

DETECÇÃO DE ROTAVÍRUS E ADENOVÍRUS NA GRANDE SÃO PAULO NO PERÍODO 1984-1986. ESTUDO ELETROFORÉTICO DO GENOMA DOS ROTAVÍRUS*

Maria do Carmo S.T. TIMENETSKY**
Denise de Sousa LAZAROTTI**
Jonas KISELLIUS**
Helio G. PEREIRA***

RIALA6/630

TIMENETSKY, M.C.S.T.; LAZAROTTI, D.S.; KISELLIUS, J. & PEREIRA, H.G. —
Detecção de rotavírus e adenovírus na Grande São Paulo no período 1984-1986. Estudo
eletroforético do genoma dos rotavírus. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 47(1/2): 77-85, 1987.

RESUMO: No período de 1984 a 1986, 285 amostras de fezes de crianças com
sintomatologia diarreica foram submetidas às provas diagnósticas de ensaio
imunoenzimático, eletroforese em gel de poliacrilamida e microscopia eletrônica. Destas
amostras, 15,4% foram positivas para rotavírus e 3,2% para adenovírus. Das 44 (15,4%)
amostras positivas para rotavírus pelo método imunoenzimático, 37 apresentaram perfil
eletroforético do RNA característico dos rotavírus. Destas últimas, 27 foram analisadas
segundo o esquema de Lourenço et alii, 1981, tendo sido verificada grande heterogeneidade
de perfis e predominância dos rotavírus do subgrupo 2. No período estudado, apenas uma
amostra do rotavírus do subgrupo 1 foi detectada.

DESCRITORES: diarreia infantil; adenovírus; rotavírus; genoma viral; RNA viral;
infecção por adenovírus; infecção por rotavírus.

INTRODUÇÃO

Numerosos trabalhos foram realizados sobre a incidência, distribuição e importância da gastroenterite infantil em todo o mundo, destacando-se os de HOLMES¹⁵, 1979 e WIATT et alii³⁵, 1981. Em nosso país, este problema tem sido investigado com mais frequência após os trabalhos iniciais de LINHARES et alii²⁴, em 1977, em Belém do Pará, CANDEIAS et alii³, em 1978 e BALDACCI et alii², em 1979, em São Paulo. Vários autores nacionais^{10,16,21,22,23} têm apresentado ou publicado dados referentes a surtos isolados ou provenientes de materiais encaminhados para diagnóstico etiológico da gastroenterite de pacientes hospitalizados em enfermarias de pediatria, de berçários, creches e de visitantes de postos de saúde. Raramente são encontrados na literatura nacional estudos etiológicos e seroepidemiológicos

de surtos ou da frequência da infecção em população normal de localidades ou de cidades brasileiras^{17,32}.

A introdução, em 1983, por PEREIRA et alii³¹ do estudo eletroforético do genoma dos rotavírus humanos no Brasil despertou, conseqüentemente, o interesse por novos trabalhos que vêm sendo publicados com sua colaboração sobre os tipos eletroforéticos dos rotavírus encontrados em nosso país¹⁶. O conhecimento da circulação desses tipos eletroforéticos é de grande importância para estudos epidemiológicos.

Recentemente, em novembro de 1986, comunicações sobre a incidência, distribuição e importância da infecção por rotavírus em crianças e em animais foram apresentados ao 3º Encontro Nacional de Virologia, realizado em São Lourenço, M.G., Brasil.

* Realizado na Seção de Vírus Respiratórios, Entéricos e Outros do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** Da Fundação Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ.

Nosso trabalho apresenta os resultados obtidos com o estudo virológico das amostras de fezes enviadas ao nosso Serviço, provenientes de pacientes com diagnóstico clínico de gastroenterite, pertencentes ao grupo etário de 0 a 5 anos, moradores da Grande São Paulo. Os resultados obtidos são comparados aos encontrados em outras áreas do país para indicação da incidência da infecção e dos tipos eletroforéticos dos rotavírus humanos prevalentes nestas áreas geográficas.

MATERIAL E MÉTODOS

Durante o período de janeiro de 1984 a dezembro de 1986, recebemos 285 amostras de fezes de crianças de 0 a 5 anos de idade, que apresentavam sintomatologia diarréica. Estes materiais eram provenientes de hospitais e creches das redes públicas estadual e municipal, de alguns hospitais particulares, laboratórios regionais e centros de saúde da Grande São Paulo, que previamente foram incentivados a enviar fezes para o diagnóstico etiológico.

Estes materiais, quando não eram manipulados no dia, eram estocados a baixa temperatura (-70°C) até o momento de uso. Oportunamente, as amostras de fezes eram suspensas a 10% em tampão TRIS-HCl 0,01 M, pH 7,3, homogeneizadas vigorosamente com igual volume de FREON-113 e centrifugadas a 5.000 rpm, durante 20 minutos, a 4°C. A fase aquosa era estocada a -70°C.

