



ARTIGO ORIGINAL

Detecção de rotavírus nas fezes de crianças com diarreia aguda

Rotavirus detection in feces of children with acute diarrhea

José V. Fernandes¹, Sylvia M.D. Fonseca², Jenner C.V. de Azevedo³, Helcio de S. Maranhão⁴,
Maria H.M. Fonseca⁵, Marianna T. Dantas⁶, Rosely de V. Meissner⁷

Resumo

Objetivo: Determinar a prevalência da infecção por rotavírus em um grupo de crianças da cidade de Natal-RN, Brasil, que apresentavam diarreia aguda e verificar a existência ou não de distribuição sazonal da infecção por esses patógenos em nosso meio.

Métodos: Foram analisadas amostras fecais de 1.903 crianças de ambos os sexos, com idades variando de 1 mês a 10 anos, residentes na cidade de Natal-RN, que apresentavam episódio de diarreia aguda, no período de janeiro de 1996 a dezembro de 1998. O método utilizado foi a pesquisa de partículas virais diretamente nas fezes, através de uma reação de aglutinação passiva, empregando-se partículas de látex cobertas com anticorpos monoclonais grupo-específico anti-rotavírus.

Resultados: Na população estudada, 151 crianças (7,9%) apresentaram reação positiva para a presença de partículas de rotavírus nas fezes. Considerando-se, no entanto, apenas as crianças mais suscetíveis à infecção por esse grupo de vírus, que compreende a faixa etária de 1 a 24 meses de vida, constatou-se que, de um total de 1.065 crianças examinadas, 136 (12,8%) apresentaram reação positiva para rotavírus, sendo que 96,3% tinham entre 6 e 24 meses de vida. A distribuição pelos meses do ano, dos casos de diarreia aguda de crianças que apresentaram rotavírus nas fezes revelou que a incidência da infecção por esses patógenos foi maior nos meses de julho, agosto e setembro, nos três anos estudados.

Conclusões: Os resultados indicam que os rotavírus têm participação importante na etiologia da diarreia aguda em nosso meio, e que a maioria dos casos da infecção, por esses patógenos, ocorre durante os dois primeiros anos de vida, atingindo principalmente as crianças na faixa etária de 6 a 24 meses e com uma maior prevalência nos meses de julho, agosto e setembro.

J. pediatr. (Rio J.). 2000; 76(4):300-304: prevalência rotavírus, diarreia, gastroenterite.

Abstract

Objective: To determine the prevalence of rotavirus in the etiology of acute diarrhea in children from Natal city, RN, Brazil and investigate the existence or not of a seasonal distribution of this pathogen in our environment.

Methods: Fecal samples from 1,903 children (boys and girls) with ages ranging from 1 month to 10 years, living in Natal-RN, who presented acute diarrhea episodes in a period from January 1996 to December 1998, were analyzed. We searched viral particles directly in the feces by a passive agglutination reaction using anti-rotavirus specific-group monoclonal antibodies coated latex particles.

Results: 151 children (7.9%) of the studied population presented a positive reaction, revealing the presence of rotavirus particles in feces. Considering, however, only the children (ages from 1 to 24 months) who are more susceptible to rotavirus infection, we verified that from 1,065 examined children, 136 of them (12.8%) presented positive reaction for rotavirus, and the great majority of all children with positive reaction (96.3%) had ages ranging from 6 to 24 months. Analysis of the distribution of the cases of rotavirus infection in the three year revealed that the incidence of infection was higher in July, August, and September.

Conclusions: The results indicated rotavirus infections have an important role in the etiology of acute diarrhea cases. The majority of the acute diarrhea cases positive for rotavirus occurred during the first two years of life, reaching mainly children from 6 to 24 months, with the highest incidence of infection during the months of July, August, and September.

J. pediatr. (Rio J.). 2000; 76(4):300-304: prevalence, rotavirus, diarrhea, gastroenteritis.

-
1. Mestre, Prof. Adjunto do Depto. Microbiologia e Parasitologia da UFRN.
 2. Especialista, Centro de Patologia Clínica de Natal.
 3. Aluno de graduação do curso Médico.
 4. Médico pediatra e Professor Assistente de Depto. de Pediatria da UFRN.
 5. Farmacêutico Bioquímico, Centro de Patologia Clínica.
 6. Farmacêutico Bioquímico, Centro de Patologia Clínica.
 7. Doutora, Professora Adjunto do Depto. de Microbiologia e Parasitologia da UFRN.

