

A study on the prevalence of rotavirus infection among the HIV-positive patients with gastroenteritis

Pouriayevali MH¹, Zavvar M¹, Aghasadeghi MR¹, Sadat SM^{1*}, Azizi-Saraji AR¹, Javadi F¹, Sadraraei J², Mostafavi E³, Motevalli F¹, Rahimi P¹, Shafiee Ardestani M¹, Akkafzadeh E⁴

1- Department of Hepatitis and AIDS, Pasteur Institute of Iran, Tehran, I. R. Iran.

2- Department of Parasitology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, I. R. Iran.

3- Department of Epidemiology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, I. R. Iran.

4- D.D.S Student, Faculty of Dentistry, Islamic Azad University, Khorasgan (Isfahan) Branch, Khorasgan, I. R. Iran.

Received November 30, 2012; Accepted May 8, 2013

Abstract:

Background: Gastroenteritis is one of the most common symptoms in AIDS patients. Although gastroenteritis in these patients is caused by several factors, the role of viral agents, especially rotavirus, is still unknown. The aim of this study was to evaluate the prevalence of rotavirus infection among the HIV-positive cases.

Materials and Methods: In this cross-sectional study, 75 fecal samples were collected from HIV-positive patients with gastroenteritis referred to Imam Khomeini hospital. After viral RNA extraction, the sixth conserved segment of the virus genome (VP6) was amplified using RT-PCR method. Finally, the products were detected on 1.5% agarose gel electrophoresis and confirmed by sequencing.

Results: RT-PCR products with the expected size (433bp) were obtained for all rotavirus-positive as well as the wild-type standard viral isolates. Among the samples taken from 75 HIV-positive cases, 19 (25.3%) were rotavirus-positive and confirmed using direct sequencing.

Conclusion: Although in this study the anticipated prevalence of rotavirus among the HIV-positive cases is about 25%, further studies are required to characterize the genotype of rotavirus in HIV- positive cases with gastroenteritis.

Keywords: Rotavirus, HIV, Gastroenteritis

* Corresponding Author.

Email: mehdi_sadat@pasteur.ac.ir

Tel: 0098 21 6696 9291

Fax: 0098 21 6696 9291

Conflict of Interests: *No*

Feyz, *Journal of Kashan University of Medical Sciences* July, 2013; Vol. 17, No 3, Pages 294-299

Please cite this article as: Pouriayevali MH, Zavvar M, Aghasadeghi MR, Sadat SM, Azizi-Saraji AR, Javadi F, et al. A study on the prevalence of rotavirus infection among the HIV-positive patients with gastroenteritis. *Feyz* 2013; 17(3): 294-9.

بررسی شیوع روتاویروس در بیماران HIV مثبت دارای گاستروانتریت

محمد حسن پوریای ولی^۱، مهدی زوار^۱، محمدرضا آقاصادقی^۲، سید مهدی سادات^{۳*}، علیرضا عزیزی سراجی^۴، فوزیه جوادی^۱، جاوید صدرایی^۵، احسان مصطفوی^۶، فاطمه متولی^۱، پونه رحیمی^۳، مهدی شفیعی اردستانی^۳، الهه عکاف زاده^۷

خلاصه:

سابقه و هدف: گاستروانتریت یکی از معمول‌ترین تظاهرات در بیماران مبتلا به ایدز می‌باشد. اگرچه گاستروانتریت در این بیماران توسط عوامل متعددی ایجاد می‌شود، لیکن در این بین نقش عوامل ویروسی به‌خصوص روتاویروس هنوز مشخص نیست. هدف از این مطالعه، بررسی میزان شیوع روتاویروس در افراد HIV مثبت می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی ۷۵ نمونه مدفوع از بیماران HIV مثبت مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی که از گاستروانتریت رنج می‌بردند، جمع‌آوری شد. پس از استخراج RNA ویروسی، ششمین ناحیه محافظت شده ژنوم ویروس (VP6) با روش RT-PCR تکثیر شد. در نهایت محصول واکنش به‌وسیله الکتروفورز روی ژل ۱/۵ درصد آگارز شناسایی شده و با تعیین توالی تأیید شد.