O método empregado para a detecção de rotavírus e adenovírus foi o ensaio imunoenzimático, pela técnica de duplo *sandwich*, de VOLLER et alii³⁴ e YOLKEN et alii³⁶, modificada por PEREIRA et alii²⁹.

A eletroforese em gel de poliacrilamida para a análise do ARN viral foi feita pelo método de LAEMMLI²⁰, modificado por PEREIRA et alii³⁰. A detecção do rotavírus foi feita pela microscopia eletrônica, ou pela imunomicroscopia eletrônica, onde foi usada diluição ótima do soro hiperimune de coelho anti-SA-11. A técnica usada foi a de coloração negativa pelo silicotungstato de sódio, pH 7,2¹³.

No ensaio imunoenzimático (EIE) foi utilizado conjunto de reagentes fornecido pela Fundação Instituto Oswaldo Cruz, onde os antígenos são captados em fase sólida por soros hiperimunes de cabras; a captura é detectada por soros hiperimunes de cobaias e revelada por soro de coelho anti-IgG de coabaia conjugado com peroxidase.

Na eletroforese em gel de poliacrilamida (EGPA), os RNA virais foram extraídos das suspensões fecais com clorofórmio - fenol e precipitados com álcool etílico a -20°C, por 18 horas. A corrida eletroforética foi feita de acordo com técnica descrita por PEREIRA et alii³⁰. Em cada corrida foi incluído como padrão o RNA do rotavírus símio, amostra SA-11. A coloração do gel foi feita segundo HERRING¹⁴, com pequenas modificações, utilizando-se como corante o nitrato de prata.

As amostras positivas para rotavírus no EGPA foram classificadas segundo KALICA et alii¹⁸ e LOURENÇO et alii²⁵.

RESULTADOS

Das 285 amostras de fezes analisadas, 44 (15,4%) foram positivas para rotavírus e 9 (3,2%) forma positivas para adenovírus. Estes resultados que podem ser visualizados na tabela 1 exibem grande número de amostras até um ano de idade e razoável número de amostras na faixa etária de 1 a 2 anos, sendo o número de amostras inexpressivo nas restantes idades.

Ao estratificarmos a faixa etária de 0 a 2 anos, verificamos que esta não possui variação apreciável de positividade até o primeiro ano de vida; entretanto, verifica-se queda apreciável da positividade na faixa etária de 1 a 2 anos, para novamente se elevar esta positividade na faixa de 2 a 3 anos. Embora o número de amostras seja pequeno na faixa etária de 3 a 5 anos, não foi detectado qualquer rotavírus (tabela 2).

Na tabela 1, se considerarmos somente os dados de 0 a 3 anos, que são as amostragens de números mais consistentes, verificaremos que houve maior incidência de positividade tanto para rotavírus (23,3%) como para adenovírus (7,0%) na faixa etária de 2 anos.

Das 44 amostras de fezes positivas para rotavírus, 42 (95,4%) foram obtidas através de EIE, e 37 (84,0%) através da EGPA. De 97 amostras testadas pela microscopia eletrônica ou pela imunomicroscopia eletrônica (ME/IME), 22 (22,7%) foram positivas para rotavírus e somente uma (1,0%) para adenovírus. Também foram detectadas pela ME em 6 materiais (6,2%) partículas virais de cerca de 25-27 nanômetros que não puderam ser identificadas.

Em relação à concordância dos resultados nas 285 amostras examinadas, verificou-se que houve

TABELA 1

Número e percentagem de amostras fecais positivas para rotavírus e adenovírus analisadas no período 1984-1986, na Grande São Paulo

| Grupo etário (anos) | Nº de amostras analisadas | Amostras positivas | | | |
|---------------------|---------------------------|--------------------|------|------------|------|
| | | Rotavírus | | Adenovírus | |
| | | nº | % | nº | % |
| 0 -11 | 177 | 30 | 17,0 | 3 | 1,7 |
| 1 -12 | 51 | 4 | 7,8 | 2 | 4,0 |
| 2 -13 | 43 | 10 | 23,3 | 3 | 7,0 |
| 3 -14 | 10 | 0 | 0,0 | 1 | 10,0 |
| 4 -15 | 3 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 |
| 5 -16 | 1 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 |
| Total | 285 | 44 | 15,4 | 9 | 3,1 |

