.

Im Gegensatz dazu war die Infektion von EV C-Typen bei HIV-positiven Teilnehmern unabhängig mit einer höheren CD4+ T-Zellzahl im Vergleich zu nicht mit Enteroviren infizierten PLHIV assoziiert.

Bislang ist EV C die einzige Spezies der humanen EVs, die nicht in Tieren nachgewiesen werden konnte, was bestätigt, dass diese hochspezifisch für den Menschen ist. In Anbetracht der Tatsache, dass die Spezies EV C bei gesunden Menschen häufiger vorkommt, könnte man annehmen, dass Mitglieder dieser Virusgruppe in der Lage sind, sich stabil im menschlichen Darm replizieren können, was auf einen günstigen Gesundheitszustand schließen lässt⁹⁷. Andererseits könnte die höhere Anzahl an CD4+ T-Zellen/ μ l, die bei HIV-positiven Personen, die mit EV-C-Stämmen infiziert sind, im Vergleich zu HIV-positiven Teilnehmern ohne EV-Infektion, auf eine zellvermittelte Immunantwort gegen die Co-Infektion hinweisen.

Ein weiterer bemerkenswerter Aspekt dieser Studie ist die Tatsache, dass eine Co-Infektion mit CoSV signifikant häufiger bei EV-infizierten PLHIV mit CD4+ T-Zellzahlen unter 200 Zellen/ μ l auftritt, was auf die mögliche Rolle von CoSV als opportunistisches Agens hinweist.

4.3 Fazit

Insgesamt liefert die vorliegende Studie die ersten Daten über EVs und zusätzliche enterische Co-Infektionen bei HIV-positiven und HIV-negativen Erwachsenen in Ghana. Obwohl Infektionen mit EV bei PLHIV nicht häufiger auftraten, wurde eine höhere Diversität von EVs, einschließlich seltener und zoonotischer Typen überwiegend bei HIV-positiven Personen mit einer niedrigen CD4+T-Zellzahl Anzahl nachgewiesen. Infektionen mit zusätzlichen enterischen Viren wurden fast ausschließlich bei HIV-infizierten Personen gefunden, was die schädliche Wirkung von HIV auf die Darmhomöostase bestätigt. Da eine verlängerte EV-Ausscheidung ein Biomarker für eine defekte Immunabwehr gegen EV sein könnte, wäre es von Interesse, ob HIV-positive Personen, die mit EVs infiziert sind, eine verlängerte Ausscheidung desselben Serotyps in aufeinanderfolgenden Stuhlproben aufweisen.

Daher sind weitere Längsschnittstudien erforderlich, um umfassendere Erkenntnisse über die Rolle solcher Viren auf die Darmhomöostase zu gewinnen.

Die Überwachung der Diversität von Nicht-Polio-EVs unter verschiedenen Patientengruppen in afrikanischen Ländern, einschließlich PLHIV, spielt eine wichtige Rolle, um dieses vernachlässigte Auftreten von EV-Infektionen und deren mögliche Auswirkungen auf die öffentliche Gesundheit nicht zu unterschätzen.

4.4 Limitationen

Angesichts des Mangels an Daten über die Verbreitung von EVs bei immungeschwächten Personen wie HIV in Endemiegebieten, liefert diese Studie erste vielversprechende Ergebnisse. Dennoch weist die vorliegende Arbeit einige Limitationen auf. Durch die Einbeziehung weniger HIV-negativer Proben (n=102) im Vergleich zu den HIV-positiven Proben (n=250) wird die Aussagekraft eingeschränkt. Ob eine höhere Anzahl an HIV-negativen Stuhlproben das Ergebnis signifikant verändern würde, muss in weiteren Studien analysiert werden. Auch liefert diese Arbeit nur eine erste Analyse zwischen dem Auftreten von EVs und zusätzlichen gastrointestinalen Co-Infektionen bei HIV-positiven Patienten. Jedoch können die Ergebnisse nicht uneingeschränkt auf andere immunsupprimierende Erkrankungen übertragen werden. Die Ergebnisse sollen den Weg für zukünftige Studien ebnen und können trotz ihrer Einschränkungen als Basis weiterer Studien herangezogen werden. Hierbei gilt es prospektive Modelle zu wählen, mit längerer Nachbeobachtung und multizentrischer Datenerhebung.