نتایج: محصولات RT-PCR با اندازه مورد انتظار (۴۳۳ bp) برای تمامی نمونه‌های مثبت روتاویروس و نیز سویه‌های ویروس استاندارد وحشی به‌دست آمدند. از میان ۷۵ فرد آلوده به HIV، در مجموع ۱۹ (۲۵/۳ درصد) نمونه مثبت بودند و با توالی یابی مستقیم تأیید شدند. **نتیجه‌گیری:** اگرچه در این مطالعه فراوانی روتاویروس در بیماران HIV مثبت در حدود ۲۵ درصد به‌دست آمده است، اما مطالعات بیشتری برای مشخص کردن ژنوتیپ روتاویروس در بیماران HIV مثبت دارای گاستروانتریت مورد نیاز است.

واژگان کلیدی: روتاویروس، HIV، گاستروانتریت

دو ماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره هفدهم، شماره ۳، مرداد و شهریور ۱۳۹۲، صفحات ۲۹۹-۲۹۴

مقدمه

با وجود تلاش‌های جهانی و پیشرفت‌های به‌دست آمده در زمینه پیشگیری، درمان و کنترل سندرم نقص ایمنی اکتسابی (AIDS)، میزان افراد آلوده با ویروس نقص ایمنی انسانی (HIV) و به‌دنبال آن مرگ و میر این بیماران در حال افزایش است [۱]. برطبق جدیدترین آمارهای سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۱۱ حدود ۳۵ میلیون نفر با HIV آلوده شده که اکثر این بیماران متعلق به کشورهای آفریقایی و کشورهای در حال توسعه می‌باشد [۲]. بین بیماران HIV مثبت، گاستروانتریت یکی از شایع‌ترین ناراحتی‌های گوارشی است که خود طیف وسیعی از علائم را ایجاد می‌کند.

در در بین این علائم بیشترین شکایت مربوط به اسهال می‌باشد که به‌ترتیب در بیش از ۵۰ و ۹۰ درصد از بیماران HIV مثبت در کشورهای توسعه یافته و در کشورهای در حال توسعه دیده می‌شود [۳-۵]. هر چند علائم گوارشی در افراد HIV مثبت می‌تواند ناشی از عملکرد پاتولوژیک HIV در این بیماران باشد [۶]. اما تحقیقات جدید نشان داده است که بسیاری از این علائم گوارشی ناشی از پاتوژن‌های کلاسیک و انواع عوامل فرصت طلب است [۷-۹]. انگل‌ها و باکتری‌های شناسایی شده مرتبط با اسهال در این بیماران شامل استرین‌های کریپتوسپوریدیوم، میکروسپوریدیوم، سالمونلا، کمپیلوباکترژوژنی و سویه‌های غیر معمول مایکوباکتریوم می‌باشد [۱۰]. علی‌رغم این مطلب میزان ردیابی عوامل ویروسی در این بیماران به‌مراتب بالاتر از انگل‌ها و باکتری‌ها بوده به‌همین دلیل امروزه ویروس‌های ایجاد کننده گاستروانتریت بسیار مورد توجه قرار گرفته است [۱۱]. روتاویروس مسئول بیش از نیمی از کل اسهال‌های نوزادان در جهان و متعاقب آن میزان بالای مرگ و میر در کشورهای در حال توسعه می‌باشد [۱۲، ۱۳]. به‌طور معمول شدیدترین علائم در طی عفونت اولیه در بین نوزادان و کودکان زیر ۵ سال اتفاق می‌افتد [۱۴]. عفونت مجدد با این ویروس نیز شایع است اما شدت عفونت در آنها به‌مراتب کمتر از عفونت اولیه می‌باشد. با این وجود در افرادی که به نوعی سیستم ایمنی بدنشان

^۱ کارشناس ارشد بخش هیاتیت و ایدز، انستیتو پاستور ایران، تهران

^۲ دانشیار، بخش هیاتیت و ایدز، انستیتو پاستور ایران، تهران

^۳ استادیار، بخش هیاتیت و ایدز، انستیتو پاستور ایران، تهران

^۴ کارشناس بخش هیاتیت و ایدز، انستیتو پاستور ایران، تهران

^۵ استادیار، گروه انگل شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

^۶ استادیار، بخش اپیدمیولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران

^۷ دانشجوی دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان

* نشانی نویسنده مسئول:

بخش هیاتیت و ایدز، انستیتو پاستور ایران، تهران خیابان پاستور

تلفن: ۰۲۱ ۶۶۹۶۹۲۹۱ | دورنویس: ۰۲۱ ۶۶۹۶۹۲۹۱

پست الکترونیک: mehdi_sadat@pasteur.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۰/۱۰ | تاریخ پذیرش نهایی: ۹۲/۲/۱۸

کاهش یافته یا دچار اختلال شده است این ویروس می‌تواند مشکل آفرین باشد از جمله در کهنسالان، بیماران پیوندی و بیماری‌هایی که تحت شیمی درمانی قرار گرفته‌اند و همچنین در بیماران آلوده با HIV به خصوص در بیماری‌هایی که وارد مرحله ایدز شده‌اند [۱۵]. روتاویروس‌ها یکی از اعضای خانواده روتاویروسه می‌باشد که دارای یک کپسید سه لایه و فشرده بوده که به صورت بیست وجهی، ژنوم (dsRNA) دو رشته‌ای و قطعه قطعه ویروس را در بر می‌گیرد [۱۶]. داخلی‌ترین لایه کپسید شامل پروتئین‌های ویروس شماره ۶ (VP6) است که توسط قطعه ششم از ژنوم ویروس بیان می‌شود و دارای اپی‌توپ‌هایی است که بوسیله تست‌های تشخیصی معمول مورد شناسایی قرار می‌گیرد [۱۸، ۱۷]. توالی نوکلئوتیدی این ناحیه بشدت در بین اعضا خانواده ویروس، محافظت شده است. همچنین این پروتئین فراواترین پروتئین ویروس است که نقش مهمی در تعیین زیر گروه‌های A-G دارد در این میان، زیر گروه‌های A-C هم در انسان و هم در حیوانات دیده می‌شود [۲۰-۱۷]. روش‌های تشخیصی متنوعی برای ردیابی این ویروس در مدفوع موجود می‌باشد که از آن جمله می‌توان به تکنیک‌های RT-PCR، الایزا، ژل پلی‌اکریلامید و میکروسکوپ الکترونی اشاره کرد. از نظر میزان حساسیت RT-PCR از حساسیت بالایی برخوردار است و در مطالعات مولکولار اپیدمیولوژی می‌تواند مواردی که در آنها میزان تیر ویروسی پائین است (کمتر از 10^3 پارتیکل ویروسی) به خوبی شناسایی کند [۲۱]. در تحقیق حاضر، بنابر اطلاعات ما برای اولین بار در ایران میزان شیوع عفونت روتاویروسی در بین بیماران HIV مثبت که از گاستروانتریت رنج می‌برند بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های بالینی

این مطالعه بررسی مقطعی (Cross sectional) بر روی بیماران HIV مثبت با علامت گاستروانتریت مراجعه‌کننده (از سراسر کشور در طی سال‌های ۹۰-۱۳۸۹) به بیمارستان امام خمینی تهران صورت گرفته است. تعداد ۷۵ نمونه مدفوع از بیماران به صورت تصادفی، با رضایت آگاهانه و داوطلبانه (بر طبق آئین نامه اخلاق پزشکی انستیتو پاستور ایران) جمع‌آوری شد. هم‌چنین به منظور رعایت اصول ایمنی زیستی و غیر فعال کردن HIV نمونه‌های بالینی با محلول ۲/۵ درصد دی کرومات پتاسیم ($K_2Cr_2O_7$) به نسبت ۱:۱ مخلوط شدند. پس از پر کردن پرسشنامه، نمونه‌ها کد گذاری شده و با حفظ شرایط دمایی به بخش هپاتیت و ایدز انستیتو پاستور منتقل گردید.

آماده سازی نمونه‌های بالینی

استخراج RNA ویروسی از نمونه‌های بالینی:

بدین منظور از کیت تجاری تخلیص RNA از مدفوع (QIAamp Viral RNA Extraction Kit, USA) طبق پروتکل کیت با کمی تغییر استفاده شد. ژنوم ویروس از $140 \mu\text{l}$ از سوپرناتانت کشت سلول برای کنترل مثبت ویروس و یا از سوپانسیون ۱۰ درصد از مدفوع استخراج شد. برای افزایش میزان ژنوم ویروس استخراج شده بافر الوشن (Elution buffer) کیت ابتدا در دمای 80°C درجه سانتی‌گراد گرم نموده و سپس مورد استفاده قرار گرفت و RNA استخراج شده تا زمان انجام آزمایش در شرایط 70°C - درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. هم‌چنین dsRNA ویروسی حاصل از کشت سلولی MA-104 عفونی شده با استرین SA-11 روتاویروسی به عنوان نمونه کنترل مثبت استفاده شد.