TABELA 2

Distribuição por faixa etária das amostras fecais positivas para rotavírus e adenovírus analisadas no período 1984-1986, na Grande São Paulo

| Grupo etário (meses) | Nº de amostras analisadas | Amostras positivas | | | |
|----------------------|---------------------------|--------------------|------|------------|-----|
| | | Rotavírus | | Adenovírus | |
| | | nº | % | nº | % |
| 0 -1 6 | 143 | 24 | 16,8 | 3 | 2,1 |
| 6 -1 12 | 34 | 6 | 17,6 | 0 | 0,0 |
| 12 -1 24 | 51 | 4 | 7,8 | 2 | 3,9 |
| 24 -1 36 | 43 | 10 | 23,2 | 3 | 7,0 |
| 36 -1 60 | 14 | 0 | 0,0 | 1 | 7,1 |
| Total | 285 | 44 | 15,4 | 9 | 3,1 |

entre os métodos de EIE e EGPA concordância em 271 amostras (95,1%) e discordância em 14 amostras (4,9%).

Das 97 amostras examinadas pela ME, 23 foram positivas para rotavírus ou adenovírus e as restantes 74 amostras foram negativas para estes dois vírus. A concordância entre ME, EIE e EGPA para rotavírus foi de 90,7% (88 amostras) e a discordância foi de 9,2% (9 amostras).

Se nos limitarmos à concordância entre os três métodos, e considerarmos os resultados somente positivos, verificaremos que, de 28 materiais positivos pelo menos em um dos três métodos, somente 19 amostras (67,8%) foram positivas nos 3 métodos utilizados. Isto porque em 2 amostras a ME foi negativa e o EIE e o EGPA foram positivos; em uma amostra, a ME foi positiva enquanto que, nos outros métodos, foi negativa. Em três amostras, a ME foi negativa juntamente com o

TABELA 3

Comparação das técnicas imunoenzimática (EIE), eletroforese em gel de poliacrilamida (EGPA) e microscopia eletrônica ou imunomicroscopia eletrônica (ME/IME) para a detecção de rotavírus

| EIE | | | EGPA | | | ME/IME | | | Total de amostras positivas |
|-------------------------|--------------------|-------|-------------------------|--------------------|-------|-------------------------|--------------------|-------|-----------------------------|
| Nº de amostras testadas | Amostras positivas | | Nº de amostras testadas | Amostras positivas | | Nº de amostras testadas | Amostras positivas | | |
| | nº | % | | nº | % | | nº | % | |
| 285 | 19 | 6,66 | 285 | 19 | 6,66 | 97 | 19 | 19,58 | 19 |
| | 2 | 0,70 | | 2 | 0,70 | | 0 | 0,00 | 2 |
| | 3 | 1,05 | | 0 | 0,00 | | 0 | 0,00 | 3 |
| | 2 | 0,70 | | 0 | 0,00 | | 0 | 0,00 | 2 |
| | 0 | 0,00 | | 0 | 0,00 | | 1 | 1,03 | 1 |
| | 15 | 5,26 | | 15 | 5,26 | | (***) | (***) | 15 |
| | 1 | 0,35 | | 0 | 0,00 | | (***) | (***) | 1 |
| | 0 | 0,00 | | 1 | 0,35 | | 0 | 0,00 | 1 |
| Total | 42 | 14,72 | Total | 37 | 12,97 | Total | 20 | 20,61 | 44 |

(***) = Exame não realizado.

EGPA, enquanto o EIE foi positivo. Finalmente, em outras 2 amostras a ME foi positiva juntamente com o EIE, e o EGPA foi negativo. Houve discordância em 9 (32,1%) das 28 amostras em que pelo menos um método resultou positivo para rotavírus. Estes dados podem ser visualizados na tabela 3. Por motivos técnicos algumas amostras não puderam ser analisadas pela IME.

Dos 37 casos positivos para EGPA, 27 foram estudados em relação ao seu perfil eletroforético. A tabela 4 demonstra os vários tipos eletroforéticos detectados na Grande São Paulo nos anos de 1984 a 1986.

No decorrer de 1984, em doze amostras o perfil eletroforético F(bcda) foi detectado em janeiro, o D(bbfa) em abril, o C(bbca) em junho e os dois B(bbba) em agosto e dezembro. Em 1985 foram detectados somente perfis eletroforéticos do tipo B(bbba) nas onze amostras positivas, assim distribuídas: uma em março, uma em agosto e quatro em setembro. Em 1986, de 21 amostras positivas uma E(bcba) e outra B(bbba) foram detectadas em fevereiro; em março, uma A(baba), uma H(caba) e cinco G(cbba); em abril, uma B(bbba);

em junho, julho, agosto e dezembro, uma A(baba) cada mês.

A única amostra do subgrupo 1(cacb), perfil curto, foi detectada em outubro de 1986, entre todas as 37 amostras estudadas nestes três anos. Todas as outras, com exceção de duas de perfil não determinado, pertenciam ao subgrupo 2.

