

Infecção por Rotavírus

Fátima Cerqueira^{1, 2, 3, (*)}

¹ Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa

² Centro de Estudos em Biomedicina da Universidade Fernando Pessoa (CEBIMED-UIFP)

³ Centro de Química Medicinal da Universidade do Porto (CEQUIMED-UP)

^(*) fatimaf@ufp.edu.pt

Resumo

A infecção por Rotavírus é uma das principais causas de internamento e morte de crianças jovens em todo o mundo. É responsável pela maior parte das diarreias nas crianças entre os 6 e os 24 meses, sendo que aos 5 anos quase todas as crianças já tiveram um episódio de infecção por Rotavírus. A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda a inclusão da vacina para o Rotavírus no Plano Nacional de Vacinação de todos os países como forma de prevenção da doença. A par da vacinação, está ainda recomendada a reidratação oral, que permite evitar o internamento, desidratação e morte frequentemente associadas à infecção.

Palavras Chave: Rotavirus, Vacinação, Infecção

1. Introdução

Apesar da melhoria da qualidade da água, alimentos, saneamento, e da promoção de intervenções de tratamento (ex. reidratação oral) e prevenção (promoção da amamentação) não invasivas, a diarreia continua ser a segunda causa infecciosa de mortalidade em todo o mundo (Tcheremenskaia et al., 2007).

Cerca de 100 tipos de vírus patogénicos são excretados nas fezes do Homem e animais (Fong e Lipp, 2005) e, embora os vírus entéricos possam estar presentes naturalmente nos ambientes aquáticos, o mais comum é serem neles introduzidos através das actividades humanas tais como descargas de esgotos ou sistemas sépticos, escoamento urbano e, no caso de águas de estuário e marítimas, emissão de esgotos e de descargas de navios (Fong e Lipp, 2005).

Os vírus entéricos são normalmente transmitidos por via fecal-oral sendo excretados em concentrações ex-

tremamente elevadas nas fezes (Fong e Lipp, 2005; Grinstein et al., 1989).

O Rotavírus é a maior causa de diarreia severa em lactentes e crianças jovens (Dennehy, 2008).

Cerca de 600 000 crianças morrem anualmente devido a infecção por Rotavírus, sendo que cerca de 80% de todas as mortes relacionadas com a infecção se registam em países subdesenvolvidos (Atchison et al., 2010; Dennehy, 2008; Fisher et al., 2002; Munos et al., 2010). Anualmente o Rotavírus provoca cerca de 114 milhões episódios de gastroenterite dos quais 2,4 milhões requerem hospitalização em crianças com idade inferior a 5 anos (Dennehy, 2008). As mortes associadas ao Rotavírus representam aproximadamente 5% da totalidade das mortes registadas em crianças com idade inferior a 5 anos (Dennehy, 2008; Fisher et al., 2002).

Embora a severidade possa ser diferente, a taxa de infecção por Rotavírus é semelhante entre os países industrializados e os países subdesenvolvidos, indi-

cando que o fornecimento de água potável e as medidas de higiene não influenciam de forma significativa a transmissão da doença (Committee on Infectious Diseases, 2007; Dennehy, 2008; Fisher et al., 2002). O vírus infecta as células diferenciadas das vilosidades intestinais do intestino delgado, e a infecção leva normalmente a vômitos, diarreia e febres moderadas em crianças (Dennehy, 2008). A desidratação e o desequilíbrio electrolítico são as principais complicações associadas à infecção e são mais frequentes nas crianças mais novas (Dennehy, 2008).

Embora a infecção pelo vírus se localize no intestino, provocando normalmente diarreia e infecção gastrointestinal auto-limitada (Dennehy, 2008; Fong e Lipp, 2005), ele pode provocar antigenemia e virémia em crianças com diarreia (Dennehy, 2008). Poderá assim ocorrer infecção de outros órgãos provocando manifestações respiratórias, hepatite, conjuntivite, doença renal ou infecção do SNC (Dennehy, 2008; Fong e Lipp, 2005; Ramani et al., 2010).

2. Virologia

Os Rotavírus foram originalmente descritos nos animais em 1963 após visualização em fezes por microscopia electrónica (Ebrahim, 2008; Estes, 2001; Kapikian et al., 2001). O primeiro Rotavírus humano foi descoberto cerca de 10 anos depois a partir de uma criança com gastroenterite aguda (Bishop et al., 1973; Dennehy, 2008; Ebrahim, 2008; Estes, 2001; Kapikian et al., 2001).

São vírus pertencentes à família *Reoviridae*, medem cerca de 70 nm e possuem uma cápside icosaédrica, sendo desprovidos de invólucro (Dennehy, 2008; Estes, 2001; Kapikian et al., 2001).

