

Detecção de antígenos de rotavírus no soro de crianças hospitalizadas por gastroenterite aguda em Belém, Estado do Pará, Brasil

Rotavirus antigen detection in serum samples from children with acute gastroenteritis in Belém, Pará State, Brazil

Maria Cleonice Aguiar Justino¹, Erika Maria Nogueira de Abreu Campos¹, Joana D'Arc Pereira Mascarenhas¹, Luana da Silva Soares¹, Sissa Gabrielle Ribeiro Soares², Tássia Salgado Soares², Manoel Jaime Castro Pavão Júnior², Orvácio Melo Bezerra², Tássio Sampaio Maciel², Fredison Pinheiro Farias², Alexandre da Costa Linhares¹

¹Instituto Evandro Chagas/SVS/MS, Seção de Virologia, Ananindeua, Pará, Brasil

²Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências da Saúde, Belém, Pará, Brasil

RESUMO

Os rotavírus (RV) são os principais agentes virais causadores de gastroenterite (GE) aguda na infância, sendo responsáveis por milhares de óbitos em crianças com diarreia, em âmbito global, especialmente nos países em desenvolvimento. Estudos recentes demonstraram a presença de antígenos de RV no soro (antigenemia) e nas fezes de animais e seres humanos, podendo esse achado estar relacionado a manifestações clínicas extraintestinais e maior gravidade da doença. Este estudo foi realizado em uma clínica infantil em Belém, Estado do Pará, Brasil, com o objetivo de detectar antigenemia causada por RV entre crianças hospitalizadas com GE aguda. De 566 crianças, foram coletadas 452 amostras pareadas de fezes e soro para análise por meio do método imunoenzimático (ELISA). A pesquisa de RV nas fezes revelou-se positiva em 24% (109/452) das amostras, sendo detectada antigenemia em 37,5% (41/109) desses pacientes. A gravidade da doença foi analisada utilizando-se o escore universal de Ruuska e Vesikari, não sendo observada diferença estatisticamente significativa entre os pacientes com e sem antigenemia ($p = 0,120$); entretanto, observou-se maior número de episódios e duração dos vômitos nos pacientes com antigenemia ($p = 0,015$ e $p = 0,002$, respectivamente). A antigenemia é frequente em crianças hospitalizadas com GE aguda causada por RV, em Belém, e está associada a um maior número de episódios e duração dos vômitos. Os resultados permitiram um melhor entendimento acerca da patogenia das rotaviruses, especialmente em crianças vacinadas. Entretanto, faz-se necessária uma análise mais abrangente envolvendo testes moleculares para complementação dos resultados alcançados no que tange aos genótipos envolvidos.

Palavras-chave: Diarreia; Rotavírus; Antigenemia; Gastroenterite.

ABSTRACT

Rotaviruses (RV) are the main causative agents of acute gastroenteritis (AGE) during childhood and are responsible for thousands of deaths due to diarrhea worldwide, especially in developing countries. Recent studies have indicated the presence of RV antigens in the serum (antigenemia) and feces of animals and humans, which may be related to extraintestinal clinical manifestations and increased disease severity. This study was conducted in a children's clinic located in Belém, Pará State, Brazil, and aimed to detect antigenemia caused by RV in children hospitalized for AGE. The study population was composed of 566 children, from whom 452 paired fecal and serum samples were collected for RV antigen detection using immunoassays (ELISA). Positive results were found in 24% (109/452) of fecal samples; antigenemia was detected in 37.5% (41/109) of children. Disease severity was analyzed using Ruuska and Vesikari's scoring system and no statistically significant difference was observed between patients with or without antigenemia ($p = 0.120$); however, a greater number of vomiting episodes and longer duration of vomiting were observed in patients with antigenemia than those without antigenemia ($p = 0.015$ and $p = 0.002$, respectively). Antigenemia is frequently identified in children hospitalized for AGE caused by RV, and is associated with a greater number of vomiting episodes and longer duration of vomiting in Belém, Brazil. The results enabled a better understanding of the pathogenesis of RV infections, especially in vaccinated children. However, a comprehensive analysis is necessary, including molecular tests for the genotypes involved for completing the achieved results.

Keywords: Diarrhea; Rotavirus; Antigenemia; Gastroenteritis.