Das onze amostras de 1985, quatro B(bbba) foram procedentes de surto de gastroenterite no Departamento de Pediatria do Hospital Emílio Ribas, São Paulo, nos meses de agosto e setembro.

Em 1986, a partir de um surto de diarreia numa creche da prefeitura, foram estudadas 19 amostras de fezes, incluídas no presente trabalho, das quais 7 foram positivas para rotavírus no EIE; destas 7 amostras, 5 apresentaram perfil eletroforético compatível com o subgrupo 2 do tipo G(cbba).

Na figura da página seguinte apresentamos a incidência de rotavírus e adenovírus durante o período de 1984 a 1986, distribuídos nos doze meses do ano.

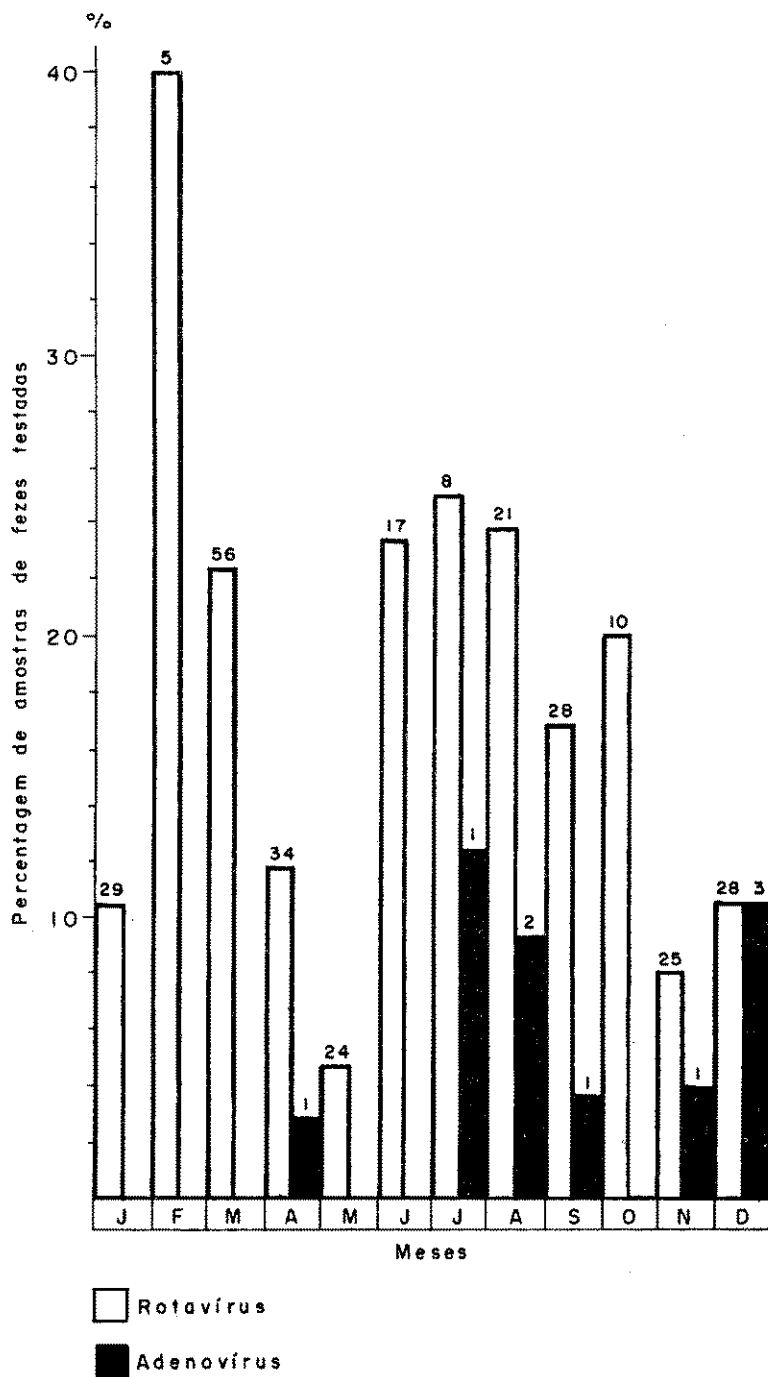


FIGURA 1 — Somatória de casos positivos para rotavírus e adenovírus distribuídos nos diferentes meses de 1984 a 1986.

