

ROTAVÍRUS E ADENOVÍRUS EM CRIANÇAS DE 0-5 ANOS HOSPITALIZADAS COM OU SEM GASTREENTERITE EM GOIÂNIA-GO., BRASIL.

Divina das Dores de Paula CARDOSO (1), Regina Maria Bringel MARTINS (1), Elliott W. KITAJIMA (2), Aristides José BARBOSA (1), Sandra Cristina Teles CAMAROTA (1) & Maril Silva Pereira AZEVEDO (1).

RESUMO

De junho/1987 a julho/1990 foram estudadas 557 amostras fecais de crianças hospitalizadas de 0-5 anos de idade, na cidade de Goiânia-GO., para detecção de rotavírus e adenovírus. Destas, 291 provinham de crianças diarreicas e 266 de não diarreicas. Das amostras não diarreicas, 64 eram provenientes de crianças de berçário.

Das 557 amostras, 261 foram analisadas pela imunomicroscopia eletrônica (IME), eletroforese em gel de poliacrilamida (EGPA-SDS) e ensaio imunoenzimático para rotavírus e adenovírus (EIARA) e as demais apenas pela EGPA e EIARA. Rotavírus e adenovírus mostraram positividade de 17,2% e 2,1% respectivamente, e na condição de diarreia ou não, observou-se percentuais de 29,2% e 4,1% respectivamente para rotavírus ($p < 0,05$) e 2,4% e 1,5% para adenovírus. Rotavírus foram mais prevalentes entre as crianças de 1-11 meses de idade e não foram vistos em nenhum recém-nato de berçário. Os adenovírus ocorreram na faixa de 1-3 anos. Rotavírus apresentaram maior circulação entre os meses de maio a agosto ($p < 0,05$), não sendo encontrados de dezembro a fevereiro.

UNITERMOS: Rotavírus; Adenovírus; Gastreenterite; Eletroferotipo.

INTRODUÇÃO

Rotavírus do grupo A são considerados os agentes mais importantes da gastreenterite infantil^{1,41} desde a sua descoberta por BISHOP et al., 1973⁶, ainda que os de grupos B e C venham emergindo como causa em potencial da doença, principalmente em adultos^{11,13,35}.

Embora a gastreenterite por rotavírus do grupo A ocorra preferencialmente dos 6 aos 24 meses de idade, estudos têm mostrado que recém-natos em berçários ou mesmo já inseridos na comunidade, também excretam rotavírus^{24,27}. Admite-se ainda que amostras provenientes de crianças de berçário sejam diferentes daquelas da comunidade, inclusive no que se refere ao aspecto da infectividade^{2,22}.

Em pesquisa anterior¹⁰, avaliamos o papel dos rotavírus e adenovírus em crianças com quadro de diarreia aguda, e observamos a ocorrência destes

vírus em 25,5% e 2,3% respectivamente no processo em questão.

Neste estudo, procuramos evidenciar a presença destes agentes em três populações infantil-hospitalizadas e que consistiu de crianças com gastreenterite aguda, sem gastreenterite e recém-natos em berçário. Incluímos os adenovírus, pois aqueles tipos denominados entéricos vêm sendo considerados importantes causadores de diarreia infantil^{23,46}.

Objetivamos assim avaliar prevalência destes vírus nestas populações, corroborar dados epidemiológicos anteriores, e correlacionar perfis eletroferotípicos de rotavírus à morbidade e tipo populacional. Estes perfis têm servido de inferência na detecção de diferentes amostras de rotavírus, principalmente em relação a grupos e subgrupos, através do padrão de mobilidade

Suporte Financeiro - CNPq - Processo nº 400262/89.

(1) Laboratório de Virologia/Departamento de Microbiologia/IPTESP. Universidade Federal de Goiás. Goiânia, Goiás, Brasil.

(2) Departamento de Biologia Celular/Fundação Universidade de Brasília. Brasília-DF, Brasil.

Endereço para correspondência: Rua Delenda Rezende de Melo esquina c/ 1ª Avenida, S/Nº - Setor Universitário CEP 74.000 Goiânia, GO, Brasil.

eletroforética dos diferentes segmentos de RNA viral, embora este procedimento venha sendo motivo de questionamento^{2,40}.