Correspondência / Correspondence:

Alexandre da Costa Linhares

Instituto Evandro Chagas, Seção de Virologia

Rodovia BR-316 km 7, s/n. Bairro: Levilândia – CEP: 67030-000 – Ananindeua, Pará, Brasil – Tel.: +55 (91) 3214-2007

E-mail: alexandrelinhares@iec.pa.gov.br

INTRODUÇÃO

Os rotavírus (RV) são os principais agentes virais causadores de gastroenterite (GE) aguda com desidratação grave em nível global. Estima-se que, em 2008, ocorreram 453.000 óbitos entre crianças menores de 5 anos de idade devido à diarreia causada por esse agente em todo o mundo¹.

O mecanismo de transmissão mais frequente é pela via fecal/oral, diretamente de pessoa à pessoa, ou indiretamente através de fômites. Os sintomas associados à infecção por RV são principalmente diarreia e vômitos, resultantes da ação do vírus nos enterócitos maduros do ápice das vilosidades do intestino delgado, o que ocasiona a lise das células responsáveis pelo mecanismo de absorção e secreção intestinal, desencadeando-se o processo diarreico².

Desde 6 de março de 2006, a vacina de origem humana monovalente, designada comercialmente Rotarix® (GlaxoSmithKline Biologicals), é utilizada no Programa Nacional de Imunizações do Brasil sob a denominação de vacina oral de rotavírus humano (VORH), sendo administrada a lactentes em duas doses, por via oral, aos 2 e aos 4 meses de idade³.

Em Belém, Estado do Pará, ao se compararem as hospitalizações por GE de qualquer etiologia entre crianças menores de 5 anos de idade, antes (1998–2005) e após (2007) a introdução da vacina no sistema público de saúde, observou-se redução de 31,3%; particularmente naquelas crianças menores de 1 ano de idade, a redução foi de 48,2%⁴. No Brasil, Costa et al⁵ observaram redução sustentável nos óbitos relacionados à GE por RV na faixa etária inferior a 1 ano e entre 1 e 5 anos de idade, depois da introdução da vacina contra RV em larga escala, fornecendo evidência adicional do benefício direto e indireto da vacinação.

Embora ainda prevaleça o conceito de que as rotaviruses constituem doenças puramente entéricas, diversos estudos demonstram a ocorrência de antigenemia/viremia nas infecções em animais e seres humanos, podendo ser responsáveis por manifestações clínicas extraintestinais, como otites, quadros respiratórios, hepatite transitória, intussuscepção e enterite necrotizante^{6,7,8,9,10,11}.

O objetivo deste estudo foi avaliar a intensidade dos sintomas de GE aguda causada por RV associada à possível antigenemia entre crianças hospitalizadas em uma clínica infantil em Belém.

MATERIAIS E MÉTODOS

No período de 2012 a 2015, foram incluídos neste estudo pacientes nascidos após 6 de março de 2006 (data da introdução da vacina contra RV no calendário oficial de imunizações do Brasil) e com pelo menos 12 semanas de idade, hospitalizados devido à GE aguda em um hospital infantil de Belém.

Após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Instituto Evandro

Chagas (IEC), sob protocolo nº 0039/2011 – amostras de fezes e sangue foram obtidas até 48 h após a hospitalização.

Considerou-se como um caso de GE a ocorrência de diarreia (passagem de três ou mais evacuações de consistência mais amolecida que o normal dentro de 24 h). Foram excluídos da pesquisa pacientes com sintomas de diarreia crônica (mais de 14 dias de doença) e diarreia nosocomial, bem como aqueles que não coletassem amostras pareadas de fezes e soro ou cuja coleta desses espécimes ultrapassasse 48 h de hospitalização.

As análises laboratoriais foram realizadas na Seção de Virologia do IEC, adotando-se o método imunoenzimático (ELISA), com base no kit RIDASCREEN® (R-Biopharm AG, Darmstadt, Alemanha), para a pesquisa do antígeno de RV nas fezes e no soro, com a utilização de anticorpos monoclonais para o produto do sexto genoma viral, qual seja, a proteína VP6, seguindo-se as recomendações do fabricante, incluindo-se determinação das densidades óticas (DOs) com espectrofotômetro utilizando filtro de 450 nm.

Com relação às DOs das amostras do soro, observou-se o preconizado por Ray et al⁶, Blutt et al⁸, Chitambar et al⁹ e Patel et al¹¹, adotando cerca de 20 amostras de fezes e de sangue (soro/plasma) com resultado negativo para RV a fim de estabelecer a validação local do método. Foram definidas como positivas as amostras de sangue cujas DOs mostrassem 2–3 desvios-padrão acima da média da DO obtida nas amostras negativas de sangue.

