

RITA DE CÁSSIA COMPAGNOLI CARMONA

**DIVERSIDADE GENÉTICA DOS ROTAVÍRUS HUMANOS DETECTADOS EM
PACIENTES COM DIARRÉIA AGUDA NO ESTADO DE SÃO PAULO, NO
PERÍODO DE 1996 A 2006**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção de título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Microbiologia
Orientador: Prof. Dr. Leonardo José Richtzenhain

SÃO PAULO
2010

RESUMO

CARMONA, R. C. C. **Diversidade genética dos rotavírus humanos detectados em pacientes com diarreia aguda no Estado de São Paulo, no período de 1996 a 2006.** 2010. 181 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

O rotavírus é considerado o principal agente etiológico das gastroenterites graves em crianças em todo o mundo. Em março de 2006, uma vacina contra rotavírus (oral, atenuada, monovalente, P[8]G1, Rotarix® GlaxoSmithKline Biologicals) foi introduzida no Brasil no calendário de rotina de imunização infantil. O estudo da diversidade genética dos rotavírus, antes e após a introdução desta vacina pode ser importante para o desenvolvimento de estratégias de vacinação. Um total de 8.961 amostras fecais coletadas de pacientes com diarreia aguda, durante o período de vigilância de 11 anos no Estado de São Paulo (1996-2006) foi testado para rotavírus por ELISA. Destas, 1.784 (20,0%) foram positivas, e posteriormente a caracterização dos rotavírus em genótipos G e P foi realizada em 1.300 amostras por nested RT-PCR. O genótipo G1 de rotavírus foi o mais freqüente, detectado em 35,2% das amostras, seguido do tipo G9 (31,2%), G2 (4,0%), G3 (3,5%), G4 (2,2%), infecção mista (1,8%) e G12 (0,5%). A associação mais freqüente foi a P [8]G1 e P [8] G9. Foi realizada a sequência nucleotídica do gene 9 (VP7) de 38 rotavirus genótipo G1, selecionados de um total de 341 P[8]G1. Duas cepas foram analisadas de cada ano como 1997, 1998, 2001 e 2002, três cepas do ano 1996, 1999 e 2003, quatro cepas em 2000, sete cepas foram em 2004 e 2005, e cinco em 2006. Os 38 rotavírus G1 neste estudo foram classificados em duas linhagens distintas, linhagem G1-I, com 44,7% (17/38) e linhagem G1-II com 55,3% (21/38). A linhagem G1-I foi detectada durante seis anos, 1996-1997, 2001-2002 e 2004-2006, e a linhagem G1-II foi detectada durante os anos de 1998-2001, e 2003-2005. Análises preliminares mostraram que Rotarix® foi eficiente contra estas linhagens G1.

Palavra-chave: Rotavírus. Diarreia. Genótipos. Diversidade genética. Análise Filogenética. Linhagens. Vacina.

ABSTRACT

CARMONA, R. C. C. **Genetic diversity of Human Rotaviruses detected in patients with acute diarrhea in São Paulo, from 1996 to 2006.** 2010. 181 p. Ph D Thesis (Microbiology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

Rotavirus (RV) infections are recognized as a major cause of severe gastroenteritis in children worldwide. In March 2006, a monovalente P[8]G1, human RV vaccine (Rotarix[®] GlaxoSmithKline Biologicals) was introduced in Brazil into the routine childhood immunization schedule. Therefore, the study of genetic diversity among rotavirus strains before and after the introduction of this vaccine may be important for the development of vaccination strategies. A total of 8,961 fecal samples collected from patients with acute diarrhea, during the 11-year period surveillance in São Paulo State (1996 to 2006) were tested for rotavirus by ELISA. One thousand seven hundred eighty-four (1,784, 20.0%) were positive, and the characterization of the G and P genotypes was performed on 1,300 rotavirus samples by nested RT-PCR. The G1 type was the most prevalent rotavirus strain (35.2%). The second most prevalent was the G9 type (31.2%), followed by G2 (4.0%), G3 (3.5%), G4 (2.2%), mix infection (1.8%) and G12 (0.5%). The more frequent association was P[8]G1 and P[8]G9. We performed a sequence analysis of 38 P[8]G1 rotavirus strains, selected from a total of 341 P[8]G1. Two strains from 1997, 1998, 2001, and 2002 were analyzed; three strains from 1996, 1999, and 2003; four strains from 2000; seven strains from 2004, and 2005; and five strains from 2006. All 38 rotavirus G1 sequence in this study were found to be classified into two distinct lineages, lineage I with 44.7% (17/38) and lineage II with 55.3% (21/38). The G1-I lineages were detected during six rotavirus seasons 1996-1997, 2001-2002, and 2004-2006 whereas and lineage G1-II was detected during 1998-2001, and 2003-2005. Preliminary analyses

demonstrated that Rotarix[®] has been efficacious against these G1 lineages.

Keywords: Rotavirus. Diarrhea. Genotypes. Genetic diversity. Phylogenetic Analysis.
Lineages. Vaccine.