A cápside viral é formada por 3 camadas (capas) proteicas: a cápside externa, a cápside interna e o core interno, que rodeia 11 fragmentos de RNA que cons-

tituem o material genético do vírus (Dennehy, 2008; Estes, 2001; Kapikian et al., 2001). As proteínas que constituem a cápside são numeradas de acordo com o seu tamanho, estando a maior localizada no centro do vírião (Ebrahim, 2008). Associadas ao genoma é possível encontrar as proteínas VP1 e VP3, correspondentes a enzimas (Ebrahim, 2008).

A cápside interna é constituída pela VP6, que define o subgrupo (Dennehy, 2008). A maioria dos vírus humanos pertence aos grupos A, B e C, sendo que o grupo A é o mais importante do ponto de vista de Saúde Pública (Dennehy, 2008; Nascimento et al., 2002).

As proteínas da cápside externa, VP4 e Vp7 dão origem a anticorpos neutralizantes (Dennehy, 2008; Ebrahim, 2008; Tcheremenskaia et al., 2007). A proteína glicosilada VP7 determina o serótipo G (de glicoproteína), tendo sido identificados até ao momento 19 genótipos G diferentes (Dennehy, 2008; Duan et al., 2007; Ebrahim, 2008; WHO, 2009). A proteína VP4 é uma proteína clivada pela protease, sendo responsável pelos serótipos P (de sensível a protease), havendo actualmente 27 genótipos identificados que são designados por números dentro de parêntesis rectos ex. P[8] (Dennehy, 2008; Duan et al., 2007; Ebrahim, 2008; WHO, 2009).

As combinações G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] e G9P[8] são responsáveis por cerca de 90% das estirpes de Rotavírus isoladas em todo o mundo (Duan et al., 2007; Ebrahim, 2008; Fischer et al., 2005). Em Portugal os genótipos G9P[8] e G2P[4] parecem ser os mais prevalentes (Antunes et al., 2009; Rodrigues et al., 2007).

A distribuição dos genótipos varia geograficamente e ao longo do tempo o que tem implicações no desenvolvimento das vacinas anti-Rotavírus (Duan et al., 2007; Ebrahim, 2008; Fischer et al., 2005; Tcheremenskaia et al., 2007). Além disso, e comparado com

os países desenvolvidos, a diversidade de estirpes menos comuns é elevada nos países em desenvolvimento, supondo-se ainda que cerca de 30% das crianças possam estar simultaneamente infectadas com mais do que uma estirpe durante um episódio infeccioso (Tcheremenskaia et al., 2007).

O aparecimento de novas estirpes de Rotavírus pode dever-se a mecanismos tais como (i) o aparecimento de mutações pontuais, que podem ocorrer como eventos isolados ou serem acumuladas sequencialmente ao longo do tempo; (ii) recombinação genética de dois vírus após co-infecção de uma célula e (iii) introdução de um Rotavírus animal na população humana (Tcheremenskaia et al., 2007; Nascimento, 2002). Estes mecanismos contribuem para a diversidade das estirpes de Rotavírus quer isoladamente quer quando combinados (Tcheremenskaia et al., 2007).

3. Transmissão

Na Europa os picos de gastroenterite por Rotavírus registam-se no final do Inverno e início da Primavera, sugerindo que a sazonalidade da infecção está relacionada com os factores climáticos (Atchison et al., 2010). Embora os efeitos dos factores climáticos na epidemiologia da infecção sejam complexos, diversos estudos sugerem que temperaturas baixas, baixa humidade relativa e níveis baixos de precipitação aumentam o risco de transmissão da infecção (Atchison et al., 2010).

Um indivíduo infectado pode excretar entre 10^9 - 10^{10} viriões por grama de fezes (Ebrahim, 2008). No entanto a dose infectante é muito pequena (<100 partículas víricas), o que facilita a transmissão (Ebrahim, 2008; Nascimento, 2002).

O Rotavírus é transmitido por via fecal-oral, directamente pessoa a pessoa, e por fomites contaminadas, comida ou água (Atchison et al., 2010). Há também

alguma evidência da transmissão por via aérea (Atchison et al., 2010). A excreção inicia-se antes do aparecimento dos sintomas e pode persistir até cerca de 10 dias após o desaparecimento destes (Committee on Infectious Diseases, 2007).

A infecciosidade do Rotavírus está associada à cápside externa sendo os íões cálcio importantes na estabilidade da partícula viral (Nascimento et al., 2002; Estes, 2001; Kapikian et al., 2001). O vírus é estável à temperatura ambiente, sobrevivendo bem em superfícies porosas (papel, roupa de algodão) e não porosas (alumínio, porcelana e látex) (Kapikian et al., 2001). O virião mantém-se infeccioso numa gama de valores de pH entre 3,0 e 9,0 e em amostras humanas durante vários meses, quando conservadas a 4°C ou 20°C, desde que estabilizadas com 1,5 mM de CaCl₂ (Kapikian et al., 2001; Nascimento et al., 2002).