MATERIAL E MÉTODOS

Espécimes clínicos

Foram coletadas 557 amostras fecais de crianças na faixa de 0-5 anos de idade em dois hospitais da cidade de Goiânia, Goiás (Hospital Geral de Goiânia - INAMPS e Hospital Lúcio Rebelo) no período de junho/1987 a julho/1990. Toda a população era hospitalizada e pertencia à classe sócio-econômica menos favorecida.

Destas amostras, 291 eram oriundas de crianças com gastroenterite aguda e 266 de não diarreicas. Destas, 64 provinham de recém-natos de berçário com até 3 dias de idade.

A condição de gastroenterite aguda ou não, foi definida por avaliação de diagnóstico clínico. Além disso, foram interrogadas ao responsável por cada criança, questões inerentes à mesma como sexo, idade e ainda história envolvendo o motivo da internação, sintomatologia e dias de doença, exceto quando a criança era proveniente de berçário.

Exames laboratoriais

Análise virológica - Das 557 amostras, 261 foram analisadas por três técnicas as quais foram a imunomicroscopia eletrônica (IME), eletroforese em gel de poliacrilamida (EGPA-SDS) e o ensaio imunoenzimático (ELISA) para rotavírus e adenovírus (EIARA). As outras 296 apenas pela EGPA e EIARA. A IME foi feita seguindo metodologia descrita por BARTH, 1984⁴. A EGPA seguiu técnica preconizada por LAEMMLI, 1970²⁹ com modificações descritas por PEREIRA et al., 1983³⁶ e a EIARA foi realizada segundo PEREIRA et al., 1985³⁷. Os imunobiológicos utilizados no EIARA foram preparados e cedidos pelo Departamento de Virologia - Fundação Oswaldo Cruz. Os segmentos de RNA visualizados na EGPA foram classificados em perfis eletroforéticos de acordo a esquema proposto por LOURENÇO et al., 1981³¹. Brevemente, neste esquema, as bandas originadas pelos 11 segmentos de RNA viral visualizados pela eletroforese, são divididos em 4 grupos sendo que o grupo I é definido pelos segmentos 1, 2, 3, 4, o II pelo 5 e 6, o III pelo 7, 8, 9 e o IV pelo 10 e

11. Em cada grupo, diferentes padrões de migração dos segmentos de RNA podem ser vistos e estes são denominados pelas letras do alfabeto a, b, c etc.

Análise Bacteriológica e Parasitológica - 200 amostras provenientes de crianças com diarreia foram pesquisadas com intuito de detectar bactérias e parasitos patogênicos no trato gastrointestinal. A análise bacteriana foi realizada de acordo a EDWARDS & EWING, 1972¹⁸ e EVANS & EVANS, 1977¹⁹. A parasitológica, foi feita segundo HOFFMAN et al., 1934²⁶ e FAUST et al., 1938²⁰.

Análise Estatística - Foi feita utilizando o teste de χ^2 com um intervalo de confiança de 95%.

RESULTADOS

Das 557 amostras de fezes examinadas observamos um percentual de positividade de 17,2% para rotavírus e 2,1% para adenovírus (Tabela 1). Análise visando prevalência viral em relação a processos de gastroenterite mostra a ocorrência de rotavírus em 29,2% dos casos da doença e 4,1% nos processos não diarreicos ($p < 0,05$). Já os adenovírus, apareceram com percentuais respectivos de 2,7% e 1,5%. A tabela 2 mostra a distribuição das amostras positivas para rotavírus e adenovírus por faixa etária. O maior percentual para rotavírus (25,4%) foi entre 1 a 11 meses ($p < 0,05$). Nas crianças recém-natas (<1 mês) obtivemos 4,0% de positividade, mas nenhuma delas era proveniente de berçário. Os adenovírus ocorreram na faixa etária de 1 - 3 anos.

A sazonalidade é ilustrada na tabela 3. Os rotavírus têm maior circulação entre os meses de maio a agosto ($p < 0,05$) e não foram detectados de dezembro a fevereiro. Os adenovírus ocorreram em praticamente todos os meses do ano.

Os resultados do estudo de 200 amostras diarreicas visando também detecção de bactérias e parasitos patogênicos são mostrados na tabela 4. Rotavírus e bactérias estiveram presentes isoladamente em 17,0% dos processos, parasitos em 4,5% e adenovírus em 1,0%.