انجام تست RT-PCR و ارزیابی محصولات PCR با الکتروفورز بر روی ژل آگاروز:

با توجه به ماهیت دو رشته‌ای ژنوم روتاویروس جهت جدا سازی دو رشته از یکدیگر، میکروتیوپ حاوی RNA استخراج شده به مدت ۵ دقیقه در 95°C درجه سانتی‌گراد قرار داده و پس از آن بلافاصله به ظرف یخ انتقال داده شد. در مرحله بعد، $1 \mu\text{l}$ از ژنوم استخراج شده در حجم نهایی $20 \mu\text{l}$ در میکروتیوپ PCR حاوی 20 pM از پرایمر R2 و 10 pM از پرایمر R1 و ۸ میکرولیتر از Master Mix RT-PCR One Step (Intron, Korea) افزوده و به مدت ۳۰ دقیقه در 50°C درجه سانتی‌گراد سنتز cDNA انجام گرفت و به دنبال آن PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (جدول شماره ۲) با دمای دناتوراسیون اولیه 94°C به مدت ۵ دقیقه آغاز گردید و با انجام ۳۰ سیکل متوالی 95°C به مدت ۴۵ ثانیه، دمای اختصاصی اتصال پرایمر 52°C به مدت ۴۵ ثانیه و 72°C به مدت ۶۰ ثانیه ادامه یافته و در نهایت با انجام مرحله نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای 72°C خاتمه یافت. بعد از اتمام مراحل PCR، محصول نهایی بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت.

توالی یابی

توالی یابی برای $5 \mu\text{l}$ از محصول PCR خالص شده توسط پرایمرهای F و R به صورت دو طرفه توسط شرکت SeqLab آلمان انجام شد.

روی آن در نهایت الکتروفورز محصول انجام شد، در نمونه کنترل مثبت و نمونه‌های مثبت بیماران یک باند 433 bp مربوط به تکثیر قسمتی از ژن VP6 دیده شد، در حالی که در نمونه‌های منفی باندی مینی بر تکثیر این ناحیه دیده نشد. از مجموع ۷۵ نمونه مدفوع جمع-آوری شده از بیماران (۲۵/۳ درصد) ۱۹ مورد از نظر روتاویروس مثبت شدند که این نتایج توسط توالی‌یابی نیز تأیید گردید. از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین جمعیت HIV مثبت با علامت گاستروآنتریت با عفونت روتاویروس مثبت و جمعیت روتاویروس منفی از نظر علائم گاستروآنتریت هم‌چون اسهال، کرامپ شکمی، تهوع و استفراغ و همچنین اطلاعات دموگرافیک شامل سن، جنس، وزن بدن و میزان TCD4 یافت نشد (جدول شماره ۲).

آنالیز آماری

نتایج حاصل از توالی‌یابی مستقیم نمونه‌ها با کمک نرم افزارهای Cluster X و Bioedit با استفاده از توالی ژنوم رفرانس (EMBL/GenBank) ارزیابی شده و همچنین نتایج به-دست آمده با اطلاعات پزشکی بیماران از نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش ۱۶ استفاده شد. برای بررسی ارتباط داده‌های کیفی از آزمون کای مربع و جهت بررسی ارتباط بین بیماری و هر کدام از متغیرهای کمی از آزمون t مستقل استفاده شد. P کمتر از ۰/۰۵ ($P \leq 0/05$) در آنالیزها از نظر آماری معنی‌دار لحاظ شد.

نتایج

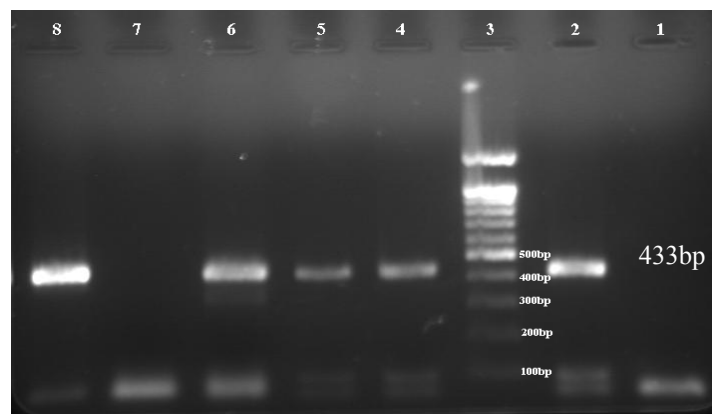
پس از استخراج RNA ویروسی و انجام RT-PCR بر