O vírus pode ser inactivado por desinfectantes contendo fenóis, cloro, formol e b-propiolactona (Kapikian et al., 2001). O etanol (95%) parece ser de todos o mais eficaz, exercendo a sua acção por remoção da cápside exterior (Kapikian et al., 2001).

4. Patologia

Os Rotavírus têm um tropismo relativamente limitado, infectando, na maioria dos casos, as células diferenciadas do epitélio das vilosidades do intestino delgado (Estes, 2001; Kapikian et al., 2001; Nascimento et al., 2002). O período de incubação da infecção está estimado em 1 a 3 dias (Kapikian et al., 2001; Nascimento et al., 2002).

A infecção produz um espectro de respostas que varia de uma infecção sub-clínica, diarreia (moderada a severa), a casos fatais em consequência da desidratação (Kapikian et al., 2001; Tran et al., 2010).

A infecção entérica caracteriza-se por um aparecimento súbito de vómitos, febre normalmente mo-

derada e, cerca de 24 a 48h depois, diarreia aquosa (Committee on Infectious Diseases, 2007). As fezes apresentam-se líquidas, não sanguinolentas, com aspecto gorduroso e sem coloração (Nascimento e tal., 2002). No entanto as características da diarreia não permitem diferenciar da provocada por outros agentes infecciosos, sendo necessário o diagnóstico laboratorial da infecção. Após a diarreia, que dura entre 3 a 7 dias, pode verificar-se intolerância à lactose (Committee on Infectious Diseases, 2007; Nascimento et al., 2002).

São vários os mecanismos propostos para a patogénese da infecção e incluem alterações na absorção secundária à destruição dos enterócitos, a produção de uma enterotoxina potente codificada pelo vírus (NSP4), a estimulação do sistema nervoso entérico e a isquemia das vilosidades intestinais (Ebrahim, 2008; Morris e Estes, 2001; Raming, 2004).

As infecções com sintomatologia não específica são muito frequentes quer em crianças quer em adultos (3 a 31%), estando a frequência com que ocorrem principalmente dependente da idade do indivíduo (Phillips et al., 2010). Essas infecções são vulgarmente classificadas como assintomáticas pela ausência de diarreia ou vómitos (Phillips et al., 2010). No entanto o doente apresenta sintomas não específicos como febre, dor de cabeça, náuseas e fadiga (Phillips et al., 2010).

Estudos recentes reportam a detecção de proteínas e RNA de Rotavírus no sangue de crianças infectadas (Fischer et al., 2005a; Fugita et al., 2010; Ramani et al., 2010). A localização extra-intestinal do vírus, como o líquido cefalorraquidiano, alterou a sua descrição como um agente patogénico exclusivamente intestinal, podendo disseminar-se para outros locais do organismo (Fischer et al., 2005a; Fugita et al., 2010; Nakagomi e Nakagomi, 2005; Ramani et al., 2010).

5. Protecção Natural

A infecção por Rotavírus é normalmente mais severa entre os 6 meses e os 2 anos de idade, sendo que o pico de incidência da doença sintomática ocorre entre os 7 e os 15 meses (Dennehy, 2008; Ebrahim, 2008; Fisher et al., 2002; Grinstein et al., 1989; White et al., 2008). Até aos 3 meses de idade a infecção é normalmente assintomática (Fisher et al., 2002). Uma das explicações para este facto prende-se com o facto de a maioria das mães possuírem anticorpos para o Rotavírus que são passados ao feto por via transplacentária, protegendo o recém-nascido (Committee on Infectious Diseases, 2007). Uma evidência que suporta esta hipótese é a de que os bebés prematuros apresentam um maior risco de doença grave quando comparados com os bebés de termo, provavelmente devido à falta dos anticorpos que adquiririam por via placentária (Committee on Infectious Diseases, 2007; Newman et al., 1999). Também os anticorpos transmitidos da mãe para o recém-nascido através da amamentação conferem protecção contra a doença (Committee on Infectious Diseases, 2007; Newman et al., 1999).

A reinfeção é normalmente menos severa em termos de doença clínica devido ao efeito dos anticorpos produzidos na primeira infecção (Dennehy, 2008; Fischer et al., 2002). Os estudos sugerem que a imunidade induzida pela infecção reduz a incidência e severidade de episódios subsequentes (Fischer et al., 2002; Ward et al., 1992; Westerman et al., 2005; White et al., 2008). Embora as crianças possam desenvolver infecção por Rotavírus várias vezes durante a sua vida, a segunda e terceira infecções conferem progressivamente uma maior protecção sendo que, a partir da segunda, as crianças normalmente não desenvolvem diarreia severa (Dennehy, 2008; Phillips

et al., 2010), embora a duração da infecção possa não ser reduzida (White et al., 2008).