Fonte financiadora: Centro de Patologia Clínica de Natal.

Introdução

Os rotavírus constituem um grupo de vírus de distribuição universal. Apresentam um amplo espectro de hospedeiro e abrangem diversas espécies de vertebrados, incluindo o homem, principalmente durante os dois primeiros anos de vida. Esses vírus fazem parte da família *Reoviridae*, gênero *Rotavirus*; possuem genoma de RNA de duplo filamento,

segmentado em 11 fragmentos de tamanhos diferentes, envolvidos por três camadas protéicas concêntricas, formando um capsídeo de simetria icosaédrica^{4,10,11,14}.

Os rotavírus humanos foram descobertos simultaneamente na Austrália, Inglaterra e Canadá, na década de 70. Atualmente são considerados como uma das principais causas de diarreia infecciosa na espécie humana, contribuindo notavelmente para os elevados índices de morbidade e mortalidade de lactentes no mundo inteiro, especialmente nos países em desenvolvimento, tendo em vista os elevados índices de subnutrição^{7,9,10,13,17}.

Como os rotavírus são mais resistentes que a maioria dos vírus, às altas temperaturas, ao pH ácido, aos solventes de lipídios e aos detergentes não iônicos de modo geral, eles são extremamente estáveis nas condições ambientais, e mantém-se na natureza por tempo indeterminado. Além disso, o tratamento convencional da água por floculação parece ser menos eficaz para a inativação de rotavírus que de outros vírus entéricos, o que contribui sobremaneira para a sua disseminação nas comunidades^{3,4,9,12}. Em virtude dessas características, os rotavírus estão relacionados entre os principais agentes causadores de diarreia aguda em todo mundo, sendo responsáveis por grande parte das internações hospitalares de crianças na faixa etária de 1 a 24 meses. A transmissão desses patógenos ocorre tanto na comunidade como no ambiente hospitalar, apresentando índices elevados de infecções nosocomiais^{8,10,13,16,17}.

Os mecanismos através dos quais os rotavírus exercem a sua ação patogênica ainda não estão bem definidos. Sabe-se que a replicação desses vírus ocorre principalmente na mucosa do jejuno, mais especificamente nas células epiteliais maduras que revestem as vilosidades, onde se dá a absorção. Ensaio realizados em animais gnotobióticos, infectados por rotavírus humanos, demonstraram a ocorrência de grandes alterações microscópicas na mucosa intestinal, com achatamento e arredondamento celular, sendo que as células laterais e apicais das vilosidades são as mais afetadas. Tais alterações nas células da mucosa intestinal poderiam ser responsáveis pelos mecanismos que determinam a diarreia. A destruição das células produtoras das enzimas dissacaridases (lactase, maltase, sacarase e isomaltase) provoca uma redução nas concentrações dessas enzimas na luz intestinal, com conseqüentes alterações na digestão dos dissacarídeos correspondentes, provocando alta carga osmótica no cólon. Isso determinaria um aumento na secreção de água e eletrólitos para a luz intestinal, resultando em diarreia com desequilíbrio hidroeletrólítico, condição que pode levar ao óbito, principalmente em crianças subnutridas⁵. A intolerância à lactose seria o mecanismo básico desse processo. No entanto, alguns autores acreditam que alterações no transporte de sódio acoplada à glicose e à má-absorção provocada pela extensa lesão epitelial também podem desempenhar papel importante na origem da diarreia^{1,3,6,10}.

Nesse trabalho, apresentamos os resultados obtidos a partir de um estudo realizado com amostras fecais de um grupo de crianças da cidade de Natal, capital do Estado do Rio Grande do Norte, que apresentavam episódio de diarreia aguda. O estudo teve como objetivos determinar a prevalência da infecção por rotavírus nas amostras estudadas, investigar o papel desses agentes na etiologia da diarreia aguda e verificar a existência ou não de distribuição sazonal da infecção por esses patógenos em nosso meio.