5. Literaturverzeichnis

1. Wells AI, Coyne CB. Enteroviruses: A Gut-Wrenching Game of Entry, Detection, and Evasion. *Viruses* 2019; **11**(5).
2. Nikonov OS, Chernykh ES, Garber MB, Nikonova EY. Enteroviruses: Classification, Diseases They Cause, and Approaches to Development of Antiviral Drugs. *Biochemistry Biokhimiia* 2017; **82**(13): 1615-31.
3. Lukashev AN, Vakulenko YA, Turbabina NA, Deviatkin AA, Drexler JF. Molecular epidemiology and phylogenetics of human enteroviruses: Is there a forest behind the trees? *Reviews in medical virology* 2018; **28**(6): e2002.
4. Minor PD. Live attenuated vaccines: Historical successes and current challenges. *Virology* 2015; **479-480**: 379-92.
5. Suresh S, Forgie S, Robinson J. Non-polio Enterovirus detection with acute flaccid paralysis: A systematic review. *Journal of medical virology* 2018; **90**(1): 3-7.
6. Morens DM, Folkers GK, Fauci AS. Acute Flaccid Myelitis: Something Old and Something New. 2019; **10**(2): e00521-19.
7. Brouwer L, Moreni G, Wolthers KC, Pajkrt D. World-Wide Prevalence and Genotype Distribution of Enteroviruses. *Viruses* 2021; **13**(3).
8. Verma NA, Zheng XT, Harris MU, et al. Outbreak of Life-Threatening Coxsackievirus B1 Myocarditis in Neonates. *Clinical Infectious Diseases* 2009; **49**(5): 759-63.
9. Bragstad K, Jakobsen K, Rojahn AE, et al. High frequency of enterovirus D68 in children hospitalised with respiratory illness in Norway, autumn 2014. *Influenza and other respiratory viruses* 2015; **9**(2): 59-63.
10. Esposito S, Chidini G, Cinnante C, et al. Acute flaccid myelitis associated with enterovirus-D68 infection in an otherwise healthy child. *Virology Journal* 2017; **14**(1): 4.
11. Messacar K, Asturias EJ, Hixon AM, et al. Enterovirus D68 and acute flaccid myelitis—evaluating the evidence for causality. *The Lancet Infectious Diseases* 2018; **18**(8): e239-e47.
12. Doitsh G, Galloway NLK, Geng X, et al. Cell death by pyroptosis drives CD4 T-cell depletion in HIV-1 infection. *Nature* 2014; **505**(7484): 509-14.
13. Taravilla CN, Pérez-Sebastián I, Salido AG, et al. Enterovirus A71 Infection and Neurologic Disease, Madrid, Spain, 2016. *Emerging infectious diseases* 2019; **25**(1): 25-32.
14. Takechi M, Fukushima W, Nakano T, et al. Nationwide Survey of Pediatric Inpatients With Hand, Foot, and Mouth Disease, Herpangina, and Associated Complications During an Epidemic Period in Japan: Estimated Number of Hospitalized Patients and Factors Associated With Severe Cases. *Journal of Epidemiology* 2019; **29**(9): 354-62.
15. Momou KJ, Akoua-Koffi C, Akré DS, Adjogoua EV, Tiéoulou L, Dosso M. Détection d'entérovirus dans les eaux usées urbaines à Yopougon, Abidjan. *Pathologie Biologie* 2012; **60**(3): e21-e6.
16. Solomon T, Lewthwaite P, Perera D, Cardoso MJ, McMinn P, Ooi MH. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of enterovirus 71. *The Lancet Infectious Diseases* 2010; **10**(11): 778-90.
17. Tebruegge M, Curtis N. Enterovirus infections in neonates. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* 2009; **14**(4): 222-7.
18. Pellegrinelli L, Galli C, Primache V, et al. Emerging Non-Polio Enteroviruses recognized in the framework of the Acute Flaccid Paralysis (AFP) surveillance system in Northern Italy, 2016-2018. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases* 2021; **106**: 36-40.