A protecção contra os rotavírus parece estar relacionada com a imunidade local mediada por anticorpos secretórios IgA, embora vários estudos refiram também como essencial a produção de IgG (Jaimes et al., 2002; Ward et al., 1992; Westerman et al., 2005; White et al., 2008). No entanto, a correlação entre a protecção imunológica conferida pela infecção natural e a doença clínica ainda não está completamente elucidada (Dennehy, 2008; Duan et al., 2007; Jaimes et al., 2002; Vizzi et al., 2005; Westerman et al., 2005).

6. Vacinas

Dado que não há tratamento antivírico específico, a vacinação é a melhor estratégia para o controlo da doença (Fisher et al., 2002; WHO, 2009).

As vacinas para Rotavírus representam uma importante ferramenta de prevenção pois são capazes de reduzir substancialmente a morbilidade e a mortalidade associadas à infecção, se as campanhas de vacinação forem implementadas correctamente (Munos et al., 2010; Richardson et al., 2010).

As vacinas vivas administradas por via oral na primeira infância, que vão mimetizar a protecção induzida pela infecção natural, têm sido bem sucedida na protecção contra a doença causada por Rotavírus (Fisher et al., 2002; Plotkin, 2009; Wang et al., 2010), em parte devido à resposta imune que parecem induzir localmente no intestino, considerada fundamental para conferir protecção (Westerman et al., 2005).

A imunização logo nos primeiros tempos de vida poderá não evitar a doença mas previne os casos mais severos de doença e as suas consequências (visitas ao médico, desidratação, hospitalização e morte) (Committee on Infectious Diseases, 2007). A protecção

conferida pelos anticorpos neutralizantes não é específica do serótipo, registando uma imunidade reactiva cruzada, sugerindo que a imunidade ao Rotavírus poderá ser mediada por outros factores (Vizzi et al., 2005; Ward et al., 1992).

Temos actualmente licenciadas para Portugal 2 vacinas para Rotavírus: a Rotarix (GlaxoSmithKline Biologicals, Bélgica) e a RotaTeq (Sanofi Pasteur, França) (INFARMED, 2010).

A vacina viva RotaTeq é uma vacina pentavalente (G1, G2, G3, G4 e P[8]) que contém recombinantes genéticos de rotavírus humanos e bovinos (Dennehy, 2008; Plotkin, 2009; Tcheremenskaia et al., 2007). É administrada em 3 doses, com início entre as 6 e as 12 semanas de vida, e com intervalos nunca inferiores a 4 semanas (Dennehy, 2008). De preferência, as 3 doses devem ser administradas antes das 20-22 semanas de vida (WHO, 2009).

A vacina Rotarix é a estirpe RIX 4414 do Rotavírus humano e representa os antigénios do rotavírus mais comuns em infecções em humanos G1P[8] (Dennehy, 2008; Tcheremenskaia et al., 2007; WHO, 2009). A vacina é administrada em duas doses orais, sendo a primeira administrada após as 6 semanas de idade e de preferência antes das 16 semanas. O intervalo entre as doses não deve nunca ser inferior a 4 semanas, devendo a vacinação estar completa antes das 24 semanas de idade (INFARMED, 2010). Embora não se tenha obtido eficácia nos ensaios de fase III em serótipos G2 estudos de populações vacinadas permitiram concluir que havia protecção cruzada para estirpes não-G2 e não P[8], sendo que a protecção conferida contra G2P[4] era de cerca de 81% (Dennehy, 2008).

A OMS recomendou a 5 de Junho de 2009 a introdução da vacina para o Rotavírus em todos os programas nacionais de vacinação, embora Portugal ain-

da não tenha adoptado essa recomendação (WHO, 2009).

Apesar das vacinas actualmente disponíveis, os estudos epidemiológicos devem continuar e ser intensificados (Tcheremenskaia et al., 2007). A emergência de vírus novos e imunologicamente diferentes, provavelmente devido à quebra da barreira inter-espécies ou recombinação genética entre vírus humanos e animais, podem tornar necessário modificar as vacinas ao longo do tempo (Tcheremenskaia et al., 2007).

7. Tratamento

O principal objectivo do tratamento da gastroenterite provocada por Rotavírus é a reposição de fluidos e electrólitos perdidos através do vómito e diarreia, estimando-se que a reidratação possa prevenir cerca de 93% das mortes associadas à infecção (Kapikian et al., 2001; Munos et al., 2010a,b; Richardson et al., 2010).

Até aos anos 70 a reposição de fluidos e electrólitos por via endovenosa era o tratamento de eleição para a desidratação, mas envolvia custos elevados e tornava-se impraticável em países com poucos recursos (Munos et al., 2010b).