Material e Métodos

Coleta e processamento das amostras - Foram coletadas amostras de fezes de 1.903 crianças da Cidade de Natal, capital do estado do Rio Grande do Norte, que foram atendidas em ambulatórios ou que se encontravam hospitalizadas em instituições públicas ou privadas, no período de janeiro de 1996 a dezembro de 1998, com episódio de diarreia aguda presumivelmente de natureza infecciosa. Foram selecionadas para esse estudo, as crianças que apresentavam quadro clínico de diarreia aguda, em cujas fezes não foram detectadas enterobactérias patogênicas, na análise feita através da coprocultura. Analisaram-se amostras fecais de um grupo de crianças de ambos os sexos, com idades variando de 1 mês a 10 anos, sendo que 56,0% delas tinham entre 1 e 24 meses de vida. De cada criança, foi utilizada uma amostra representativa de 1 a 2 ml ou 1 a 2g de fezes dissolvidas em 2 ml do tampão diluente, agitada vigorosamente em Vortex, deixada em repouso por 10 minutos à temperatura ambiente e, em seguida, submetida à centrifugação, por 10 minutos, a 800g para obter um sobrenadante límpido, no qual foi pesquisada a presença de partículas de rotavírus.

Análise das amostras - Foram analisadas duas alíquotas de 50 ml do sobrenadante de cada uma das amostras de fezes para a detecção de partículas de rotavírus, através de uma reação de aglutinação passiva. Empregou-se kit comercial (Slidex Rota-kit 2 bioMérieux), que consiste de uma suspensão de partículas de látex cobertas com anticorpos monoclonais grupo-específico anti-rotavírus, que permite a detecção do antígeno correspondente, nos sobrenadantes das amostras fecais, e de uma suspensão de partículas de látex sem anticorpos. Em uma das extremidades de uma lâmina, foram adicionados 50ml da suspensão de partículas de látex cobertas com anticorpos (reação) e, na outra, 50ml da suspensão de partículas de látex sem a presença de anticorpos (controle negativo). A seguir, em cada uma dessas preparações, foram adicionados, 50ml do sobrenadante da amostra de fezes, e os componentes foram misturados até a obtenção de uma preparação homogênea, sendo em seguida observada ao microscópio óptico, para verificar a presença ou ausência de aglutinação. A amostra foi considerada positiva quando se observaram aglutinação visível dentro de 2 minutos, na extremidade da lâmina correspondente à reação, e uma suspensão homogênea no controle negativo; e negativa quando suspensões homogêneas

neas foram observadas em ambas as extremidades da lâmina, revelando ausência de aglutinação. A análise de significância estatística foi realizada através do teste de Qui-quadrado, utilizando o programa Web Chi Square Calculator, disponibilizado pela University Georgetown – Washington D.C, <http://www.georgetown.edu/cball/webtools/web-chi.html>.

Resultados

Foram analisadas amostras fecais de um total de 1.903 crianças com idades entre 1 mês e 10 anos, sendo 1.055 (55,4%) do sexo masculino e 848 (44,6%) do sexo feminino, que apresentavam episódio de diarreia aguda, presumivelmente, de natureza infecciosa. Desse total de crianças pesquisadas, 151 (7,9%) apresentaram reação positiva, revelando a presença de partículas de rotavírus nas fezes, detectadas através de teste de aglutinação passiva, de partículas de látex, sensibilizadas com anticorpos monoclonais grupo-específico para esses vírus, e 1.752 crianças (92,1%) se mostraram negativas para esses patógenos. Das crianças que apresentaram reação positiva, 92 (4,8%) do total de crianças examinadas eram do sexo masculino e 59 (3,1%) do sexo feminino (Tabela 1).