TABELA 4

Resultados das eletroforeses dos RNA das amostras de fezes humanas positivas para rotavírus, da Grande São Paulo (1984-86)

| Rotavírus Sub-grupos | Grupos eletroforéticos | | | | Tipos eletrofo- réticos ^(*) | Distribuição de casos nos anos | | | Total |
|------------------------------|---------------------------|-----|-----|-----|--|-----------------------------------|------|------|-------|
| | I | II | III | IV | | 1984 | 1985 | 1986 | |
| 1 | c | a | c | b | — | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 2 | b | a | b | a | A | 0 | 0 | 5 | 5 |
| | b | b | b | a | B | 2 | 6 | 2 | 10 |
| | b | b | c | a | C | 1 | 0 | 0 | 1 |
| | b | b | f | a | D | 1 | 0 | 0 | 1 |
| | b | c | b | a | E | 0 | 0 | 1 | 1 |
| | b | c | b | a | F | 1 | 0 | 1 | 2 |
| | c | b | b | a | G | 0 | 0 | 5 | 5 |
| | c | a | b | a | H | 0 | 0 | 1 | 1 |
| Indeterminados | ... | ... | ... | ... | — | 4 | 3 | 3 | 10 |
| Eletroforeses negativas | | | | | | 3 | 2 | 2 | 7 |
| Total de amostras analisadas | | | | | | 12 | 11 | 21 | 44 |

(*) = As letras maiúsculas são denominações dadas pelos autores para facilitar a compreensão do texto.

DISCUSSÃO

Embora tenhamos recebido 480 amostras no período fixado, somente 285 puderam ser avaliadas porque preenchiam os requisitos necessários para identificação, isto é, dados como sexo, idade e qualquer sintoma ou sinal compatível com o diagnóstico de gastroenterite.

Os resultados de 15,4% de pacientes positivos para rotavírus e 3,2% para adenovírus na faixa de 0 a 5 anos de idade eram esperados e comparáveis com outros achados de autores nacionais^{2,3,22,23}.

No exterior, vários autores têm estudado a incidência de rotavírus e adenovírus em crianças com diarreia. SEN et alii³³, em Calcutá, encontraram 7,6% de positividade para rotavírus; FAGBAMI et alii⁷, na Nigéria, encontraram 21,0% e PANON et alii²⁸, em New Caledonian, encontraram 14,2% para o mesmo vírus. Na Itália, CEVENINI et alii⁴, estudando crianças de 6 a 24 meses,

durante dois anos, encontraram 26,7% de rotavírus e 17,6% de adenovírus.

Recentemente, em 1986, no Rio de Janeiro, GUIMARÃES et alii^{11,12} estudaram crianças de favelas, achando 6,7% de positividade para rotavírus e 3,5% de positividade para adenovírus. Em Ouro Preto, M.G., LANNA et alii²¹ descreveram que no período de 1985 e 1986 foram encontrados 15,6% de amostras positivas para rotavírus e 4,1% de amostras positivas para adenovírus de pacientes com diarreia. GONTIJO et alii¹⁰, em Belo Horizonte, encontraram 21,05% de rotavírus positivos e 4,6% de adenovírus positivos no período de 1984 a 1985.

Nossos resultados para rotavírus apontam percentagem similar aos achados de GONTIJO et alii¹⁰ em relação à incidência na faixa etária de zero a 11 meses.

Em relação à distribuição dos números materiais (amostras testadas) nestes três anos, 1984 a

1986, agrupados nos respectivos meses, não pudemos inferir qualquer caráter sazonal da gastroenterite causada pelos rotavírus porque estes resultados são de materiais cuja sistematização de colheita infelizmente não esteve sob nosso controle. Entretanto, como se pode observar pelo gráfico construído (p. 81) na base da somatória de resultados positivos para rotavírus e adenovírus separadamente, e considerando arbitrariamente os resultados naqueles meses em que o número de materiais foi maior que uma dezena, verificamos que a distribuição dos casos positivos se mantém em patamares sem grandes variações mensais. Obviamente, não foi considerado o número apresentado em fevereiro e julho para os dois vírus pela exigüidade da amostragem.

Em geral, a sensibilidade dos métodos utilizados também mostrou resultados semelhantes aos relatados por outros autores^{1,11,30}.

Nossos resultados mostraram, tendo em vista o perfil eletroforético dos rotavírus, que em 1984 circularam pela Grande São Paulo quatro tipos eletroforéticos diferentes (bcda, bbfa, bbca, bbba) pertencentes ao subgrupo 2, perfil longo. Ademais, que em 1985 somente foi detectado o tipo eletroforético bbba, sendo que 4 amostras foram provenientes de surto de gastroenterite em berçário do Hospital Emílio Ribas e outras 2 amostras, de locais diferentes. Das 11 amostras positivas neste ano, 2 foram negativas em EGPA e 3 não foram analisadas quanto ao perfil eletroforético, por razões técnicas. Em 1986, circularam 6 tipos eletroforéticos diferentes de rotavírus do subgrupo 2 (bcba, bbba, baba, caba, cbba, bcda). Somente foi constatada a presença de uma única amostra positiva de rotavírus do subgrupo 1 (cacb).