19. Attoh J, Obodai E, Adiku T, Odoom JK. Prevalence of human enteroviruses among apparently healthy nursery school children in Accra. *The Pan African medical journal* 2014; **18**: 66.
20. Osundare FA, Opaleye OO, Akindele AA, et al. Detection and Characterization of Human Enteroviruses, Human Cosaviruses, and a New Human Parechovirus Type in Healthy Individuals in Osun State, Nigeria, 2016/2017. *Viruses* 2019; **11**(11).
21. Cristanziano VD, Böttcher S, Diedrich S, et al. Detection and characterization of enteroviruses and parechoviruses in healthy people living in the South of Côte d'Ivoire. *Journal of Clinical Virology* 2015; **71**: 40-3.
22. Veronica Di C, Monika T-W, Nadine L, et al. Application of Luminex Gastrointestinal Pathogen Panel to human stool samples from Côte d'Ivoire. *The Journal of Infection in Developing Countries* 2015; **9**(08).
23. Chakraborty R, Iturriza-Gómara M, Musoke R, Palakudy T, D'Agostino A, Gray J. An epidemic of enterovirus 71 infection among HIV-1-infected orphans in Nairobi. 2004; **18**(14): 1968-70.
24. Alemu G, Alelign D, Abossie A. Prevalence of Opportunistic Intestinal Parasites and Associated Factors among HIV Patients while Receiving ART at Arba Minch Hospital in Southern Ethiopia: A Cross-sectional Study. *Ethiopian Journal of Health Sciences* 2018; **28**(2): 147-56.
25. Sarfo FS, Eberhardt KA, Dompok A, et al. Helicobacter pylori Infection Is Associated with Higher CD4 T Cell Counts and Lower HIV-1 Viral Loads in ART-Naïve HIV-Positive Patients in Ghana. *PLOS ONE* 2015; **10**(11): e0143388.
26. Portes SAR, Carvalho-Costa FA, Rocha MS, et al. Enteric viruses in HIV-1 seropositive and HIV-1 seronegative children with diarrheal diseases in Brazil. *PLOS ONE* 2017; **12**(8): e0183196.
27. Monaco Cynthia L, Gootenberg David B, Zhao G, et al. Altered Virome and Bacterial Microbiome in Human Immunodeficiency Virus-Associated Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Cell Host & Microbe* 2016; **19**(3): 311-22.
28. Mensah KA, Okyere P, Doku PN. An evaluation of a community-based food supplementation for people living with HIV in Ghana: implications for community-based interventions in Ghana. *BMC Research Notes* 2015; **8**(1): 519.
29. Brouwer L, van der Sanden SMG, Calis JCJ, et al. High frequency of Polio-like Enterovirus C strains with differential clustering of CVA-13 and EV-C99 subgenotypes in a cohort of Malawian children. *Archives of Virology* 2018; **163**(10): 2645-53.
30. Adeniji JA, Oragwa AO, George UE, Ibok UI, Faleye TOC, Adewumi MO. Preponderance of enterovirus C in RD-L20B-cell-culture-negative stool samples from children diagnosed with acute flaccid paralysis in Nigeria. *Archives of Virology* 2017; **162**(10): 3089-101.
31. Zhang Y, Sun Q, Cui H, et al. Circulation of multiple serotypes of highly divergent enterovirus C in the Xinjiang Uighur Autonomous Region of China. *Scientific Reports* 2016; **6**(1): 33595.
32. Modrow S, Falke D, Truyen U, Schätzl H. Viren mit einzelsträngigem RNA-Genom in Plusstrangorientierung. *Molekulare virologie*: Springer; 2010: 145-262.
33. Knowles NJ, Hovi T, Hyypiä T, et al. Family - Picornaviridae. In: King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz EJ, eds. *Virus Taxonomy*. San Diego: Elsevier; 2012: 855-80.
34. Greene SA, Ahmed J, Datta SD, et al. Progress Toward Polio Eradication - Worldwide, January 2017-March 2019. *MMWR Morbidity and mortality weekly report* 2019; **68**(20): 458-62.