Tabela 1 - Distribuição dos casos diagnosticados da infecção por rotavírus em crianças na faixa etária de 1 mês a 10 anos, com episódio de diarreia aguda, de acordo com o sexo

Pesquisa de Rotavírus					
Sexo	Reação positiva	%	Reação negativa	%	Total
Masculino	92	4,8	963	50,6	1.055
Feminino	59	3,1	789	41,5	848
Total	151	7,9	1.752	92,1	1.903

$p = 0,184$ pelo teste de χ^2

A maioria das amostras de fezes que apresentaram reação positiva para rotavírus era de crianças que estavam dentro da faixa etária de 1 a 24 meses de vida. A distribuição das porcentagens de crianças que apresentaram reação positiva para rotavírus, por faixas etárias, revelou a existência de diferença nos índices de prevalência da infecção por esses patógenos. Os valores variaram de zero, nas crianças com idades de 6 e 10 anos, a 12,8% naquelas que se encontravam dentro da faixa etária de 1 a 24 meses de idade, apresentando diferença estatisticamente significativa ($p < 0,001$) em relação às demais faixas etárias pesquisadas (Tabela 2).

Quando se consideraram apenas as crianças com idades variando de 1 a 24 meses, em que está incluída a faixa etária submetida a maior risco de contrair infecção por rotavírus,

Tabela 2 - Distribuição dos casos diagnosticados da infecção por rotavírus em crianças com episódio de diarreia aguda, de acordo com a faixa etária

Pesquisa de Rotavírus					
Faixa etária	Reação positiva	%	Reação negativa	%	Total
1 a 24 meses	136	12,8	929	87,2	1.065
25 meses a					
< 4 anos	11	2,8	379	97,2	390
4 a < 6 anos	4	1,6	241	98,4	245
6 a < 8 anos	0	0,0	123	100,0	123
8 a 10 anos	0	0,0	80	100,0	80
Total	151	7,9	1.752	92,1	1.903

$p < 0,001$ pelo teste de χ^2

em qualquer parte do mundo, que corresponde ao segundo e terceiro semestre de vida, constatou-se que, de um total de 1.065 crianças pesquisadas nessa faixa etária, 136 (12,8%) foram infectadas por esses vírus, conforme ficou demonstrado pela detecção de partículas virais nas fezes, e 929 (87,2%) se mostraram negativas para esses patógenos. Constatou-se ainda que a maioria das crianças com diarreia aguda, em cujas fezes foi detectada a presença de partículas de rotavírus pelo teste de aglutinação, 131 de 136 tinham entre 6 e 24 meses de vida.

As porcentagens de crianças com diarreia aguda que apresentaram reação positiva para rotavírus, revelada pela detecção de partículas virais nas fezes, quando distribuídas por faixas etárias, apresentaram valores mais elevados (17,2 e 16,6%) nas faixas etárias de 6 a 12 e 13 a 18 meses respectivamente. Isso revelou a existência de uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,001$) em relação às demais faixas etárias (Tabela 3).

Analisando-se as porcentagens de crianças infectadas por rotavírus, com diagnóstico confirmado pela detecção de partículas virais nas fezes, constatou-se, embora tenham sido registrados casos da infecção por esses patógenos em todos os meses do ano, a existência de sazonalidade na distribuição dos casos sintomáticos da infecção. Esses casos foram diagnosticados ao longo dos três anos pesquisados, e a maioria deles concentrou-se nos meses de julho, agosto e setembro, com um pico maior de incidência no mês de setembro (Figura 1).

Discussão

Nesse estudo, foram analisadas amostras fecais de um grupo de crianças da cidade de Natal-RN, que apresentavam episódio de diarreia aguda. Os resultados obtidos revelam que 56,0% do total de crianças que apresentavam

Tabela 3 - Distribuição dos casos diagnosticados da infecção por rotavírus em crianças na faixa etária de 1 a 24 meses de idade, com episódio de diarreia aguda