A pesquisa de antígenos de RV foi realizada nas fezes e no soro dos pacientes. Foram obtidos dados demográficos, sintomas da doença e dados vacinais por meio de entrevista com os pais e/ou consulta ao prontuário médico local.

Os dados coletados foram comparados entre os grupos com e sem antigenemia. A análise dos dados clínicos foi realizada adotando-se o escore universal de Ruuska e Vesikari¹², sendo a intensidade classificada em moderada, grave e muito grave, ao serem atingidas as pontuações 1–10, ≥ 11 e ≥ 15 , respectivamente.

Para a realização das análises estatísticas, foi utilizado o programa BioEstat v5.0. A avaliação das proporções, envolvendo os parâmetros citados e a presença de antígeno viral nas fezes e/ou soro, compreendeu análise "bivariada", aplicando-se os testes do Qui-quadrado (χ^2), com intervalo de confiança correspondendo a 95%. O nível de significância adotado foi expresso por $p \leq 0,05$ ($\alpha = 5\%$).

RESULTADOS

Foram incluídos no estudo 566 pacientes hospitalizados com GE em um hospital infantil de Belém, dos quais foram coletadas 452 amostras pareadas de fezes e soro. A pesquisa de RV nas fezes (ELISA) revelou-se positiva em 24% (109/452) das amostras testadas (Figura 1).