Das 261 amostras examinadas pelas três metodologias, 8 foram discordantes. Destas, 2 foram positivas na IME, 1 positiva na IME e EGPA, 2 positivas na IME e EIARA, 1 positiva na EGPA

e EIARA e 2 foram positivas apenas na EGPA. Das 296 amostras restantes, estudadas apenas pela EGPA e EIARA, 6 foram discordantes sendo que 5 delas foram negativas na EIARA e 1 na EGPA. A EGPA detectou 89 amostras de rotavírus. Destas, 3 (3,4%) eram subgrupo I e 86 (96,6%) subgrupo II. Observamos 13 padrões eletroferotípicos durante o estudo (Tabela 5). Houve predominância de um eletroferotipo em cada ano embora praticamente todos circulassem durante todo o período. As 11 amostras de rotavírus isoladas de crianças não diarreicas, eram subgrupo II e mostraram 4 perfis eletroferotípicos, todos eles condizentes aos perfis predominantes a cada ano, exceto uma amostra, com perfil cbba, que ocorreu também em apenas duas amostras diarreicas.

Tabela 1

Distribuição das amostras positivas para rotavírus e adenovírus em relação à condição de diarreia ou não.

	Rotavírus		Adenovírus	
	Nº	%	Nº	%
Diarreia	85/291	29,2	8/291	2,7
Não diarreia	11/266	4,1	4/266	1,5
Total	96/557	17,2	12/557	2,1

Tabela 2

Distribuição das amostras positivas para rotavírus e adenovírus considerando faixa etária.

Faixa etária	Rotavírus		Adenovírus	
	Nº	%	Nº	%
< 1 mês	3/73	4,0	0/73	-
1 mês - 1 ano	64/252	25,4	8/252	3,2
1 ano - 2 anos	17/115	14,8	3/115	2,6
2 anos - 3 anos	10/63	15,9	1/63	1,6
3 anos - 4 anos	1/22	4,5	0/22	-
4 anos - 5 anos	1/16	6,2	0/16	-
5 anos - 6 anos	0/16	-	0/16	-

DISCUSSÃO

O estudo de agentes etiológicos virais na gastroenterite humana é de grande importância na saúde pública, servindo inclusive de parâmetro para medidas de controle e erradicação⁹. Neste contexto os rotavírus, especialmente os do grupo A, são considerados preponderantes e nos países em desenvolvimento, respondem ainda por aumento da mortalidade infantil^{5,28}. Os adenovírus

entéricos têm também sido incriminados à diarreia infantil^{8,30}, embora em menor escala, em função talvez, de um número ainda reduzido de pesquisas relacionadas.

Tabela 3

Distribuição das amostras positivas para rotavírus e adenovírus considerando os meses do ano - junho/1987-julho/1990.

Meses	Rotavírus		Adenovírus	
	Nº	%	Nº	%
Janeiro	0/20	-	1/20	5,0
Fevereiro	0/16	-	0/16	-
Março	4/48	8,3	2/48	4,2
Abril	8/54	14,8	1/54	1,8
Mai	14/49	28,6	1/49	2,0
Junho	30/73	41,0	2/73	2,7
Julho	13/35	37,1	1/35	2,8
Agosto	16/55	29,0	1/55	1,8
Setembro	9/92	9,8	2/92	2,1
Outubro	1/34	2,9	0/34	-
Novembro	1/56	1,8	1/56	1,8
Dezembro	0/25	-	0/25	-
Total	96/557	17,2	12/557	2,1

Tabela 4

Distribuição das amostras positivas para vírus, bactérias e parasitos, isoladamente ou em associação em 200 espécimes diarreicos examinados.

Agentes Isolados	Nº	%
Rotavírus + Bactéria patogênica	08	4,0
Rotavírus + Parasito patogênico	04	2,0
Adenovírus + Bactéria	01	0,5
Adenovírus + Parasito	01	0,5
Bactéria + Parasito	02	1,0
Rotavírus	34	17,0
Adenovírus	02	1,0
Bactéria	34	17,0
Parasitos	09	4,5
Negativos	105	52,5

Bactérias Isoladas:	Parasitos Isolados:
• E. coli - 0128	• Ascaris lumbricoides
• E. coli - 0129	• Giardia lamblia
• E. coli - 0111	• Strongyloides stercoralis
• E. coli - 055	• Hymenolepis nana
• E. coli - 0124	• Endolimax nana
• E. coli - 0112	• Ancilostomídeos
• E. coli - 026	• Enterobius vermiculares
• EIEC	
• E. coli - 086	
• Salmonella sp	
• Shigella flexneri	
• Shigella dysenteriae	
• Pseudomonas aeruginosa	

Tabela 5

Distribuição dos eletroferótipos de 89 amostras de rotavírus visualizados pela EGPA-SDS.