جدول شماره ۱- توالی پرایمرهای استفاده شده

نام پرایمر	توالی 5'-3'	طول محصول	دمای اتصال	منبع
F-RT	AAGTAGCTGGATTGATTATTC	۴۳۳ bp	۵۲° C	(۲۱)
R-RT	GACTCACAAACTGCAGATTCAA			

جدول شماره ۲- توزیع فراوانی علائم بالینی، سن و جنس مبتلایان به HIV با علامت گاستروآنتریت با/ بدون عفونت روتاویروسی

علائم بالینی	روتاویروس مثبت N=۱۹	روتاویروس منفی N=۵۶	P	Odds Ratio (95% CI)
اسهال	۱۳ (%۶۸/۴)	۴۱ (%۷۳/۲)	۰/۶	۰/۸۲(۰/۲۵-۲/۷)
کرامپ شکمی	۱۱ (%۵۷/۹)	۳۳ (%۵۸/۹)	۰/۸۷	۰/۸۲(۰/۲۷-۲/۵)
تهوع	۴ (%۲۱/۱)	۱۳ (%۲۳/۲)	۰/۸۱	۱/۰۶(۰/۲۷-۴/۱)
استفراغ	۴ (%۲۱/۱)	۱۰ (%۱۷/۸)	۰/۷	۲/۵۷(۰/۵۶-۱۱/۷)
سن	۳۵/۰۵±۸/۸	۳۶/۲±۷/۵	۰/۶۶	۰/۹۸(۰/۹-۱/۰۶)
میزان CD4	۲۲۰/۶±۱۶۴/۳	۲۴۷/۶±۱۳۷	۰/۷	۱(۰/۹۹-۱/۰۰۴)
وزن	۶۳/۷±۲۰	۶۵/۵±۱۲	۰/۳۶	۰/۹۷(۰/۹۳-۱/۰۲)
جنس (مرد)	۷/۸۴/۲	۷/۸۰	۰/۶۸	۰/۹۲(۰/۷۱-۱/۱۸)



شکل شماره ۱- نتایج حاصل از RT-PCR والکتروفورز آگارز بر روی ژل ۱/۵ درصد با استفاده از پرایمرهای اختصاصی. ردیف ۱: کنترل منفی، ردیف ۲: کنترل مثبت، ردیف ۳: مارکر DNA 100 bp (Fermentas)، ردیف ۴ الی ۸: نمونه‌های بالینی.

بحث

میزان در ایران در حدود ۲۵/۳ درصد می‌باشد و این اختلاف در میزان شیوع می‌تواند ناشی از گوناگونی در اقلیم، جغرافیا و شیوع فصلی مناطق مختلف مورد مطالعه و همچنین اختلاف در سطح بهداشتی جامعه، علی‌الخصوص در بین جمعیت HIV مثبت باشد [۲۷،۱]. از طرف دیگر با توجه به معنی‌دار نبودن ارتباط بین عفونت به روتا ویروس و نشانه‌های گاستروانتریت (اسهال، کرامپ شکمی، تهوع و استفراغ) در جمعیت مورد مطالعه ایرانی این طور به نظر می‌رسد که در مواقعی، حضور ویروس در مدفوع به صورت بدون علامت باشد و گاستروانتریت ایجاد شده در این افراد ناشی از دیگر عوامل عفونی است.