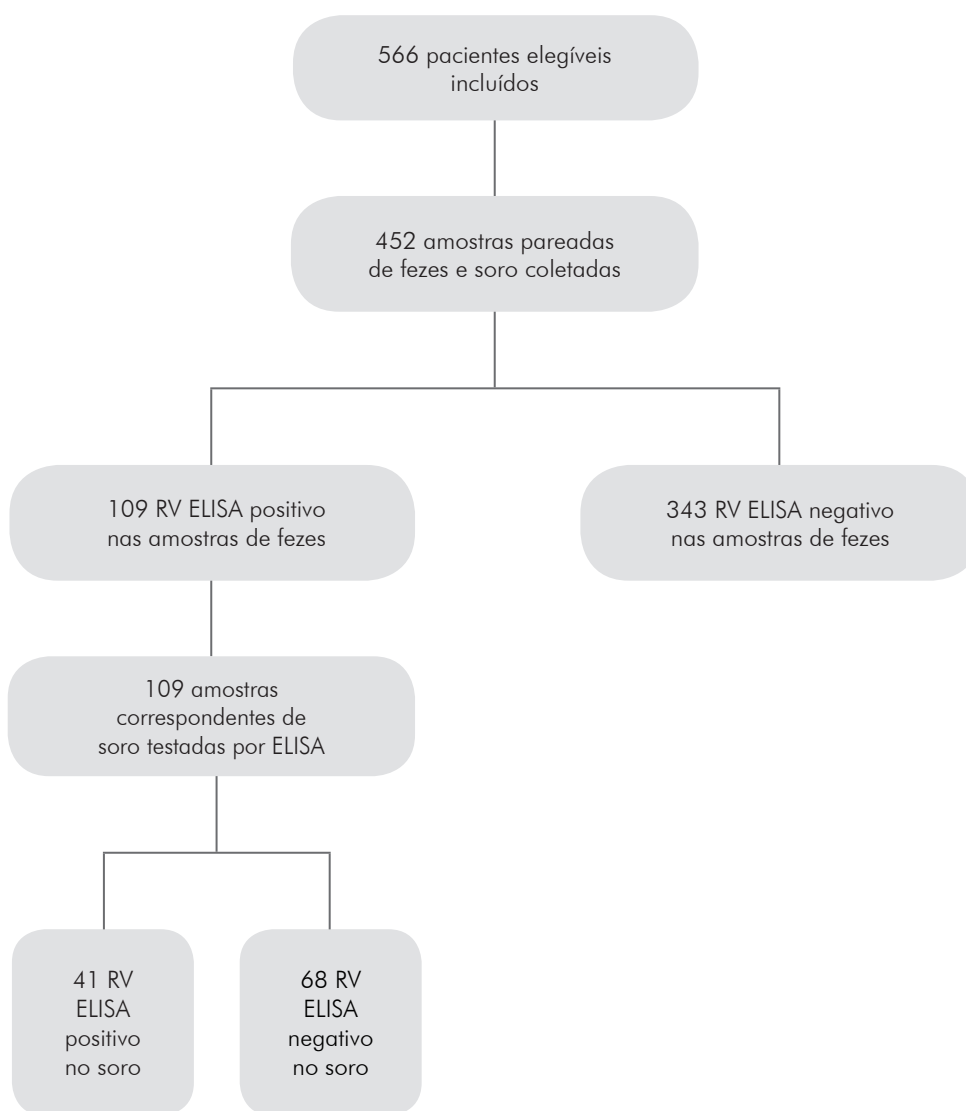


Figura 1 – Fluxograma a partir da entrada de pacientes e amostras biológicas coletadas

A maioria (58%) das crianças cuja amostra de fezes foi positiva para a pesquisa de RV apresentava idade inferior a 2 anos (63/109). O estado vacinal quanto à imunização contra RV estava disponível em 96 pacientes; desses, 84% (81/96) haviam recebido pelo menos uma dose da vacina e 70% receberam o esquema de vacinação completo (duas doses).

A antigenemia foi detectada em 37,5% (41/109) dos pacientes cujas amostras de fezes foram positivas para RV. A intensidade dos sintomas apresentados pelos pacientes, de acordo com o escore de Ruuska e Vesikari¹², foi classificada como muito grave em 70% dos que apresentaram antigenemia e em 55% daqueles sem antígenos de RV circulantes no soro; entretanto, não houve diferença estatisticamente significativa entre ambos os grupos (Tabela 1).

Ao se analisarem os sintomas de GE isoladamente, observou-se diferença quanto ao número de episódios e duração dos vômitos, maiores nos pacientes com antigenemia ($p = 0,015$ e $p = 0,002$, respectivamente) comparativamente àqueles sem

antigenemia e com positividade para RV nas fezes. Não foi observada diferença entre os grupos quanto ao número de episódios e duração da diarreia (Tabela 1).

Em ambos os grupos analisados, 70% dos pacientes apresentaram febre ($\geq 37,5^\circ \text{C}$), porém não foi detectada relação entre antigenemia e a presença de febre.

A duração média da hospitalização foi de cinco dias, tanto no grupo com antigenemia quanto naquele sem antigenemia, e a maioria dos pacientes apresentou contagem de leucócitos/ mm^3 até 10.000 em ambos os grupos (70% e 80%, respectivamente).

Registrou-se que 80% dos participantes da pesquisa não haviam sido hospitalizados anteriormente devido à GE, sendo o episódio atual o primeiro de intensidade grave. O tempo de doença decorrido, entre o início dos sintomas da GE e a coleta de soro, foi em média de 3,4 dias nos pacientes com antigenemia e 2,95 dias naqueles sem antigenemia, não havendo diferença significativa entre os grupos.

Tabela 1 – Análise dos parâmetros clínicos e laboratoriais nos grupos com e sem antigenemia causada por rotavírus em Belém, Pará, no período de 2012 a 2015

Parâmetros clínicos e laboratoriais	Antígenos de RV no soro (ELISA)				Valor de p*
	Positivos		Negativos		
	N	%	N	%	
Leucócitos/mm ³					
≤ 10.000	12	70,7	13	81,0	0,221
> 10.000	29	29,3	55	19,0	
Escore Ruuska e Vesikari ^{†‡}					
≥ 11 (grave)	12	30,0	29	45,3	0,120
≥ 15 (muito grave)	28	70,0	35	54,7	
Temperatura axilar (°C)					
< 37,5	30	73,0	48	70,0	0,772
≥ 37,5	11	27,0	20	30,0	
Número de episódios de vômitos/24 h [§]					
≤ 3	7	17,5	25	40,3	0,015
> 3	33	82,5	37	59,7	
Duração dos vômitos (dias) [§]					
≤ 3	21	52,5	50	80,6	0,002
> 3	19	47,5	12	19,4	
Número de episódios de diarreia/24 h					
≤ 3	22	53,6	37	54,4	0,939
> 3	19	46,4	31	45,6	
Duração da diarreia (dias)					
≤ 3	30	75,0	47	69,0	0,514
> 3	10	25,0	21	31,0	

* Análise de variância, teste Qui-quadrado (χ^2); [†] Escore 20 pontos Ruuska e Vesikari¹², 1990; [‡] Não disponível para cinco pacientes; [§] Não disponível para sete pacientes; ^{||} Não disponível para um paciente.