Anos	bbga	bbba	bbca	cbda	cbba	bbaa	baga	bbgb	bbcb	aafa	baba	bbda	abca
1987	5	14	1	-	2	-	1	-	1	1	1	-	-
1988	4	3	1	12	-	1	-	2	-	-	-	-	-
1989	12	6	1	-	1	1	-	-	-	-	-	1	-
1990	5	-	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Total	26	23	15	12	3	2	1	2	1	1	1	1	1

Neste trabalho, estudamos crianças de 0 - 5 anos de idade hospitalizadas em setor de rehidratação oral, enfermagem pediátrica e berçário. Tivemos como objetivos, observar a circulação de rotavírus e adenovírus nestas populações e detectar possíveis diferenças existentes. O caráter entérico dos adenovírus isolados está sendo estudado à parte.

Observamos percentuais de positividade de 17,2% para rotavírus e 2,1% para adenovírus (Tabela 1). Em estudo anterior¹⁰, encontramos índices de 25,5% e 2,3% respectivamente. Houve um aparente declínio na circulação dos rotavírus, e a literatura registra a ocorrência cíclica destes vírus⁹. No entanto não podemos concluir a respeito, pois a amostragem nestes dois estudos é diferente. O primeiro refere-se a crianças diarreicas e o atual engloba não diarreicas.

A análise de positividade para rotavírus frente ao critério de diarreia ou não, mostra percentuais de 29,2% e 4,1% respectivamente, o que foi significativo ($p < 0,05$). Este dado é consoante a vários estudos^{32,38} ainda que outros acusem percentuais elevados, inclusive em população sã^{12,39}.

Outro aspecto analisado foi em relação à faixa etária. Neste contexto (Tabela 2), vimos que a infecção por rotavírus foi maior ($p < 0,05$) nas crianças de 1 a 11 meses, o que concorda com outros estudos^{15,46}. Essa condição foi a mesma nos grupos diarreico e não diarreico. Observamos ainda que de 73 recém-natos, 3 excretavam rotavírus. Estas crianças eram diarreicas e já estavam inseridas na comunidade. Existem relatos de recém-natos excretando rotavírus assintomaticamente^{14,45}, infecção nosocomial em berçários^{3,22} e até de amostras de rotavírus "adaptadas" ao ambiente em questão⁴⁴.

Apesar de controvérsias em relação à eficácia da imunidade²⁴, provavelmente os 3 recém-natos positivos careciam de imunidade passiva

homotípica. Não pudemos concluir a respeito do ambiente de contágio destas crianças.

Embora haja registro²⁷ de que a positividade aumenta com coletas realizadas por até uma semana de vida, se considerarmos que 48 horas é o período médio de incubação dos rotavírus e que, algumas crianças foram amostradas com 72 horas, julgamos que poderíamos ter tido alguma criança positiva no berçário.

Tivemos uma amostra positiva no grupo de 4-5 anos e não diarreico. Esta amostra talvez represente reinfecção, mas apenas análise de sorotipo em estudo prospectivo por exemplo, pode responder este questionamento.

Os rotavírus mostraram maior ocorrência ($p < 0,05$) entre maio a agosto (Tabela 3). Este dado corrobora estudo anterior¹⁰ e outros da literatura^{25,46} e cremos que este evento possa ser explicado pela estabilidade relativa destes vírus frente a baixas, condições de umidade do ar atmosférico⁴⁵, quando consideramos as condições climáticas neste período do ano.

Nas 200 amostras diarreicas estudadas também para bactérias e parasitos (Tabela 4), observamos que rotavírus e bactérias patogênicas ocorreram igualmente (17,0%) nos processos de doença. Este resultado é concordante a outros, onde bactérias patogênicas podem alcançar percentuais inclusive superiores^{7,16}.