É interessante comentar que em São Paulo, entre 1979 e 1981, foram detectadas 5 amostras do

rotavírus pertencentes ao subgrupo 1, perfil (cbcb), contrastando com nosso achado de somente uma amostra do subgrupo 1, perfil (cacb), nos três anos estudados (1984-1986). Cabe salientar, ainda, que tanto o perfil eletroforético da amostra do subgrupo 1 (cacb) quanto os perfis do subgrupo 2 por nós detectados diferem daqueles encontrados por PEREIRA et alii³¹, no Rio de Janeiro, São Paulo e Pará em 1979-1981. Já os perfis eletroforéticos do subgrupo 2 (bbba, bcba, cbba) foram detectados por nós e por HOULY et alii¹⁶ em Maceió, no período de 1982-1983.

Em nosso trabalho como em outros sobre o assunto^{5,6,8,19,26,27} verificou-se a grande heterogeneidade nos perfis eletroforéticos apresentados, atestando a grande variação genética do rotavírus, refletindo a predominância das infecções pelo rotavírus do subgrupo 2.

Se determinados perfis do rotavírus correspondem a maior ou menor infectividade, causando surtos de maiores proporções, não sabemos; entretanto, convém assinalar para futuras investigações que os rotavírus do subgrupo 2, perfis (bbba e cbba), foram responsáveis por surto de gastroenterite na enfermaria de hospital e na creche estudadas.

Agradecimentos

Ao Dr. Luís Florêncio de Salles Gomes, Diretor do Serviço de Virologia do Instituto Adolfo Lutz, pela colaboração e sugestões durante a elaboração deste trabalho.

À Financiadora de Estudos e Projetos, FINEP, pelo auxílio financeiro para este trabalho, de acordo com o convênio nº 4.3.85.0101.00.

RIALA6/630

TIMENETSKY, M.C.S.T.; LAZAROTTI, D.S.; KISELLIUS, J. & PEREIRA, H.G. — Rotavirus and adenovirus detection in the Greater São Paulo, in 1984-1986. Electrophoretic study of the rotavirus genome. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 47(1/2):77-85, 1987.

ABSTRACT: In a period of 1984 to 1986, 285 faecal specimens from children with diarrhea were submitted to enzyme immunoassay, polyacrylamide-gel electrophoresis and electron-microscopy tests. Of the total 285 specimens, 15.4% was positive for rotavirus and 3.2% positive for adenovirus. Of 44(15.4%) positive specimens positive in enzyme immunoassay, 37 showed electrophoretic patterns proper to human rotavirus. Of these, 27 were analysed according to Lourenço's scheme (1981) showing a great heterogeneity of electrophoretic patterns and predominance of rotavirus of subgroup 2. Only one sample of rotavirus of subgroup 1 was detected in the study.