As soluções para reidratação oral e as soluções caseiras foram propostas desde os anos 60-70, tendo sido desenvolvidas formulações contendo glucose e electrólitos para prevenir e tratar a desidratação de doentes com diarreia (Munos et al., 2010a,b; Richardson et al., 2010). A utilização de soluções para reidratação oral permite a obtenção de um efeito protector contra a perda de fluidos e electrólitos devido ao co-transporte de glucose e sódio, e também de água, através do epitélio do intestino delgado (Diemert, 2006; Munos et al., 2010b).

Em 1970 a Organização Mundial de Saúde propôs uma fórmula para reidratação oral com glucose e elec-

trólitos com uma osmolaridade final de 310 mOsm/l (Kapikian et al., 2001; Munos et al., 2010b). Posteriormente, foram sugeridas formulações com uma menor osmolaridade que permitem obter melhores resultados, reduzindo a frequência do vómito e dos episódios diarreicos e, conseqüentemente, a necessidade de terapia endovenosa (Kapikian et al., 2001; Munos et al., 2010b). Actualmente a OMS e o Fundo Internacional de Emergência para a Infância das Nações Unidas (UNICEF) recomendam uma formulação para reidratação oral com uma osmolaridade de 245 mOsm/l (WHO, 2006).

Se a reidratação oral não for capaz de repor os fluidos e electrólitos, ou se o doente se encontra severamente desidratado ou em estado de choque, deve fazer-se tratamento por via endovenosa (Kapikian et al., 2001).

A OMS propõe também a utilização de suplementos de Zinco para tratamento da diarreia e prevenção da desidratação, dado aquele se ter mostrado eficaz a reduzir a duração e severidade dos episódios diarreicos e as taxas de hospitalização associadas a estes (Fischer et al., 2010; Munos et al., 2010; Walker e Black, 2010; WHO, 2006). A introdução e o reforço dos suplementos de Zinco em países de baixos recursos económicos permitem reduzir a morbidade e mortalidade associadas à infecção (Fischer et al., 2010; Munos et al., 2010; Walker e Black, 2010; WHO, 2006).

Uma outra recomendação da OMS é a de promover e reforçar a amamentação com leite humano durante a doença dado que os anticorpos anti-rotavírus contidos no leite permitem a protecção do lactente (Diemert, 2006; Jackson e Nazar, 2006; Kapikian et al., 2001; OMS, 2006). A amamentação com leite humano contendo anticorpos anti-rotavírus mostrou inclusivamente ter sucesso no tratamento de infecção crónica por Rotavírus em crianças com imunodeficiências (Kapikian et al., 2001).

No entanto, numa tentativa de promover a administração de fluidos mais precocemente numa diarreia, e consequentemente prevenir a desidratação, vários programas de controlo da doença diarreica fomentaram o uso de fluidos adicionais e soluções caseiras como água de arroz e soluções de açúcar e sal (uma colher de chá de sal de mesa e oito colheres de chá de açúcar por litro de água purificada) (Diemert, 2006; Munos et al., 2010b; Victora et al., 2000). Além disso é ainda recomendada uma dieta à base de hidratos de carbono (arroz, pão, batatas, bananas e bolachas de água e sal) durante a fase aguda da diarreia (Diemert, 2006).

Os probióticos têm demonstrado efeitos curativos e preventivos em diarreias de diferentes etiologias (Niel et al., 2002; Vrese e Marteau, 2007). No entanto, como o mecanismo e a eficácia dos probióticos depende das interações com a microflora e das células imunocompetentes do intestino específicas de cada hospedeiro, os resultados parecem ainda não ser suficientes para haver uma recomendação específica para o uso dos probióticos no tratamento da diarreia provocada por Rotavírus (Niel et al., 2002; Vrese e Marteau, 2007).

A suplementação com Vitamina A foi também já proposta embora os resultados tenham sido contraditórios nos diferentes estudos, podendo mesmo a sua administração ter efeitos prejudiciais, pelo que não é recomendada (Diness et al., 2010; Ricalhrdson et al., 2010).

8. Diagnóstico

O diagnóstico laboratorial da infecção pelo Rotavírus baseia-se normalmente na detecção directa do vírus nas fezes recorrendo a métodos imunológicos ou moleculares (Nascimento, 2002; van Doorn et al., 2009).

Os imunoenaios são os mais utilizados existindo disponíveis no mercado vários testes rápidos de detecção de Rotavírus em fezes (Al-Yousif et al., 2001; Dennehy et al., 1999; Khamrin et al., 2010). As metodologias são variadas e podem incluir ensaios imunoenzimáticos (EIA), métodos de aglutinação usando partículas de látex, detecção por imunofluorescência e por imunocromatografia (Al-Yousif et al., 2001; Dennehy et al., 1999; Khamrin et al., 2010; Nguyen et al., 2007; Raboni et al., 2002). No entanto a utilização dos testes serológicos é limitada quando se pretende distinguir com precisão os diferentes genótipos (van Doorn et al., 2009).