Pesquisa de Rotavírus					
Faixa etária	Reação positiva	%	Reação negativa	%	Total
1 a 5 meses	5	4,5	105	95,5	110
6 a 12 meses	56	17,2	269	82,8	325
13 a 18 meses	53	16,6	267	83,4	320
19 a 24 meses	22	7,1	288	92,9	310
Total	136	12,8	929	87,2	1.065

p < 0,001 pelo teste de χ^2

esse quadro clínico tinham até 24 meses de idade. Esse resultado está em plena concordância com os dados da literatura, no que se refere à idade de maior incidência de diarreia aguda, que, de modo geral, diminui com o passar do tempo. Investigou-se ainda a participação dos rotavírus na etiologia desses casos de diarreia aguda, bem como a distribuição dos casos diagnosticados da doença, pelos meses do ano, para verificar a ocorrência ou não de sazonalidade. Os resultados obtidos revelam que a maioria dos casos diagnosticados da doença ocorreu em crianças na faixa etária de 6 a 24 meses de vida, e que o menor número de casos registrados encontra-se entre crianças com menos de 6 e mais de 24 meses de idade. O perfil epidemiológico da infecção pelos rotavírus, observado nas crianças desse estudo, é muito semelhante àquele encontrado em crianças da mesma faixa etária, em qualquer parte do mundo^{10,11,13}.

A baixa incidência da infecção sintomática por esse patógeno, durante os 5 primeiros meses de vida, deve-se provavelmente à presença, na mucosa intestinal, de anticorpos da classe IgA, transferidos passivamente da mãe para o filho através do leite materno, tendo em vista que a amamentação dessas crianças dura em média 3 a 4 meses. A presença desses anticorpos na mucosa intestinal das crianças nessa fase da vida parece oferecer uma certa proteção, ainda que parcial, contra a infecção por rotavírus, fazendo com que essas crianças não se infectem por esse patógeno, ou tenham a infecção na forma assintomática^{2,10,18}. Após o desmame, as crianças perdem gradativamente a proteção dada por esses anticorpos, tornando-se suscetíveis aos rotavírus, de forma que, a grande maioria dos episódios de diarreia aguda, atribuída a esses vírus, se concentra na faixa etária de 6 a 24 meses de idade^{8,11,13}. Constatou-se nesse estudo que, após os 2 primeiros anos de vida, o número de casos da infecção por rotavírus volta a diminuir, provavelmente porque grande parte das crianças dessa faixa etária, de uma forma, ou de outra, já teve contato com esses patógenos. Além disso, mesmo havendo na natureza uma variedade de tipos desse vírus, essas crianças devem apresentar anticorpos desenvolvidos contra antígenos grupo-

específico, comuns a todos os rotavírus, os quais oferecem uma proteção cruzada. Esses anticorpos, apesar de não prevenirem a infecção, parecem fazer com que ela ocorra na forma assintomática ou sem expressão clínica, na maioria das vezes^{13,15,16}.

A distribuição das porcentagens de crianças infectadas por rotavírus, pelos meses do ano, nos três anos pesquisados, demonstra a ocorrência da infecção por esse patógeno em todos os meses do ano, observou-se, no entanto, uma prevalência maior da doença, nos meses de julho, agosto e setembro, indicando haver distribuição sazonal da infecção por esses vírus, também em nosso meio, ao longo do ano (Figura 1). Os meses que apresentaram maior incidência da infecção por rotavírus nas crianças de Natal correspondem ao período mais frio do ano, com temperatura média em torno dos 25°C, um pouco abaixo da temperatura média dos outros meses do ano, que é superior a 30°C. O pico máximo de incidência da infecção coincide com o final do período das chuvas. Resultado semelhante, foi encontrado por Pereira e col.¹¹, em um estudo envolvendo crianças de diversas regiões do Brasil, particularmente, nas do Estado de Pernambuco, nas quais foi observada uma frequência maior da infecção por rotavírus, entre maio e setembro. No continente europeu, a infecção por rotavírus também apresenta distribuição sazonal em países como Itália, França, Inglaterra, Países Baixos e Finlândia, nos quais as gastroenterites causadas por esses vírus apresentam maior incidência nos meses de fevereiro e março⁷.