نتیجه‌گیری

در مورد نقش روتاویروس‌ها در ایجاد علائم گاسترو-انتریت در افراد HIV مثبت اطلاعات ضد و نقیضی وجود دارد، نتایج این مطالعه به عنوان اولین گزارش از بررسی شیوع روتا ویروس در مدفوع بیماران HIV مثبت ایرانی است که می‌تواند در مدیریت عفونت‌های فرصت طلب، ممانعت از گسترش عفونت‌های بیمارستانی و تعیین یک پروتکل دارویی موثر در جهت مهار هر دو ویروس (HIV و روتاویروس) اهمیت داشته باشد، هرچند مطالعات بیشتری در تأیید نقش روتاویروس در ایجاد گاسترو-انتریت و بررسی ژنوتیپ شایع در این بیماران مورد نیاز می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب شماره ۵۲۳ است که با حمایت مالی انستیتو پاستور ایران در بخش هپاتیت و ایدز به انجام رسیده است. نویسندگان از زحمات کلیه عزیزانی که در جمع‌آوری و انجام طرح همکاری صمیمانه داشته‌اند، تشکر و قدردانی می‌نمایند. نتایج منتشر در این مقاله با هیچ فرد حقیقی و یا حقوقی تضاد منافع ندارد.

References:

- [1] Rossit AR, Gonçalves AC, Franco C, Machado RL. Etiological agents of diarrhea in patients infected by the human immunodeficiency virus-1: a review. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2009; 51(2): 59-65.
- [2] UNAIDS – Global HIV/AIDS Response, Progress Report 2011. Available at: <http://www.unAIDS.org>.
- [3] Smith PD, Quinn TC, Strober W, Janoff EN, Masur H. Gastrointestinal infections in AIDS. *Ann Intern Med* 1992; 116: 63-77.

گاستروانتریت از جمله تظاهرات بالینی شایع در افراد HIV مثبت به‌شمار می‌رود که معمولاً به‌طور مکرر و به‌همراه اسهال، تب و کسالت در این افراد دیده می‌شود [۲۲]. عوامل اتیولوژیک متعددی در ایجاد این علائم شرکت دارند که در این بین نقش عوامل عفونی به‌خصوص ویروس‌های گوارشی بسیار پر اهمیت است [۲۳]. به‌طوری‌که میزان شناسایی حداقل یک عامل ویروسی گوارش در افراد سروپوزیتو HIV در ونزوئلا طیفی از ۶/۴ تا ۵۲ درصد آلودگی را نشان می‌دهد و این میزان در ایالات متحده و آرژانتین از ۲۰ تا ۳۵ درصد گزارش شده است. روتاویروس‌ها در بین ویروس‌های گوارشی بسیار مورد توجه است، زیرا این ویروس به‌عنوان شایع‌ترین عامل ایجاد اسهال شدید و مرگ آور در بین کودکان و نوزادان به‌شمار می‌رود اگرچه در بالغین آلودگی با این ویروس بیشتر به‌صورت بدون علامت است اما در شرایط خاص هم‌چون سوء تغذیه شدید و نقص سیستم ایمنی می‌تواند نگران‌کننده باشد [۱۵]. در مورد نقش روتا ویروس‌ها در ایجاد علائم گاستروانتریت در افراد HIV مثبت اطلاعات ضد و نقیضی وجود دارد، در تحقیقات صورت گرفته در زامبیا، میزان ویروس‌های گوارشی در بیماران آلوده با HIV و افراد سالم تفاوت معنی‌داری نداشته هرچند این نتایج با نتایج حاصل از کشورهای در حال توسعه کمی متفاوت است [۲۴]. Fontana و همکاران در مطالعه خود نشان دادند، که میزان شیوع روتاویروس در مدفوع بیماران HIV مثبت به مراتب بیشتر از افراد سالم می‌باشد [۲۵] و در مطالعه مشابهی که در اسپانیا انجام شد روتاویروس‌ها به عنوان شایع‌ترین عامل انتریک در بیماران HIV شناخته شدند [۲۶]. مطالعات دیگر نتایج متنوعی را از نظر میزان شناسایی روتاویروس در مدفوع بیماران HIV مثبت نشان داد به‌طوری‌که این میزان در انگلستان ۱۸ درصد، در آلمان ۱۳/۶ درصد، در سنگال ۸/۲ درصد و در نواحی شمالی برزیل ۲/۵ درصد گزارش شد نتایج حاصل از مطالعه حاضر نیز نشان می‌دهد این

- [4] Colebunders R, Francis H, Mann JM, Bila KM, Izley L, Kimputu L, et al. Persistent diarrhea, strongly associated with HIV infection in Kinshasa, Zaire. *Am J Gastroenterol* 1987; 82: 859-64.
- [5] Mayer HB, Wanke CA. Diagnostic strategies in HIV-infected patients with diarrhea. *AIDS* 1994; 8(12): 1639-48.
- [6] Nelson JA, Wiley CA, Reynolds-Kohler C, Reese CE, Margaretten W, Levy JA. Human immunodeficiency virus detected in bowel

epithelium from patients with gastrointestinal symptoms. *Lancet* 1988; 1: 259-62.