Assim, os métodos moleculares de identificação, quantificação e genotipagem do RNA viral podem também ser utilizados no diagnóstico (Logan et al., 2006; Nordgren et al., 2010; van Doorn et al., 2009). O isolamento dos vírus em cultura celular é possível, embora difícil, sendo normalmente realizado apenas em laboratórios de investigação (Nascimento et al., 2002; Raboni et al., 2002).

9. Conclusão

Apesar da melhoria da qualidade da água, alimentos e condições sanitárias das populações, a infecção por Rotavírus continua a ser uma realidade nos países desenvolvidos e subdesenvolvidos de todo o mundo.

A implementação de programas que promovam a adopção de medidas para a reposição de fluidos e electrólitos desde o início da doença permitirá reduzir a duração e gravidade da mesma, diminuindo a necessidade de internamento devido à infecção bem como a morte por desidratação.

A vacinação é, porém, a forma mais eficaz de combater a infecção. No entanto, a variação dos genótipos geograficamente e ao longo do tempo têm implicações no desenvolvimento das vacinas, pelo que de-

verão sempre ser realizados estudos epidemiológicos antes e após a introdução dos programas de vacinação numa determinada população.

Bibliografia

- Al-Yousif Y., Anderson J., Chard-Bergstrom C., Bustamante A., Muenzenberger M., Austin K., Kapil S. 2001. Evaluation of a Latex Agglutination Kit (Virogen Rotatest) for Detection of Bovine Rotavirus in Fecal Samples. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 8: 496 - 498.
- Antunes H, Afonso A., Iturriza M., Martinho I., Ribero C., Rocha S., Magalhães C., Carvalho L., Branca F, Gray J. 2009. G2P[4] the most prevalent rotavirus genotype in 2007 winter season in a European non-vaccinated population. *J. Clin. Virol.* 45(1): 76-78.
- Atchison C., Tam C., Hajat S., van Pelt W., Cowden J., Lopman B. 2010 Temperature-dependent transmission of rotavirus in Great Britain and The Netherlands *Proc R Soc B*, 277: 933 - 942.
- Committee on Infectious Diseases 2007 Prevention of Rotavirus Disease: Guidelines for Use of Rotavirus Vaccine *Pediatrics*, 119: 171 - 182.
- de Vrese M., Marteau P. 2006 Probiotics and Prebiotics: Effects on Diarrhea *J. Nutr.*, 137: 803S - 811S.
- Dennehy P. 2008 Rotavirus vaccines; an overview. *Clin. Microbiol. Rev.* 21(1): 198-208.
- Dennehy P., Hartin M., Nelson S., Reising S. 1999 Evaluation of the ImmunoCardSTAT! Rotavirus Assay for Detection of Group A Rotavirus in Fecal Specimens *J. Clin. Microbiol.*, 37: 1977 - 1979.
- Diemert D. 2006 Prevention and Self-Treatment of Traveler's Diarrhea *Clin. Microbiol. Rev.*, 19: 583 - 594.
- Diness B., Christoffersen D., Pedersen U., Rodrigues A., Fischer T., Andersen A., Whittle H., Yazdanbakhsh M., Aaby P., Benn C. 2010 The Effect of High-Dose Vitamin A Supplementation Given with Bacille Calmette-Guérin Vaccine at Birth on Infant Rotavirus Infection and Diarrhea: A Randomized Prospective Study from Guinea-Bissau *J. Infect. Dis.*, 202: S243 - S251.
- Duan Z-J., Li D-D., Zhang Q., Liu N., Huang C-P., Jiang X., Jiang B., Glass R., Steele D., Tang J-Y., Wang Z-S., Fang Z-Y. 2007 Novel human rotavirus of genotype G5P[6] identified in a stool specimen from a Chinese girl with diarrhea. *J. Clin. Microbiol.* 45(5): 1614-1617.
- Ebrahim G. 2008 Rotaviruses and Rotavirus vaccines. *J. Trop. Pediatr* 54(2): 79-82
- Estes M. 2001 Rotavirus and their replication *In* Knipe D., Howley P. Eds *Fields Virology*, Chapter 54, 4th Edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA
- Fischer T., Ashley D., Kerin T., Reynolds-Hedmann E., Gentsch J., Widdowson M., Westerman L., Puhrt N., Turcios R., Glass R. 2005a Rotavirus Antigenemia in Patients with Acute Gastroenteritis. *J. Infect Dis.* 192: 913 - 919.
- Fischer T., Eugen-Olsen J., Pedersen A., Mølbak K., Böttiger B., Rostgaard K., Nielsen N. 2005b. Characterization of Rotavirus Strains in a Danish Population: High Frequency of Mixed Infections and Diversity within the VP4 Gene of P[8] Strains *J. Clin. Microbiol.* 43: 1099 - 1104.
- Fischer T., Valentiner-Branth P., Steinsland H., Perch M., Santos G., Aaby P., Mølbak K., Sommerfelt H. 2002 Protective immunity after natural rotavirus infection: a community cohort study of newborn children in Guinea-Bissau, West Africa. *J. Infect Dis.* 186: 593-597.
- Florence T. Wang, T. Christopher Mast, Roberta J. Glass, Jeanne Loughlin, and John D. Seeger 2010 Effectiveness of the Pentavalent Rotavirus Vaccine in Preventing Gastroenteritis in the United States *Pediatrics*, 125: e208 - e213
- Fong T-T, Lipp E. 2005 Enteric Viruses of humans and animals in aquatic environments: health risks, detection and potential water quality assessment tools. *Mol. Biol. Rev.* 69(2):357-371.
- Fujita Y., Liu B., Kohira R., Fuchigami T., Mugishima H., Izumi H., Kuzuya M., Fujii R., Hamano M., Ogura H. 2010. Rotavirus antigenemia and genemia in children