DESCRIPTORS: diarrhea, infantile; adenovirus; rotavirus; viral genomes; RNA, viral, genes, viral; adenovirus infections; rotavirus infections.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AVENDANO, L.F.; DUBINOVSKY, S. & JAMES, H.D., Jr. — Comparación de la electroforesis del ARN vírico con el método ELISA indirecto para el diagnóstico de infección por rotavírus humano. *Bol. Of. sanit. panam.*, 97(1):1-7, 1984.
2. BALDACCI, E.R.; CANDEIAS, J.A.N.; BREVIGLIERI, J.C. & ORISI, S.J.E. — Etiología viral e bacteriana de casos de gastroenterite infantil: uma caracterização clínica. *Rev. Saúde públ.*, 13:47-53, 1979.
3. CANDEIAS, J.A.N.; ROSENBERG, C.P. RÁCZ, M.L. — Identificação por contraímuno-electroforese de rotavírus em casos de diarreia infantil. *Rev. Saúde públ.*, 12:99-103, 1978.
4. CEVENINI, R.; VAROLI, O.; RUMPIANESI, F.; MAZZARACCHIO, R.; NANATTI, A. & La PLACA, M. — A two-year longitudinal study on the etiology of acute diarrhea in young children in Northern Italy. *Microbiologica*, 8(1):51-8, 1985.
5. DIMITROV, D.H.; GRAHAM, D.Y.; LOPEZ, J.; MUCHINIK, G.; VELASCO, G.; STENBACK, W.A. & ESTES, M.K. — RNA electrophoretotypes of human rotaviruses from North and South America. *Bull. WHO*, 62(2):321-9, 1984.
6. ESTES, M.K.; GRAHAM, D.Y.; DIMITROV, D.H. — The molecular epidemiology of rotavirus gastroenteritis. *Prog. med. Virol.*, 29:1-22, 1984.
7. FAGBAMI, A.H.; JOHNSON, O.A. & DAVID-WEST, T.S. — Rotavirus infection in children presenting with acute gastroenteritis Ibadan, Nigéria. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 79(1):114-5, 1985.
8. FOLLETT, E.A.C.; SANDERS, R.C.; BEARDS, G.M.; HUNDLEY, F. & DESSELBERGER, U. — Molecular epidemiology of human rotaviruses. Analysis of outbreaks of acute gastroenteritis in Glasgow and the west of Scotland 1981/82 and 1982/83. *J. Hyg., Camb.*, 92:209-22, 1984.
9. FOSTER, S.O.; PALMER, E.L.; GARY, G.W., Jr.; MARTIN, M.L.; HERRMANN, K.L.; BEASLEY, P. & SAMPSON, J. — Gastroenteritis due to rotavirus in an isolated pacific island group: an epidemic of 3,439 cases. *J. infect. Dis.*, 141(1):32-39, 1980.
10. GONTIJO, J.G.; REIS, L.F.L.; PÉRES, J.N. & PENA, F.J. — Occurrence of rotavirus and adenovirus in acute diarrhoea in children in Belo Horizonte, M.G., Brazil. In: ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA, 3º, São Lourenço, 1986, p.31. *Resumos*.
11. GUIMARÃES, M.A.A.M.; VAZ, M.G.S.; NOZWA, C.M. & von HUBINGER, N.G. — Detection of adenovirus in stools of children in Rio de Janeiro city, R.J. In: ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA, 3º, São Lourenço, 1986, p.26. *Resumos*.
12. GUIMARÃES, M.A.A.M.; VAZ, M.G.S.; NOZWA, C.M. & Von HUBINGER, M.G. — Detection of human rotavirus by electron microscope, polyacrilamide gel electrophoresis and enzyme-linked immunosorbent assay. In: ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA, 3º, São Lourenço, 1986, p.25. *Resumos*.
13. HASCHIMEYER, R.H. & MYERS, R.J. — Negative staining. In: HAYAT, M.A., ed. *Principles and techniques of electron microscopy*. New York, N.Y., 1972. p.99-147.
14. HERRING, A.J.; INGLIS, N.F.; OJEH, C.K.; SNODGRASS, D.R. & MENZIES, J.D. — Rapid diagnosis of rotavirus infection by direct detection of viral nucleic acid in silver-stained polyacrylamide gels. *J. clin. Microbiol.*, 16:473-7, 1982.
15. HOLMES, I.H. — Viral gastroenteritis. *Prog. med. Virol.*, 25:1-36, 1979.
16. HOULY, C.A.P.; UCHOA, M.M.M.; ZAIDAN, A.M.E.; GOMES-NETO, A.; OLIVEIRA, F.M.; ATHAYDE, M.A.G.; ALMEIDA, M.F.L.M. & PEREIRA, H.G. — Electrophoretic study of the genome of human rotavirus from Maceió, Brazil. *Braz. J. med. biol. Res.*, 19:33-7, 1986.
17. ISHAK, R.; LINHARES, A. C.; GABBAY, Y.; ISHAK, M.O. & CARDOSO, D.D. — Seroepidemiology of rotavirus in a population of children, Goiânia, Goiás, Brazil. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 26(5):280-4, 1984.
18. KALICA, A.R.; GREENBERG, H.B.; ESPEJO, R.T.; FLORES, J.; WYATT, R.G.; KAPKIAN, A.Z. & CHANOCK, R.M. — Distinctive ribonucleic acid patterns of human rotavirus subgroups 1 and 2. *Infect. Immunol.*, 33:958-61, 1981.
19. KONNO, T.; SATO, T.; SUZUKI, H.; KITAKA, S.; KATSUSHIMA, N.; SAKAMOTO, M.; YAZAKI, N. & ISHIDA, N. — Changing RNA patterns in rotaviruses of human origin: demonstration of a single dominant pattern at the start of an Epidemic and various patterns thereafter. *J. infect. Dis.*, 149(5):683-6, 1984.
20. LAEMMLI, Ü.K. — Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature, Lond.*, 227:680-5, 1970.
21. LANNA, M.C.S.; PÉRES, J.N.; TRÓPIA, M.J.M.; OLIVEIRA, S.M.S.; REGGIANI, R.L.; GOMES, J.A.S.; BARROS, M.E.S.; VALIE, H.S.F.; SOARES, G.M.; YOSHIKO-YAO, M.L.; CAMPOS, I.M.G.; REIS, L.N. & PIRES, M.R. — Estudo das diarreias infantis associadas ao rotavírus no Município de Ouro Preto, Brasil. In: ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA, 3º, São Lourenço, 1986, p.29. *Resumos*.