35. Tangermann RH, Lamoureux C, Tallis G, Goel A. The critical role of acute flaccid paralysis surveillance in the Global Polio Eradication Initiative. *International Health* 2017; **9**(3): 156-63.
36. Nafisa S, Paul P, Sovani M. A Case Report of Acute Flaccid Paralysis Caused by Enterovirus D68 Infection: The Beginning of a Polio-Like Epidemic? *Cureus* 2021; **13**(6): e15625.
37. Lugo D, Krogstad P. Enteroviruses in the early 21st century: new manifestations and challenges. *Current Opinion in Pediatrics* 2016; **28**(1).
38. Rudolph H, Schrotten H, Tenenbaum T. Enterovirus Infections of the Central Nervous System in Children: An Update. *The Pediatric Infectious Disease Journal* 2016; **35**(5).
39. Harvala H, Broberg E, Benschop K, et al. Recommendations for enterovirus diagnostics and characterisation within and beyond Europe. *Journal of Clinical Virology* 2018; **101**: 11-7.
40. Faleye TOC, Adewumi MO, Japhet MO, et al. Non-polio enteroviruses in faeces of children diagnosed with acute flaccid paralysis in Nigeria. *Virol J* 2017; **14**(1): 175.
41. Odoom JK, Obodai E, Barnor JS, Ashun M, Arthur-Quarm J, Osei-Kwasi M. Human Enteroviruses isolated during acute flaccid paralysis surveillance in Ghana: implications for the post eradication era. *The Pan African medical journal* 2012; **12**: 74.
42. Österback R, Kalliokoski T, Lähdesmäki T, Peltola V, Ruuskanen O, Waris M. Echovirus 30 meningitis epidemic followed by an outbreak-specific RT-qPCR. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2015; **69**: 7-11.
43. Broberg EK, Simone B, Jansa J. Upsurge in echovirus 30 detections in five EU/EEA countries, April to September, 2018. *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* 2018; **23**(44).
44. Smuts H, Cronje S, Thomas J, Brink D, Korsman S, Hardie D. Molecular characterization of an outbreak of enterovirus-associated meningitis in Mossel Bay, South Africa, December 2015-January 2016. *BMC Infect Dis* 2018; **18**(1): 709.
45. Maruo Y, Nakanishi M, Suzuki Y, et al. Outbreak of aseptic meningitis caused by echovirus 30 in Kushiro, Japan in 2017. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2019; **116**: 34-8.
46. Ndiaye AK, Diop PA, Diop OM. Environmental surveillance of poliovirus and non-polio enterovirus in urban sewage in Dakar, Senegal (2007-2013). *The Pan African medical journal* 2014; **19**: 243.
47. Majumdar M, Klapsa D, Wilton T, et al. High Diversity of Human Non-Polio Enterovirus Serotypes Identified in Contaminated Water in Nigeria. *Viruses* 2021; **13**(2).
48. Chasqueira MJ, Paixão P, Rodrigues ML, et al. Respiratory infections in elderly people: Viral role in a resident population of elderly care centers in Lisbon, winter 2013-2014. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases* 2018; **69**: 1-7.
49. Rossmann MG, Arnold E, Erickson JW, et al. Structure of a human common cold virus and functional relationship to other picornaviruses. *Nature* 1985; **317**(6033): 145-53.
50. Jubelt B, Lipton HL. Chapter 18 - Enterovirus/Picornavirus infections. In: Tselis AC, Booss J, eds. *Handbook of Clinical Neurology*: Elsevier; 2014: 379-416.
51. Linden LVd, Wolthers KC, Van Kuppeveld FJM. Replication and Inhibitors of Enteroviruses and Parechoviruses. 2015; **7**(8): 4529-62.