- with rotavirus gastroenteritis. *Jpn J Infect Dis.* 63(2): 83-86.
- Grinstein S., Gómez J., Bercovich J., Biscotti E. 1989 Epidemiology of rotavirus infection and gastroenteritis in prospectively monitored Argentine families with young children. *Am. J. Epidemiol.* 130 (2): 300-308
- INFARMED – Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento 2010. Prontuário terapêutico 9.Março de 2010. 492.
- Jackson K., Nazar A. 2006 Breastfeeding, the Immune Response, and Long-term Health. *J Am Osteopath Assoc,* 106: 203 - 207.
- Jaimes M., Rojas O., González A., Cajiao I., Charpilienne A., Pothier P., Kohli E., Greenberg H., Franco M., Angel J. 2002 frequencies of virus-specific CD4+ and CD8+ T lymphocytes secreting gamma interferon after acute natural rotavirus infection in children and adults. *J. Virol.* 76(10): 4741-4749.
- Kapikian A., Hoshino Y., Chanock R. 2001 Rotaviruses In Knipe D., Howley P. Eds Fields Virology, Chapter 55, 4th Edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA
- Khamrin P., Tran D., Chan-it W., Thongprachum A., Okitsu S., Maneekarn N., Ushijima H. 2010. Comparison of the Rapid Methods for Screening of Group A Rotavirus in Stool Samples. *J Trop Pediatr,* 10.1093/tropej/fmq101.
- Logan C., O’Leary J., O’Sullivan N. 2006 Real-Time Reverse Transcription-PCR for Detection of Rotavirus and Adenovirus as Causative Agents of Acute Viral Gastroenteritis in Children. *J. Clin. Microbiol.,* 44: 3189 - 3195
- Morris A., Estes M. 2001. Microbes and Microbial Toxins: Paradigms for Microbial-Mucosal Interactions: VIII. Pathological consequences of rotavirus infection and its enterotoxin. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol,* 281: G303 - G310.
- Munos M., Walker C., Black R. 2010a The effect of rotavirus vaccine on diarrhoea mortality *Int. J. Epidemiol.* 39: i56 - i62.
- Munos M., Walker C., Black R. 2010b The effect of oral rehydration solution and recommended home fluids on diarrhoea mortality *Int. J. Epidemiol.,* 39: i75 - i87.
- Nakagomi T., Nakagomi O. 2005. Rotavirus antigenemia in children with encephalopathy accompanied by rotavirus gastroenteritis. *Arch. Virol.,* 150(9): 1927-3191.
- Nascimento M. 2002. Reovírus e Rotavírus In. Ferreira W., Sousa J. Eds Microbiologia Vol 3. LIDEL
- Nguyen T., Khamrin P., Takanashi S., Le Hoang P., Pham L.D., Hoang K., Satou K., Masuoka Y., Okitsu S., Ushijima H. 2007. Evaluation of Immunochromatography Tests for Detection of Rotavirus and Norovirus among Vietnamese Children with Acute Gastroenteritis and the Emergence of a Novel Norovirus GII.4 Variant. *J Trop Pediatr.* 53: 264 - 269.
- Niel C., Feudtner C., Garrison M., Christakis D. 2002 *Lactobacillus* Therapy for Acute Infectious Diarrhea in Children: A Meta-analysis *Pediatrics,* 109: 678 - 684.
- Nordgren J., Bucardo F., Svensson L., Lindgren P-E. 2010. Novel Light-Upon-Extension Real-Time PCR Assay for Simultaneous Detection, Quantification, and Genogrouping of Group A Rotavirus *J. Clin. Microbiol.,* 48: 1859 - 1865.
- Phillips G., Lopman B., Rodrigues L., Tam C. 2010 Asymptomatic Rotavirus Infections in England: Prevalence, Characteristics, and Risk Factors *Am. J. Epidemiol.,* 171: 1023 - 1030.
- Plotkin S. 2009 Vaccines: the fourth century. *Clin. Vaccine Immunol.* 16(12): 1709-1719.
- Raboni S., Nogueira M., Hakim V., Torrecilha V., Lerner H., Tsuchiya L. 2002. Comparison of Latex Agglutination With Enzyme Immunoassay for Detection of Rotavirus in Fecal Specimens. *Am J Clin Pathol,* 117: 392 - 394.
- Ramani S., Paul A., Saravanabavan A., Menon V., Arumugam R., Sowmyanarayanan T., Samuel P., Kang G. 2010 Rotavirus Antigenemia in Indian Children with Rotavirus