[7] Guarino A, Bruzzese E, De Marco G, Buccigrossi V. Management of gastrointestinal disorders in children with HIV infection. *Pediatr Drugs* 2004; 6: 347-62.

[8] Giordano MO, Martinez LC, Rinaldi D, Espul C, Martinez N, Isa MB, et al. Diarrhea and Enteric Emerging Viruses in HIV-Infected Patients. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1999; 15(16): 1427-32.

[9] Cimerman S, Cimerman B, Lewi DS. Prevalence of intestinal parasitic infections in patients with acquired immunodeficiency syndrome in Brazil. *Int J Infect Dis* 1999; 3: 203-6.

[10] Smith PD, Quinn TC, Strober W, Janoff EN, Masur H. NIH conference: gastrointestinal infections in AIDS. *Ann Intern Med* 1992; 116: 63-77.

[11] Framm SR, Soave R. Agents of diarrhea. *Med Clin North Am* 1997; 81: 427-47.

[12] Estes MK, Kapikian AZ. Rotaviruses. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields virology*, 5th ed. vol 1. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.

[13] Gray J, Desselberger U. Rotaviruses: methods and protocols, Totowa, NJ, USA Humana Press; 2000.

[14] Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone; 2000. p. 1696-703.

[15] Gassam A, Sow P, Fall F, Camara P, Guèye-N'diaye A, Seng R, et al. Ordinary and Opportunistic Enteropathogens Associated with Diarrhea in Senegalese Adults in Relation to Human Immunodeficiency Virus Serostatus. *Int J Infect Dis* 2001; 5: 192-200.

[16] Estes MK, Palmer EL, Obijeski JF. Rotaviruses: a review. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 1983; 105: 123-84.

[17] Pedley S, Bridger JC, Brown JF, McCrae MA. Molecular characterization of rotaviruses with distinct group antigens. *J Gen Virol* 1983; 64: 2093-101.

[18] Pedley S, Bridger JC, Chasey D, McCrae MA.

Definition of two new groups of atypical rotaviruses. *J Gen Virol* 1986; 67: 131-7.

[19] Saif LJ, Jiang BM. Nongroup A rotaviruses of humans and animals. *Curr Top Microbiol Immunol* 1994; 185: 339-71.

[20] Blutt S, Kirkwood C, Parreño V, Warfield K, Ciarlet M, Estes M, et al. Rotavirus antigenaemia and viraemia: a common event? *Lancet* 2003; 362: 1445-9.

[21] Schwarz BA, Bange R, Vahlenkamp TW, Johne R, Müller H. Detection and quantitation of group A rotaviruses by competitive and real-time reverse transcription-polymerase chain reaction. *J Virol Methods* 2002; 105: 277-85.

[22] Colebunders RL, Latif AS. Natural history and clinical presentation of HIV-1 infection in adults. *AIDS* 1991; 5: 103-12.

[23] Silva R, Benati FJ, Pena GP, Santos N, Raquel C Silva, Fabricio J Benati, Giselle PA Pena, Norma Santos, Molecular characterization of viruses associated with gastrointestinal infection in HIV-positive patients. *Braz J Infect Dis* 2010; 14(6): 549-52.

[24] Oshitani H, Kasolo FC, Mpabalwani M, et al. Association of rotavirus and human immunodeficiency virus infection in children hospitalized with acute diarrhea, Lusaka, Zambia. *J Infect Dis* 1994; 169: 897-900.

[25] Fontana M, Zuin G, Mammino A, Tocalli L, Marchisio P, Principi N. Rotavirus Infection and Diarrhea in Healthy and HIV-infected Children: A Cohort Study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1996; 23(4): 492-6.

[26] Prats G, Llovet T, Munoz C, Sole R, Mirelis B, Izquierdo C, et al. Etiology of enteritis in a university general hospital in Barcelona (1992-1995). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1997; 15: 349-56.

[27] Morillo SG, Luchs A, Cilli A, Carmona RC, Neme SN, Timenetsky MC. Rotavirus genotype G4P[8] and enteric adenovirus in HIV-positive patients with and without diarrhea in São Paulo state, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2010; 104(2): 165-7.