52. Falke D, Schulz TF. Virusreplikation. In: Hahn H, Kaufmann SHE, Schulz TF, Suerbaum S, eds. *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2009: 439-45.
53. Fanales-Belasio E, Raimondo M, Suligoi B, Buttò S. HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. *Annali dell'Istituto superiore di sanita* 2010; **46**(1): 5-14.
54. Gedle D, Kumera G, Eshete T, Ketema K, Adugna H, Feyera F. Intestinal parasitic infections and its association with undernutrition and CD4 T cell levels among HIV/AIDS patients on HAART in Butajira, Ethiopia. *Journal of health, population, and nutrition* 2017; **36**(1): 15.
55. Eberhardt KA, Sarfo FS, Dompok A, et al. Helicobacter pylori Coinfection Is Associated With Decreased Markers of Immune Activation in ART-Naive HIV-Positive and in HIV-Negative Individuals in Ghana. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2015; **61**(10): 1615-23.
56. Owusu AY. A gendered analysis of living with HIV/AIDS in the Eastern Region of Ghana. *BMC Public Health* 2020; **20**(1): 751-.
57. UNAIDS. Country factsheets Ghana 2020. 2020. <https://www.unaids.org/en/regionscountries/countries/ghana>.
58. Ali H, Amoyaw F, Baden D, et al. Ghana's HIV epidemic and PEPFAR's contribution towards epidemic control. *Ghana Med J* 2019; **53**(1): 59-62.
59. de Graaf M, van Beek J, Koopmans MP. Human norovirus transmission and evolution in a changing world. *Nature reviews Microbiology* 2016; **14**(7): 421-33.
60. Atmar RL, Ramani S, Estes MK. Human noroviruses: recent advances in a 50-year history. *Current Opinion in Infectious Diseases* 2018; **31**(5).
61. Stöcker W, Schlumberger W. Adenoviren. In: Gressner AM, Arndt T, eds. *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2019: 26-7.
62. Lynch JP, 3rd, Fishbein M, Echavarria M. Adenovirus. *Seminars in respiratory and critical care medicine* 2011; **32**(4): 494-511.
63. Lion T. Adenovirus infections in immunocompetent and immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev* 2014; **27**(3): 441-62.
64. LeClair CE, Budh DP. Rotavirus. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2020, StatPearls Publishing LLC.; 2020.
65. Patton JT. Rotavirus diversity and evolution in the post-vaccine world. *Discov Med* 2012; **13**(68): 85-97.
66. Cortez V, Meliopoulos VA, Karlsson EA, Hargest V, Johnson C, Schultz-Cherry S. Astrovirus Biology and Pathogenesis. *Annual review of virology* 2017; **4**(1): 327-48.
67. Johnson C, Hargest V, Cortez V, Meliopoulos VA, Schultz-Cherry S. Astrovirus Pathogenesis. *Viruses* 2017; **9**(1): 22.
68. Makhaola K, Moyo S, Kebaabetswe LP. Distribution and Genetic Variability of Sapoviruses in Africa. *Viruses* 2020; **12**(5).
69. Bonanno Ferraro G, Mancini P, Divizia M, et al. Occurrence and Genetic Diversity of Human Cosavirus in Sewage in Italy. *Food and Environmental Virology* 2018; **10**(4): 386-90.
70. Ogbo FA, Agho K, Ogeleka P, et al. Infant feeding practices and diarrhoea in sub-Saharan African countries with high diarrhoea mortality. *PloS one* 2017; **12**(2): e0171792-e.