Quanto à positividade das 261 amostras analisadas pelas três metodologias (IME, EGPA, EIARA), e das 296 estudadas apenas pela EGPA e EIARA, observamos discordância de 8 e 6 amostras respectivamente em relação aos rotavírus. Em qualquer caso, consideramos que todas as amostras eram do grupo A, condição fornecida pela IME e EIARA. Sete amostras foram positivas apenas no EGPA e o perfil eletroferotípico foi condizente

com o grupo A, muito embora à luz dos conhecimentos atuais^{33,34} possa haver questionamento.

Em relação à subgrupagem, das 89 amostras positivas pela EGPA, considerando padrão de migração do segmento 11 de RNA, 86 (96,6%) eram subgrupo II, o que condiz a vários estudos^{33,41}. Este procedimento na ausência de técnicas mais sensíveis, moleculares ou pelo uso de anticorpos monoclonais, tem sido útil, embora não conclusivo, na classificação dos rotavírus. Observamos ainda (Tabela 5) a ocorrência de 13 eletroferotipos. Também estes, na ausência de técnicas de sorotipagem, têm sido ferramentas úteis por permitirem inferência a respeito de surtos de doença e transmissão a partir de alterações por eles manifestadas^{17,42}.

Houve predominância em cada ano de estudo de um eletroferotipo, embora circulassem pelos outros anos, indicando substituição de amostras ou sorotipos. Entretanto, existe estudo²¹ indicando que não se pode assegurar com fidelidade a relação de um eletroferotipo a um determinado sorotipo.

Não observamos diferença nos perfis eletroferotípicos entre amostras diarréicas ou não diarréicas, mas estudo em andamento a nível de sorotipagem poderá vir a elucidar estes e outros questionamentos a respeito destes vírus em nossa região.

SUMMARY

Rotavirus and adenovirus in children 0-5 years of age with or without gastroenteritis in Hospitals from Goiânia-GO, Brazil.

In order to detect rotavirus and adenovirus 557 feces samples from hospitalized children (0-5 years of age) were analysed from June 1987 to July 1990 in Goiânia-city. Two hundred and ninety one samples were from children with diarrhoea and 266 were from children without diarrhoea. Amongst this later group, 64 samples were from children from the nursery. Two hundred and sixty one out of 557 samples were analysed by immunoelectron microscopy (IEM), polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and enzymatic immunoassay for rotavirus and adenovirus (EIARA) whereas the rest (296 samples) were analysed by SDS-PAGE and EIARA. Positivity of rotavirus and adenovirus was 17.2% and 2.1% respectively. Concerning rotavirus and adenovirus

there was 29.2% and 2.4% positivity within the group with diarrhoea and 4.1% and 1.5% positivity amongst children without diarrhoea ($p < 0.05$). Rotavirus were more prevalent amongst children which age ranged from 1 to 11 months of age. No newborn child from the nursery was positive for rotavirus. Adenovirus were detected amongst children from 1 to 3 years of age. Rotavirus circulation peak occurred between May and August ($p < 0.05$) and no positive case was detected from December to February. Two hundred out of 291 diarrheic samples were also studied concerning bacteria and pathogenic parasites and equal percentages (17.0%) were found for both rotavirus and pathogenic bacteria. Eighty nine samples of rotavirus were detected by SDS-PAGE and 86 of these (96.6%) belonged to the subgroup II with 13 different electrophoretic patterns. Predominance of a given electrophoretic profile was observed in each year of the study.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALBERT, M.J.; SOENARTO, Y. & BISHOP, R.F. - Epidemiology of rotavirus diarrhea in Yogyakarta, Indonesia, as revealed by electrophoresis of genome RNA. *J. clin. Microbiol.*, 16: 731-733, 1982.
2. ALBERT, M.J.; UNICOMB, L.E.; BARNES, G. L. & BISHOP, R. F. - Cultivation and characterization of rotavirus strains infecting newborn babies in Melbourne, Australia, from 1975 to 1979. *J. clin. Microbiol.*, 25: 1635-1640, 1987.
3. AL-FRAYH, A. R.; RAMIA, S.; BAKIR, T. M. F. & ZAIDI, M. A. - Rotavirus shedding by neonates and possible modes of transmission. *J. trop. Pediat.*, 33: 246-248, 1987.
4. BARTH, O. M. - Estudo sobre a contração negativa de suspensões virais. *Rev. bras. Biol.*, 14: 71-80, 1984.
5. BARTLETT, A. V. III.; BERNARZ PRASHAD, A. J.; DUPONT, H.L. & PICKERING, L. K. - Rotavirus gastroenterites. *Ann. Rev. Med.*, 38: 399-415, 1987.
6. BISHOP, R. F.; DAVIDSON, G. P.; HOLMES, I. H. & RUCK, B. J. - Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute non-bacterial gastroenteritis. *Lancet*, 8: 1281-1283, 1973.
7. BLACK, R. E.; BROWN, K. H.; BECKER, S.; ABDUL ALIM, A. R. M. & HUG, I. - Longitudinal studies of infectious diseases and physical growth of children in rural Bangladesh. *Amer. J. Epidem.*, 115: 315-324, 1982.
8. BRANDT, C. D.; KIM, H. W.; YOLKEN, R. H.; KAPIKIAN, A. Z.; ARROBIO, J. O.; RODRIGUEZ, W. J.; WYATT, R.G.; CHANOCK, R. M. &