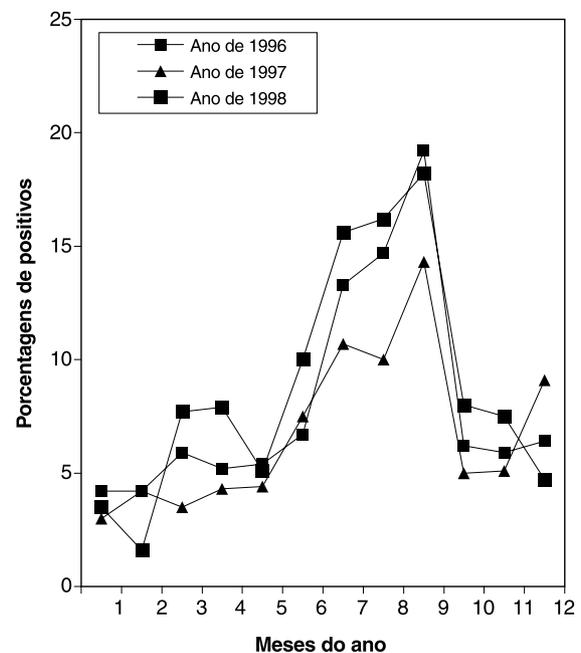


Figura 1 - Porcentagens de crianças com diarreia aguda com reação positiva para rotavírus, distribuídas pelos meses do ano, em três anos estudados

Nesse estudo, foi encontrada uma prevalência de 7,9% da infecção por rotavírus em crianças com episódio de diarreia aguda, se consideramos todas as crianças pesquisadas, abrangendo a faixa etária de 1 mês a 10 anos; e de 12,8% se considerarmos apenas as crianças da faixa etária de 1 a 24 meses de vida. Não foi observada diferença estatisticamente significativa na incidência da infecção por rotavírus, em relação ao sexo das crianças, $p = 0,184$ (Tabela 1). Constatou-se que 90,0% dos casos diagnosticados da infecção por rotavírus se concentraram na faixa etária de 1 a 24 meses de vida, na qual foi encontrada diferença estatisticamente significativa na prevalência da infecção, $p < 0,001$ em relação às outras faixas etárias. Além disso, não foi diagnosticado nenhum caso da infecção por rotavírus nas crianças com idades acima de 6 anos (Tabela 2). Se considerarmos, no entanto, apenas as crianças com idades até 24 meses de vida, que estão submetidas a maior risco de infecção por rotavírus^{8,10,11,13}, a prevalência da infecção por esses patógenos atingiu índices de 17,2 e 16,8%, no segundo e terceiro semestres de vida, contra 4,5 e 7,1%, no primeiro e quarto semestres respectivamente, revelando uma diferença estatisticamente significativa, ($p < 0,001$). Provavelmente, isso deve-se à presença de anticorpos maternos, durante o primeiro semestre de vida, e à proteção ainda que parcial adquirida a partir do quarto semestre em consequência da exposição ao vírus (Tabela 3).

O índice de prevalência da infecção por rotavírus, nas crianças com idades até 24 meses encontrado nesse estudo, é muito semelhante ao encontrado por Pereira e col.¹¹, em um estudo envolvendo crianças menores de 5 anos, de 14 estados brasileiros, onde a incidência da infecção por esses patógenos, variou de 13,0% no Estado de Pernambuco a 20,0% no Estado de Santa Catarina. Por outro lado, o índice de 17,0% de prevalência da infecção por rotavírus, encontrado nesse estudo em crianças na faixa etária de 6 a 24 meses, está bem abaixo dos 30,0% encontrados na Polônia e dos 20 a 40% encontrados em diferentes estudos realizados na Itália, ambos envolvendo crianças da mesma faixa etária hospitalizadas em consequência de diarreia aguda. É também inferior ao índice de 25,0% encontrado em crianças menores de 5 anos em estudo realizado na Espanha^{8,13,16}.

Os resultados obtidos nesse estudo revelaram uma maior incidência do quadro clínico de diarreia aguda nas crianças que tinham até 24 meses de idade, diminuindo a partir dessa faixa etária, com o aumento da idade. Mostram ainda que os rotavírus desempenham um importante papel na etiologia dessa entidade clínica em nosso meio e que a infecção por esses patógenos é mais prevalente durante os dois primeiros anos de vida, atingindo principalmente as crianças na faixa etária de 6 a 24 meses de idade e apresentando maiores índices de prevalência nos meses de julho, agosto e setembro. Nenhum caso da infecção por rotavírus foi diagnosticado em indivíduos com idade superior a 6 anos no grupo de crianças pesquisadas.