DISCUSSÃO

No atual contexto, duas vacinas orais contra RV, Rotarix[®] e RotaTeq[®], são comercializadas em diversos países do mundo e, dada a possibilidade de que a antigenemia esteja relacionada à maior gravidade clínica da doença diarreica e à presença de manifestações extraintestinais, faz-se necessário compreender melhor o achado de antigenemia em populações vacinadas.

Desde 2006, a vacina oral contra RV humano (VORH) está disponível no calendário básico de imunização do Brasil, alcançando 83% de cobertura vacinal na Região Norte (2015)¹³. No presente estudo, 84% das crianças receberam pelo menos uma dose da vacina contra RV, 70% receberam duas doses, e não se observou diferença estatisticamente significativa quanto ao estado vacinal entre crianças com e sem antigenemia.

Embora a maioria dos estudos^{6,7,8,9,11,14,15,16,17,18,19} demonstrasse índices de antigenemia mais elevados (entre 50% e 90% dos casos) no soro de crianças com GE aguda, neste estudo a detecção de antígenos de RV no soro ocorreu em 37,5% dos pacientes que também o apresentavam nas fezes, corroborando a hipótese da disseminação dos RV para a corrente sanguínea em crianças com diarreia aguda.

Sabendo-se que a infecção primária causada por RV costuma ser mais grave e que sucessivas infecções promovem imunidade protetora, conferindo

caráter mais brando às infecções subsequentes²⁰, seria razoável postular que a grande proporção de crianças vacinadas incluídas nesta análise possa ter influenciado na frequência com que a antigenemia foi detectada.

A vacinação realizada em fases iniciais da vida (2 a 4 meses de idade) seria responsável pela exposição prévia e precoce aos RV, o que poderia ser um fator protetor contra a antigenemia no presente estudo, uma vez que a maioria das crianças avaliadas não possuía histórico de GE anterior. Tal hipótese é sustentada por achados que demonstraram uma correlação negativa entre antigenemia e títulos de anticorpos específicos de fase aguda contra RV no sangue^{8,14,21}.

Entre outros possíveis determinantes de proteção, acredita-se que os anticorpos presentes no soro, de origem materna ou produzidos a partir de uma exposição anterior, atuariam eventualmente tolhendo uma disseminação hematogênica viral e limitando a infecção ao intestino⁶. Questiona-se, entretanto, se a ligação de anticorpos a antígenos dos RV no sangue seria realmente capaz de prevenir a antigenemia ou apenas influenciaria na habilidade para se detectar o antígeno por ELISA⁸.

Estudos publicados^{6,16,19} relataram maior ocorrência de antigenemia entre crianças menores de 2 anos de idade, corroborando os achados desta pesquisa, cuja maior frequência de antigenemia foi proporcionalmente maior entre os lactentes.

Estudos adicionais em populações vacinadas são necessários e talvez possibilitem uma melhor compreensão do papel exercido por anticorpos séricos frente à antigenemia causada por RV.

Os resultados obtidos neste estudo não detectaram associação entre antigenemia causada por RV e a gravidade clínica de acordo com o escore de Ruuska e Vesikari¹²; entretanto, outros estudos^{16,19} correlacionaram a antigenemia à doença mais grave ao observarem escores de gravidade¹² significativamente mais elevados entre crianças com antígenos de RV no sangue, porém não vacinadas contra esse agente viral.

Por ocasião deste estudo, não se demonstrou qualquer associação estatisticamente significativa entre antigenemia e a maior ocorrência de febre, havendo compatibilidade com os resultados de outros estudos^{15,22}. Entretanto, a significativa associação entre a antigenemia e o maior número de episódios e a duração dos vômitos, por si só, indica maior gravidade clínica, visto que a presença de vômitos repetidos dificulta a terapia de reidratação oral e a alimentação continuada e encontra-se relacionada à maior ocorrência de distúrbios eletrolíticos (particularmente a hipernatremia), levando à maior necessidade de reidratação endovenosa, tratamento intensivo e hospitalização prolongada^{23,24,25,26}.

No tocante à contagem de leucócitos, os resultados indicam que a antigenemia não se correlaciona com eventual incremento da leucocitose ($> 10.000/\text{mm}^3$), fato também observado por Yu et al²².

Nenhuma manifestação extraintestinal foi observada, apesar de todas as crianças incluídas apresentarem GE classificada como grave ou muito grave, sugerindo que o possível comprometimento de outros órgãos e sistemas não estaria acentuado na presença de antigenemia associada à infecção causada por RV^{9,16,22}.