- PARROTT, R. H. - Comparative epidemiology of two rotavirus serotypes and other viral agents associated with pediatric gastroenteritis. *Amer. J. Epidem.*, 110: 243-254, 1979.
9. BRANDT, C. D.; KIM, H. W.; RODRIGUEZ, W. J.; ARROBIO, J. O.; JEFFRIES, B. C.; STALLINGS, E. T.; LEWIS, C.; MILEŞ, A. J.; CHANOCK, R. M.; KAPIKIAN, A. Z. & PARROTT, R. H. - Pediatric viral gastroenteritis during eight years of study. *J. clin. Microbiol.*, 18: 71-78, 1983.
10. CARDOSO, D. D. P.; BRITO, W. M. E. D.; MARTINS, R. M. B.; KITAJIMA, E. W.; SOUZA, M.P.M.; BARBOSA, A. J.; OLIVEIRA, S.A. & RASCOPI, S.B. - Ocorrência de rotavírus e adenovírus em amostras fecais de crianças com gastroenterite, na cidade de Goiânia. *Rev. Soc. bras. Med. trop.*, 22: 67-71, 1989.
11. CAUL, W. O.; ASHLEY, C.R.; DARVILLE, J. M. & BRIDGER, J. C. - Group C rotavirus associated with fatal enteritis in a family outbreak. *J. med. Virol.*, 30: 201-205, 1990.
12. CHAMPSAUR, H.; QUESTIAUX, E.; PREVOT, J.; HENRY-AMAR, M.; GOLDSZMIDT, D.; BOURJOUANE, M. & BACH, C. - Rotavirus carriage, asymptomatic infection and disease in the first two years of life. I. Virus shedding. *J. infect. Dis.*, 149: 667-674, 1984.
13. CHEN, G-M.; HUNG, T.; BRIDGER, J. C. & McCRAE, M. A. - Chinese adult rotavirus is a group B rotavirus. *Lancet*, 16: 1123-1124, 1985.
14. CRYSTIE, I.L.; TOTTERDELL, B. M. & BANATAVLA, J. E. - Asymptomatic rotavirus infections in the newborn. *Lancet*, 3: 1176-1178, 1978.
15. COIRO, J. R. R.; ALMEIDA NETO, A. J.; HEUSER, M. C. F.; BENDATI, M. M. A. & VASCONCELLOS, V.L. - Acute enteritis associated with rotavirus presence in Brazilian children: Evaluations on prevalence therapy and age group. *J. Diarrhoeal Dis. Res.*, 3: 78-83, 1985.
16. CRAVIOTO, A.; REYES, R. E.; ORTEGA, R.; FENANDEZ, G.; HERNANDES, R. & LOPES, D. - Prospective study of diarrhoeal disease in a cohort of rural Mexican children: Incidence and isolated pathogens during the first two years of life. *Epidem. Inf.*, 101: 123-134, 1988.
17. DIMITROV, D. H.; GRAHAM, D.Y.; LOPES, J.; MUCHNIK, G.; VELASCO, G.; STENBACK, W. A. & ESTES, M. K. - RNA electropherotypes of human rotaviruses from North and South America. *Bull. Wild. Hlth. Org.*, 62: 321-329, 1984.
18. EDWARD, P. R. & EWING, W. H. - Identification of Enterobacteriaceae. 3rd ed. Minneapolis, Burgess Publishing Company, 1972.
19. EVANS Jr, D.J. & EVANS, D. G. - Direct serological assay for the heat labile enterotoxin of *Escherichia coli*, using passive immune hemolysis. *Infect. Immun.*, 16: 604-609, 1977.