Referências bibliográficas

1. Bishop RF. Natural history of rotavirus infection. *Arch Virol* (suppl) 1996; 12: 119-28.
2. Bhan MK, Lew JF, Sazawal S, Das BK, Gentsch JR, Glass RI. Protection conferred by Neonatal rotavirus infection against subsequent rotavirus diarrhea. *J Infect Dis* 1993; 168: 282-7
3. Breviglieri JC. Rotavírus humanos: Morfologia e patologia. *Pediatr* (São Paulo) 1979; 1: 314-8.
4. Chiarini A, Arista S, Giammanco A, Sinatra A. Rotavirus persistence in cell cultures: Selection of resistant cells in the presence of foetal calf serum. *J Gen Virol* 1993; 64: 1101-10.
5. Christensen ML. Human viral gastroenteritis. *Clin Microbiol Rev* 1989; 2: 51-7.
6. Jourdan N, Brunet JP, Sapin C, Blais A, Cotte-Laffitte J, Forestier J et al. Rotavirus Infection reduces sucrose-isomaltase in human intestinal epithelial cells by perturbing protein targeting and organization of microvillar cytoskeleton. *J Virol* 1998; 72: 7228-36.
7. Koopmans M, Brown D. Seasonality and diversity group: a rotavirus in Europe. *Acta Paediatr Suppl* 1999; 88: 14-9.
8. Mrukowicz JZ, Krobicka B, Duplaga M, Kowalska-Duplaga K, Domanski J, Szajewska H, Kantecki M, Iwanczak F, and Pytrus T. Epidemiology and impact of rotavirus diarrhoea in Poland. *Acta Paediatr* (Suppl) 1999; 88: 53-60.
9. Nozawa MC, Fonseca MEF. An attempt to cultivate human rotavirus in human leukocytes culture (Preliminary report). *Rev Inst Med Trop S Paulo* 1984; 26: 228-9.
10. Oliveira CS, Linhares AC. Rotavírus: aspectos clínicos e prevenção. *J pediatr* (Rio J.) 1999; 75: 91-101.
11. Pereira HG, Linhares AC, Candeias JAN, y Glass RI. Vigilancia de los virus de la gastroenteritis en los laboratorios nacionales del Brasil. *Bol of Sanit Panam* 1994; 116: 27-36.
12. Roseto A, Scherrer R, Cohen J, Guillermin MC, Charpilienne A, Feynerol C, Peries J. Isolation and characterization of anti-rotavirus immunoglobulins secreted by cloned hybridoma cell lines. *J Gen Virol* 1983; 64: 237-40.
13. Ruggeri FM, Declich S. Rotavirus infection among children with diarrhoea in Italy. *Acta Paediatr* (Suppl) 1999; 88: 66-71.
14. Simhon A. Virologia de los rotavirus y epidemiologia de la diarrea por rotavirus. *Bol of Sanit Panam* 85; 98:295-307.
15. Velázquez FR, Matson DO, Calva JJ, Guerrero ML, Morrow AL, Carter-Campbell S, et al. Rotavirus infection in infants as protection against subsequent infections. *N Engl J Med* 1996; 335: 1022-8.
16. Visser LE, Cano PR, Gay NJ, Martinez NJF. Impact of rotavirus disease in Spain: an estimate of hospital admissions due to rotavirus. *Acta Paediatr Suppl* 1999; 88: 72-6.
17. Zisis G, Lambert JP, Marbehant P, Marissens D, Lobmann M, Charlier P, Delem A, and Zygraich N. Protection studies in colostrum-deprived piglets of a bovine rotavirus vaccine candidate using human rotavirus strains for challenge. *J Infect Dis* 1983; 148: 1061-8.
18. Ward RI. Mechanisms of protection against rotavirus in humans and mice. *J Infect Dis* 1996; 174: S51-58.

Endereço para correspondência:

Dr. José Veríssimo Fernandes

Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Centro de Biociências – Depto. de Microbiologia e Parasitologia – Campus Universitário – Lagoa Nova

59072-970 – Natal - RN

Fax: (84) 211.9210 – E-mail: veris@cb.ufrn.br