A propósito, nesta análise não houve diferença significativa em relação ao tempo de hospitalização, quando comparadas crianças com e sem antigenemia,

fato que se contrapõe aos achados de Yu et al²², que demonstraram tempo de hospitalização significativamente maior entre crianças com antigenemia. Acrescente-se que todas as crianças avaliadas apresentavam melhora dos sinais e sintomas por ocasião da alta hospitalar.

A presente investigação é pioneira no País, ao avaliar a antigenemia causada por RV no cenário após a introdução da VORH no calendário básico de imunizações; entretanto, estudos, abrangendo análises moleculares nas amostras obtidas, são necessários para um melhor entendimento acerca da patogenia dos RV, especialmente em crianças vacinadas. Nesse contexto, destaque-se a necessidade de avaliar se os genótipos de RV concomitantemente detectados em espécimes fecais e nos soros reservam especificidades equivalentes ou distintas.

CONCLUSÃO

A antigenemia causada por RV é um achado frequente entre crianças hospitalizadas com GE aguda causada por esse agente viral em Belém. Entre os pacientes com antigenemia, foi observado maior número de episódios e duração dos sintomas de vômitos.

AGRADECIMENTOS

Aos técnicos de laboratório da Seção de Virologia do IEC, Sílvia Lucena, Euzeni Menezes e Edvaldo da Penha Júnior; à direção da Clínica Pio XII e ao Laboratório Nossa Senhora de Guadalupe, por sua valiosa contribuição aos resultados deste estudo.

APOIO FINANCEIRO

Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações – MCTIC, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, o qual contribuiu com recursos de financiamento da pesquisa por meio da Chamada Universal – MCTI/CNPq Nº 14/2013 (Processo: 483140/2013-9).

REFERÊNCIAS

- 1 Tate JE, Burton AH, Boschi-Pinto C, Steele AD, Duque J, Parashar UD, et al. 2008 estimate of worldwide rotavirus-associated mortality in children younger than 5 years before the introduction of universal rotavirus vaccination programmes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2012 Feb;12(2):136-41.
- 2 Greemberg HB, Estes MK. Rotaviruses: from pathogenesis to vaccination. *Gastroenterology*. 2009 May;136(6):1939-51.
- 3 Linhares AC, Justino MC. Rotavirus vaccination in Brazil: effectiveness and health impact seven years post-introduction. *Expert Rev Vaccines*. 2014 Jan;13(1):43-57.
- 4 Lanzieri MT, Costa I, Shafi F. The impact of rotavirus vaccination on GE hospitalization among children < 5 years in Brazil. In: 6th World Congress of the World Society for Pediatric Infectious Diseases; 2009 Nov 18-22; Buenos Aires, Argentina, Geneva: WAPID; 2009.
- 5 Costa I, Linhares AC, Cunha MH, Tuboi S, Arguello DF, Justino MC, et al. Sustained decrease in gastroenteritis related deaths and hospitalizations in children less than 5 years of age after the introduction of rotavirus vaccination: a time trend analysis in Brazil (2001-2010). *Pediatr Infect Dis J*. 2016 Jun;35(6):180-90.
- 6 Ray P, Fenaux M, Sharma S, Malik J, Subodh S, Bhatnagar S, et al. Quantitative evaluation of rotaviral antigenemia in children with acute rotaviral diarrhea. *J Infect Dis*. 2006 Sep;194(5):588-93.