- Gastroenteritis and Asymptomatic Infections *Clin. Infect. Dis.* 51(11):1284–1289
- Ramig R. 2004. Pathogenesis of Intestinal and Systemic Rotavirus Infection. *J. Virol.*, 78: 10213 - 10220
- Richardson V., Hernandez-Pichardo J., Quintanar-Solares M., Esparza-Aguilar M., Johnson B., Gomez-Altamirano C., Parashar U., Patel M. 2010 Effect of rotavirus vaccination on death from childhood diarrhea in Mexico. *N Engl J Med* 362(4): 299-305.
- Rodrigues F., Iturriza M., Gray J., Januario L., Lemos L. 2007. Epidemiology of rotavirus in Portugal: G9 as a major cause of diarrhoea in non-hospitalised children. *J. Clin. Virol.* 40(3): 214-217.
- Tcheremenskaia O., Marucci G., De Petris S., Ruggeri F., Dovecar D., Sternak S., Matyasova I., Dhimolea M., Mladenova Z., Fiore L., Rotavirus Study Group 2007. Molecular Epidemiology of Rotavirus in Central and Southeastern Europe *J. Clin. Microbiol.* 45: 2197 - 2204.
- Tran A., Talmud D., Lejeune B., Jovenin N., Renois F., Payan C., Leveque N., Andreoletti L. 2010 Prevalence of Rotavirus, Adenovirus, Norovirus, and Astrovirus Infections and Coinfections among Hospitalized Children in Northern France *J. Clin. Microbiol.* 48: 1943 - 1946.
- van Doorn L-J., Kleter B., Hoefnagel E., Stainier I., Poliszczak A., Colau B., Quint W. 2009. Detection and Genotyping of Human Rotavirus VP4 and VP7 Genes by Reverse Transcriptase PCR and Reverse Hybridization *J. Clin. Microbiol.*, 47: 2704 - 2712
- Victora C., Bryce J., Fontaine O., Monasch R. 2000 Reducing deaths from diarrhoea through oral rehydration therapy. *Bull World Health Organ* 78:1246–55.
- Vizzi E., Calvino E., González R, Pére-Schael I., Ciarlet M., Kang G., Estes M., Liprandi F., Ludert J. 2005 Evaluation of serum antibody responses against the rotavirus nonstructural protein NSP4 in children after rhesus rotavirus tetravalent vaccination or natural infection. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 12(10): 1157-1163
- Walker C., Black R. 2010 Zinc for the treatment of diarrhoea: effect on diarrhoea morbidity, mortality and incidence of future episodes *Int. J. Epidemiol.* 39:i63–i69
- Walker C., Black R. 2010 Zinc for the treatment of diarrhoea: effect on diarrhoea morbidity, mortality and incidence of future episodes *Int. J. Epidemiol.*, 39: i63 - i69.
- Ward R., Clemens J., Knowlton D., Rao M., van Loon E, Huda N., Ahmed F, Schiff G., Sack D. 1992 Evidence that protection against rotavirus diarrhea after natural infection is not dependent on serotype-specific neutralizing antibody. *J. Infect. Dis.* 166: 1251-1257
- Westerman L., McClure H., Jiang B., Almond J., Glass R. 2005 Serum IgG mediates mucosal immunity against rotavirus infection. *PNAS* 102(20): 7268-7273.
- White L., Buttery J., Cooper B., Nokes D., Medley G. 2008. Rotavirus within day care centers in Oxfordshire, UK: characterization of partial immunity. *J. R. Soc. Interface* 5: 1481-1490.
- WHO – World Health Organization. 2006. Implementing the New 2006 Recommendations on the Clinical Management of Diarrhoea: Guidelines for Policy Makers and Programme Managers. Geneva: World Health Organization
- WHO – World Health Organization. 2009. Introduction of rotavirus vaccines into national immunization programmes. Management manual, including operational information for health workers. Geneva: World Health Organization.