20. FAUST, E. C.; D'ANTONI, J. S.; ODAN, W.; MILLER, M. J.; PERES, C.; SAWITZ, W.; THOMEN, L. F.; TOBIE, J. & WALKER, J. M. - Critical study of clinical laboratory techniques for diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces. Preliminary communication. *Amer. J. trop. Med.*, 18: 169-183, 1938.
21. GEORGES-COURBOT, M.C.; BERAUD, A. M.; BEARDS, G. M.; CAMPBELL, A. O.; GONZALEZ, J. P.; GEORGES, A. J. & FLEWETT, T. H. - Subgroups, serotypes and electrophoretotypes of rotavirus isolated from children in Bangui, Central African Republic. *J. clin. Microbiol.*, 26: 668-671, 1988.
22. GERNA, G.; FORSTER, J.; PAREA, M.; SARASINI, A.; MATTEO, A. D.; BALDANTI, F.; LANGOSCH, B.; SCHMIDT, S. & BATTAGLIA, M. - Nosocomial outbreak of neonatal gastroenteritis caused by a new serotype 4, subtype 4B human rotavirus. *J. med. Virol.*, 31: 175-182, 1990.
23. GOTHEFORDS, L.; WADELL, G.; JUTO, P.; TANIGUCHI, K.; KAPIKIAN, A. Z. & GLASS, R. I. - Prolonged efficacy of rhesus rotavirus vaccine in Swedish children. *J. infect. Dis.*, 159: 753-757, 1989.
24. GURWITH, M.; WENMAN, W.; HIND, D.; SELTHEMAN, S. & GREENBERG, H. - A prospective study of rotavirus infection in infants and young children. *J. infect. Dis.*, 144: 218-224, 1981.
25. HO, M-S.; GLASS, R. I.; PINSKI, P. F. & ANDERSON, L. J. - Rotavirus as a cause of diarrheal morbidity and mortality in the United States. *J. infect. Dis.*, 158: 1112-1116, 1988.
26. HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A. & JANER, J. L. - Sedimentation - concentration method in Schistosomiasis mansoni. *Puerto Rico J. Publ. Hlth. trop. Med.*, 9: 283-291, 1934.
27. JAYASHREE, S.; BHAN, M. K.; KUMAR, R.; RAJ, P.; GLASS, R. & BHANDARI, N. - Serum and salivary antibodies as indicators of rotavirus infection in neonates. *J. infect. Dis.*, 158: 1117-1119, 1988.
28. KAPIKIAN, A. Z.; FLORES, J.; HOSHINO, Y.; MIDTHUM, K.; GORZIGLIA, M.; GREEN, K. Y.; CHANOCK, R. M.; POTASH, L.; SEARS, S. D.; CLEMENTS, M. L.; HALSEY, N. A.; BLACK, R. E. & PEREZ-SHAEL, I. - Prospects for development of a rotavirus vaccine against rotavirus diarrhea in infants and young children. *Rev. infect. Dis.*, 11: 5539-5546, 1989.
29. LAEMMLI, V. K. - Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of Bacteriophage T4. *Nature*, 224: 680-685, 1970.
30. LEITE, J. P. G.; PEREIRA, H.G.; AZEREDO, R. S. & SCHATZMAYR, H. G. - Adenoviruses in faeces of children with acute gastroenteritis in Rio de Janeiro, Brazil. *J. med. Virol.*, 15: 203-207, 1985.
31. LOURENÇO, M. H.; NICOLAS, L. C.; COHEN, J.; SCHERRER, R. & BRICOUT, F. - Study of human