- 7 Blutt SE, Kirkwood CD, Kelly VP, Warfield L, Ciarlet M, Estes MK, et al. Rotavirus antigenaemia and viraemia: a common event? *Lancet*. 2003 Nov;362(9394):1445-9.
- 8 Blutt SE, Matson DO, Crawford SE, Staat MA, Azimi P, Bennett BL, et al. Rotavirus antigenemia in children is associated with viremia. *PLoS Med*. 2007 Apr;4(4):e121.
- 9 Chitambar SD, Tatte VS, Dhongde R, Kalrao V. High frequency of rotavirus viremia in children with acute gastroenteritis: discordance of strains detected in stool and sera. *J Med Virol*. 2008 Dec;80(12):2169-76.
- 10 Gray J, Vesikari T, Van Damme P, Giaquinto C, Mrukowicz J, Guarino A, et al. Rotavirus. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2008 May;46:S24-31.
- 11 Patel M, Rench MA, Boom JA, Tate JE, Sahni LC, Hull JA, et al. Detection of rotavirus antigenemia in routinely obtained serum specimens to augment surveillance and vaccine effectiveness evaluations. *Pediatr Infect Dis J*. 2010 Sep;29(9):836-9.
- 12 Ruuska T, Vesikari T. Rotavirus disease in Finnish children: use of numerical scores for clinical severity of diarrhoeal episodes. *Scand J Infect Dis*. 1990;22(3):259-67.
- 13 Ministério da Saúde (BR). Departamento de Informática do SUS. Programa Nacional de Imunizações, cobertura vacinal 2015 [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2016 [citado 2016 mai 25]. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defthtm.exe?pni/cnv/cpniuf.def>.
- 14 Ray P, Fenaux M, Sharma S, Malik J, Subodh S, Bhatnagar S, et al. Quantitative evaluation of rotaviral antigenemia in children with acute rotaviral diarrhea. *J Infect Dis*. 2006 Sep;194(5):588-93.
- 15 Fujita Y, Liu B, Kohira R, Fuchigami T, Mugishima H, Izumi H, et al. Rotavirus antigenemia and genomia in children with rotavirus gastroenteritis. *Jpn J Infect Dis*. 2010 Mar;3(2):83-6.
- 16 Ramani S, Paul A, Saravanabavan A, Menon VK, Arumugam R, Sowmyanarayanan TV, et al. Rotavirus antigenemia in Indian children with rotavirus gastroenteritis and asymptomatic infections. *Clin Infect Dis*. 2010 Dec;51(11):1284-9.
- 17 Sugata K, Taniguchi K, Yui A, Miyake F, Suga S, Asano W, et al. Analysis of rotavirus antigenemia and extraintestinal manifestations in children with rotavirus gastroenteritis. *Pediatrics*. 2008 Aug;122(2):392-7.
- 18 Ahmed K, Bozdayi G, Mitui MT, Ahmed S, Kabir L, Buket D, et al. Circulating rotaviral RNA in children with rotavirus antigenemia. *J Negat Results Biomed*. 2013 Feb;12(5):1-8.
- 19 Hemming M, Huhti L, Rasanen S, Salminen M, Vesikari T. Rotavirus antigenemia in children is associated with more severe clinical manifestations of acute gastroenteritis. *Pediatr Infect Dis J*. 2014 Apr;33(4):366-71.
- 20 Velázquez RF, Matson DO, Guerrero L, Shults J, Pickering JLK, Ruiz-Palacios GM, et al. Serum antibody as a marker of protection against natural rotavirus infection and disease. *J Infect Dis*. 2000 Dec;182(6):1602-9.
- 21 Fisher TK, Ashley D, Kerin T, Reynolds-Hedmann E, Gentsch J, Widdowson MA, et al. Rotavirus antigenemia in patients with acute gastroenteritis. *J Infect Dis*. 2005 Sep;192(5):913-9.
- 22 Yu T, Tsai C, Lai M, Chen C, Chao H, Lin C, et al. Antigenemia and cytokine expression in rotavirus gastroenteritis in children. *J Microbiol Immunol Infect*. 2012 Aug;45(4):265-70.
- 23 Johansen K, Hedlund KO, Zwegberg-Wirgart B, Bennet R. Complications attributable to rotavirus-induced diarrhoea in a Swedish paediatric population: report from 11-year surveillance. *Scand J Infect Dis*. 2008;40(11-12):958-64.
- 24 Wildi-Runge S, Allemann S, Schaad UB, Heininger U. A 4-year study on clinical characteristics of children hospitalized with rotavirus gastroenteritis. *Eur J Pediatr*. 2009 Nov;168(11):1343-8.
- 25 Le Saux N, Bettinger JA, Halperin SA, Vaudry W, Scheifele DW. Substantial morbidity for hospitalized children with community-acquired rotavirus infections: 2005-2007 IMPACT surveillance in Canadian hospitals. *Pediatr Infect Dis J*. 2010 Sep;29(9):879-82.
- 26 Kaiser P, Borte M, Zimmer KP, Huppertz HI. Complications in hospitalized children with acute gastroenteritis caused by rotavirus: a retrospective analysis. *Eur J Pediatr*. 2012 Feb;171(2):337-45.

Recebido em / Received: 25/5/2016
Aceito em / Accepted: 18/8/2016