71. Thapar N, Sanderson IR. Diarrhoea in children: an interface between developing and developed countries. *The Lancet* 2004; **363**(9409): 641-53.
72. Kotloff KL, Nataro JP, Blackwelder WC, et al. Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): a prospective, case-control study. *The Lancet* 2013; **382**(9888): 209-22.
73. Prendergast A, Kelly P. Enteropathies in the developing world: neglected effects on global health. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 2012; **86**(5): 756-63.
74. Oppong TB, Yang H, Amponsem-Boateng C, et al. Enteric pathogens associated with gastroenteritis among children under 5 years in sub-Saharan Africa: a systematic review and meta-analysis. *Epidemiol Infect* 2020; **148**: e64-e.
75. Wilfert CM, Buckley RH, Mohanakumar T, et al. Persistent and Fatal Central-Nervous-System ECHOvirus Infections in Patients with Agammaglobulinemia. 1977; **296**(26): 1485-9.
76. Halliday E, Winkelstein J, Webster ADB. Enteroviral Infections in Primary Immunodeficiency (PID): A Survey of Morbidity and Mortality. *Journal of Infection* 2003; **46**(1): 1-8.
77. Tellez R, Lastinger AM, Hogg JP. Chronic enteroviral meningoencephalitis in a patient on rituximab for the treatment of psoriatic arthritis: A case report and brief literature review. *IDCases* 2019; **17**: e00558.
78. Holm-Hansen CC, Midgley SE, Fischer TK. Global emergence of enterovirus D68: a systematic review. *The Lancet Infectious Diseases* 2016; **16**(5): e64-e75.
79. de Crom SCM, Rossen JWA, van Furth AM, Obihara CC. Enterovirus and parechovirus infection in children: a brief overview. *European Journal of Pediatrics* 2016; **175**(8): 1023-9.
80. Byington CL, Taggart EW, Carroll KC, Hillyard DR. A polymerase chain reaction-based epidemiologic investigation of the incidence of nonpolio enteroviral infections in febrile and afebrile infants 90 days and younger. *Pediatrics* 1999; **103**(3): E27.
81. Verboon-Macielek MA, Krediet TG, van Loon AM, et al. Epidemiological survey of neonatal non-polio enterovirus infection in the Netherlands. *Journal of medical virology* 2002; **66**(2): 241-5.
82. Sadeuh-Mba SA, Bessaud M, Massenet D, et al. High Frequency and Diversity of Species C Enteroviruses in Cameroon and Neighboring Countries. *Journal of Clinical Microbiology* 2013; **51**(3): 759.
83. Gouandjika-Vasilache I, Akoua-Koffi C, Begaud E, Dosseh A. No evidence of prolonged enterovirus excretion in HIV-seropositive patients. *Tropical medicine & international health : TM & IH* 2005; **10**(8): 743-7.
84. Khetsuriani N, Helfand R, Pallansch M, et al. Limited duration of vaccine poliovirus and other enterovirus excretion among human immunodeficiency virus infected children in Kenya. *BMC Infectious Diseases* 2009; **9**(1): 136.
85. Tokarz R, Haq S, Sameroff S, Howie SRC, Lipkin WI. Genomic analysis of coxsackieviruses A1, A19, A22, enteroviruses 113 and 104: viruses representing two clades with distinct tropism within enterovirus C. *The Journal of general virology* 2013; **94**(Pt 9): 1995-2004.
86. Tang J, Tao Z, Ding Z, et al. Complete Genome Characterization of a Novel Enterovirus Type EV-B106 Isolated in China, 2012. *Scientific Reports* 2014; **4**(1): 4255.
87. Sousa IP, Burlandy FM, Tavares FN, da Silva EE. Enterovirus B74 associated with hand, foot and mouth disease. *Infection, Genetics and Evolution* 2018; **65**: 15-7.

88. Harvala H, Van Nguyen D, McIntyre C, et al. Co-circulation of enteroviruses between apes and humans. *The Journal of general virology* 2014; **95**(Pt 2): 403-7.
89. Ayukekbong J, Kabayiza JC, Lindh M, et al. Shift of Enterovirus species among children in Cameroon--identification of a new enterovirus, EV-A119. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2013; **58**(1): 227-32.
90. Sadeuh-Mba SA, Bessaud M, Joffret ML, et al. Characterization of Enteroviruses from non-human primates in cameroon revealed virus types widespread in humans along with candidate new types and species. *PLoS neglected tropical diseases* 2014; **8**(7): e3052.
91. Harvala H, McIntyre C, Imai N, et al. High Seroprevalence of Enterovirus Infections in Apes and Old World Monkeys. *Emerging Infectious Disease journal* 2012; **18**(2): 283.
92. Kapoor A, Victoria J, Simmonds P, et al. A highly prevalent and genetically diversified Picornaviridae genus in South Asian children. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2008; **105**(51): 20482-7.
93. Khamrin P, Chaimongkol N, Malasao R, et al. Detection and molecular characterization of cosavirus in adults with diarrhea, Thailand. *Virus genes* 2012; **44**(2): 244-6.
94. Stöcker A, Souza BF, Ribeiro TC, et al. Cosavirus infection in persons with and without gastroenteritis, Brazil. *Emerging infectious diseases* 2012; **18**(4): 656-9.
95. Oude Munnink BB, Canuti M, Deijs M, et al. Unexplained diarrhoea in HIV-1 infected individuals. *BMC Infectious Diseases* 2014; **14**(1): 22.
96. Campanini G, Rovida F, Meloni F, et al. Persistent human cosavirus infection in lung transplant recipient, Italy. *Emerging infectious diseases* 2013; **19**(10): 1667-9.
97. Mukhopadhyaya I, Segal JP, Carding SR, Hart AL, Hold GL. The gut virome: the 'missing link' between gut bacteria and host immunity? *Therapeutic advances in gastroenterology* 2019; **12**: 1756284819836620.

6. Anhang

6.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung der ikosaedrischen Kapsidhülle	15
Abbildung 2: Enterovirus Genom	16
Abbildung 3: Enterovirus Replikationszyklus	17