- rotavirus genome by electrophoresis: Attempt of classification among strains isolated in France. *Ann. Inst. Pasteur Virol. (Paris)*, 132: 161-173, 1981.
32. MATSUMOTO, K.; HATANO, M.; KOBAYASHI, K.; HASEGAWA, A.; YAMAZAKI, S.; NAKATA, S.; CLUBA, S. & KIMURA, Y. - An outbreak of gastroenteritis associated with acute rotaviral infection in school children. *J. infect. Dis.*, 160: 611-615, 1989.
33. NAKAGOMI, T.; KATSUSHUMA, N. & NAKAGONI, O. - Relative frequency of human rotavirus subgroups I and II in relation to "short" and "long" electrophoretotypes of viral RNA. *Ann. Inst. Pasteur*, 139: 295-300, 1988.
34. NAKAGOMI, O.; OYAMADA, H.; KUROKI, S.; KOBAYASHI, Y.; OHSHIMA, A. & NAKAGOMI, T. - Molecular identification of a novel human rotavirus in relation to subgroup and electropherotype of genomic RNA. *J. med. Virol.*, 28: 163-168, 1989.
35. NAKATA, S.; ESTES, M.K.; GRAHAM, D. Y.; LOOSLE, R.; TAO, H.; SHUSHENG, W.; SAIF, L. J. & MELNICK, J. L. - Antigenic characterization and ELISA detection of adult diarrhea rotaviruses. *J. infect. Dis.*, 154: 448-455, 1986.
36. PEREIRA, H.G.; AZEREDO, R.S.; LEITE, J. P. G.; BARTH, O. M.; SUTMOLLER, F.; FARIAS, V. & VIDAL, M. N. P. - Comparison of polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE), Immunoelectron microscopy (IEM) and enzyme immunoassay (EIA) for the rapid diagnoses of rotavirus infection in children. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 78: 483-490, 1983.
37. PEREIRA, H.G.; AZEREDO, R. S.; LEITE, J. P. G.; ANDRADE, Z. P. & CASTRO, L. - A combined enzyme immunoassay for rotavirus and adenovirus (EIARA). *J. virol. Meth.*, 10: 21-28, 1985.
38. RACZ, M. L.; CANDEIAS, J. A. N.; TRABULSI, J. R. & MURAHOWSKI, J. - Diarrheal diseases in Brazil: Clinical feature of rotavirus associated gastroenteritis in children. *Europ. J. Epidem.*, 4: 382-385, 1988.
39. RAJ, P.; BHAN, M. K.; PRASAD, A. K.; KUMAR, R.; BHANDARI, N. & JAYASHREE, S. - Electrophoretic study of the genome of human rotavirus in rural Indian community. *Indian J. med. Res.*, 89: 65-68, 1989.
40. RODRIGUEZ, W. J.; KIM, H. W.; BRANDT, C.D.; GARDNER, M.K. & PARROTT, R. H. - Use of electrophoresis of RNA from human rotavirus to establish the identity of strains involved in outbreaks in a tertiary care nursery. *J. infect. Dis.*, 148: 34-40, 1983.
41. BUGGERI, F. M.; MARZIANO, M. L.; TINARI, A.; SALVATORI, E. & DONELLI, G. - Four-year study of rotavirus electropherotypes from cases of infantile diarrhea in Rome. *J. clin. Microbiol.*, 27: 1522-1526, 1989.
42. SANDERS, R. C. - Molecular epidemiology of human rotavirus infections. *Europ. J. Epidem.*, 1: 19-31, 1985.
43. SATTAR, S.A.; IJAZ, M. K.; JOHNSON-LUSSENBURG, C.M. & SPRINGTHORPE, V. S. - Effect of relative humidity on the airborne survival of rotavirus SA11. *Appl. environ. Microbiol.*, 47: 879-881, 1984.
44. SHINDAROV, L. M.; DIMITROW, D. H.; RANGELOVA, S.; POPOV, G.; TCAKOV, B. & TSILKA, E. - Five years study of rotavirus gastroenteritis in Bulgaria. *Acta. virol.*, 32: 309-316, 1988.
45. SPENCER, E.; ARAYA, M.; SANDINO, A. M.; PACHECO, I. & BRUNSER, O. - Faecal excretion of rotavirus and other enteropathogens in newborns of the high and low socio-economic status in Santiago Chile. *Epidem. Inf.*, 101: 425-436, 1988.
46. TIEMESSEN, C.T.; WEGERHOFF, F. O.; ERASMUS, M. J. & KIDD, A. H. - Infection by enteric adenoviruses, rotaviruses and other agents in a rural African environment. *J. med. Virol.*, 28: 176-182, 1989.

Recebido para publicação em 8/11/1991
Aceito para publicação em 5/8/1992