TIMENETSKY, M.C.S.T.; LAZAROTTI, D.S.; KISELLIUS, J. & PEREIRA, H.G. — Detecção de rotavírus e adenovírus na Grande São Paulo no período 1984-1986. Estudo eletroforético do genoma dos rotavírus. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 47(1/2):77-85, 1987.

22. LINHARES, A.C.; MONÇÃO, H.C.; GABBAY, Y.B.; ARAÚJO, V.L.C.; SERRUYA, A.C. & LOUREIRO, C.B. — Acute diarrhoea associated with rotavirus among children living in Belém, Brazil. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 77(3): 384-90, 1983.
23. LINHARES, A.C.; PINHEIRO, F.P.; FREITAS, R.B.; GABBAY, Y.B.; SHIRLEY, J.A. & BEARDS, G.M. — An outbreak of rotavirus diarrhoea among a nonimmune isolated South American Indian Community. *Am. J. Epidemiol.*, 113(6):703-10, 1981.
24. LINHARES, A.C.; PINHEIRO, F.P.; SCHMETZ, C.; MÜLLER, G. & DIETRICH, P. — Rotavirus em Belém do Pará-Brasil. (Nota prévia). *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 19(4):278-9, 1977.
25. LOURENÇO, M.H.; NICOLAS, J.C.; COHEN, J.; SCHERRER, R. & BRICOUT, F. — Study of human rotavirus genome by electrophoresis: attempt of classification among strains isolated in France. *Ann. Virol.*, Paris, 132(E):161-73, 1981.
26. LOURENÇO, M.H.; NICOLAS, J.C.; SANTOS-FERREIRA, M.O. & BRICOUT, F. — Presence of three rotavirus electrophoretotypes in young children hospitalized in Lisbon in 1980-1981. *Ann. Virol.*, Paris, 133(E):95-106, 1982.
27. NICOLAS, J.C.; POTHIER, P.; COHEN, J.; LOURENÇO, M.H.; THOMPSON, R.; GUIMBAUD, P.; CHENON, A.; DAUVERGNE, M. & BRICOUT, F. — Survey of human rotavirus propagation as studied by electrophoresis of genomic RNA. *J. infect. Dis.*, 149(5):688-93, 1984.
28. PANON, G. & Le GONIDEC, G. — Rotavirus and infantile gastroenteritis in New Caledonia. *Bull. Soc. Pathol. Exot. Filiales*, 77(3):263-70, 1984.
29. PEREIRA, H.G.; AZEREDO, R.S.; LEITE, J.P.; ANDRADE, Z.P. & De CASTRO, L. — A combined enzyme immunoassay for rotavirus and adenovirus (EIARA). *J. virol. Methods*, 10(1):21-8, 1985.
30. 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 diagnosis of rotavirus infection in children. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 78:483-490, 1983.
31. PEREIRA, H.G.; AZEREDO, R.S.; LEITE, J.P.G.; CANDEIAS, J.A.N.; RACZ, M.L.; LINHARES, A.C.; GABBAY, Y.B. & TRABULSI, J.R. — Electrophoretic study of the genome of human rotaviruses from Rio de Janeiro, São Paulo and Pará, Brazil. *J. Hyg., Camb.*, 90(1):117-25, 1983.
32. SALLES-GOMES, L.F.; SAKUMA, M.E.; CURTI, S.P. & TAKIGUTI, C.K. — Frequência de anticorpos para rotavírus em habitantes da cidade de São Paulo em 1980-1982. *Rev. paul. Med.*, 101(4):127-32, 1983.
33. SEN, D.; SAHA, M.R.; NIYOGI, S.K.; NAIR, G.B.; DE, S.P.; DATTA, P.; DATTA, D.; PAL, S.C.; BOSE, R. & ROYCHOWDHURY, J. — Aetiological studies on hospital in-patients with acute diarrhoea in Calcutta. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 77(2):212-4, 1983.
34. VOLLER, A.; BARTLETT, A. & BIDWELL, D. — Enzyme immunoassays with special reference to ELISA techniques. *J. clin. Pathol.*, 31:507-20, 1978.
35. WYATT, R.G.; KALICA, A.R.; MEBUS, C.A.; KIM, H.W.; LONDON, W.T.; CHANOCK, R.M. & KAPIKIAN, A.Z. — Reovirus-like agents (rotaviruses) associated with diarrheal illness in animals and man. *Perspect. Virol.*, 10:121-45, 1981.
36. YOLKEN, R.H.; KIM, H.W.; CLEM, T.; WYATT, R.G.; KALICA, A.R.; CHANOCK, R.M. & KAPIKIAN, A.Z. — Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of human reovirus-like agent of infantile gastroenteritis. *Lancet* 2:263-7, 1977.

Recebido para publicação em 18 de agosto de 1987.