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONSIDERAÇÕES

A diarreia aguda é considerada uma doença comum no mundo inteiro, porém nos países em desenvolvimento a doença assume um significado especial, constituindo a principal causa de morbidade e mortalidade em crianças menores de 5 anos de idade (KOSEK; BERN; GUERRANT, 2003). A morbi-mortalidade devido à doença diarreica diminuiu consideravelmente na década de 70 em diversos países. No Brasil, este fato ocorreu em função da implementação gradativa de políticas públicas de saúde, como melhorias no saneamento básico doméstico, abastecimento de água potável, incentivo ao aleitamento materno, e melhora no estado nutricional das crianças. Uma das mais importantes intervenções foi a introdução e utilização crescente da terapia de reidratação oral (TRO). Esta ação de baixo custo representou grande impacto na redução da mortalidade por desidratação causada por diarreia aguda. Entretanto, apesar destas ações, a doença ainda representa uma preocupação e um problema em saúde pública (BLACK; MORRIS; BRYCE, 2003; SASTRY e BURGARD, 2005).

Estima-se a ocorrência de 1 bilhão de episódios de diarreia e aproximadamente de 3 a 5 milhões de mortes anualmente (LINHARES e BREESE, 2000). Também nos países desenvolvidos, a diarreia aguda apresenta taxa de morbidade considerável e um número substancial de hospitalizações em crianças menores de 2 anos de idade (HO et al., 1988; KOSEK et al., 2003; PARASHAR; BRESEE; GLASS, 2003).

A etiologia da diarreia aguda na infância pode estar relacionada com diversos agentes infecciosos como vírus, bactérias e parasitas, ou agentes não infecciosos (CICERELLO e GLASS, 1994). Dentre os agentes infecciosos, os rotavírus (RVs)

são considerados os principais agentes etiológicos da diarreia aguda grave.

1.2 HISTÓRICO

Os primeiros relatos relacionados à participação de agentes virais em doenças diarreicas ocorreram em 1943 por Ligth e Hodes. Os autores induziram a doença diarreica em bezerros jovens, através da inoculação por via oral, utilizando filtrado de fezes de crianças com quadro de diarreia não bacteriana, ocorrido em 1942 durante 4 surtos em berçários de Baltimore e Washington. Depois de 32 anos, as fezes liofilizadas desses animais foram submetidas à microscopia eletrônica direta, ainda sendo observadas partículas típicas de RVs (HODES, 1977). Em 1969, Mebus et al. utilizando a microscopia eletrônica, demonstraram a presença de partículas virais de 70 nanômetros (nm) de diâmetro, em fezes de bezerros com a doença diarreica, e que a mesma poderia ser reproduzida, por meio de inoculações seriadas por via oral.

Até o início da década de 70, as técnicas utilizadas para diagnosticar as diarreias agudas em humanos eram limitadas aos agentes bacterianos e parasitários e a maioria não podia ser identificada (LE BARON et al., 1990).

Finalmente, em 1972, Kapikian et al. utilizando a técnica de imunomicroscopia eletrônica, demonstraram a presença de partículas virais com 27 nanômetros de diâmetro em filtrado de fezes de adultos voluntários, que ingeriram filtrados de fezes diarreicas durante um surto de diarreia não bacteriana ocorrido em Norwalk, Ohio, EUA. Estes vírus foram denominados de vírus Norwalk, que representa um grupo diverso de vírus, atualmente classificado na família *Caliciviridae* (HEDBERG e OSTERHOLM, 1993; WANG et al., 1994; LEVETT et al., 1996; INTERNATIONAL COMMITTEE TAXONOMY OF VIRUSES, 2006).

No ano seguinte, em 1973, Bishop et al. descreveram pela primeira vez a

presença de RVs em humanos, através de cortes ultrafinos de biópsia da mucosa duodenal de crianças com diarreia aguda não bacteriana. Utilizando a microscopia eletrônica, os autores observaram a presença de partículas virais em 6 dos 9 casos estudados e devido à sua morfologia sugeriram tratar-se de um vírus pertencente ao grupo Orbivírus. No mesmo ano, Flewett, Bryden; Davis observaram pela primeira vez por microscopia eletrônica, partículas de vírus diretamente nas fezes de crianças com diarreia aguda. Eram partículas com duplo capsídeo, tornando-as muito semelhantes aos Reovírus. Em 1974, Flewett; Bryden; Davis sugeriram a denominação de Rotavírus, anteriormente denominada de *Reovirus-like*, pois as partículas virais apresentavam morfologias semelhantes a uma roda (latim “rota”), quando observadas ao microscópio eletrônico (Figura 1). Essa denominação, como gênero Rotavírus, viria a ser definida como oficial em 1978 pelo Comitê Internacional de Taxonomia dos Vírus (I.C.T.V.) durante o 4^o Congresso Internacional de Virologia (MATTHEWS et al., 1979).

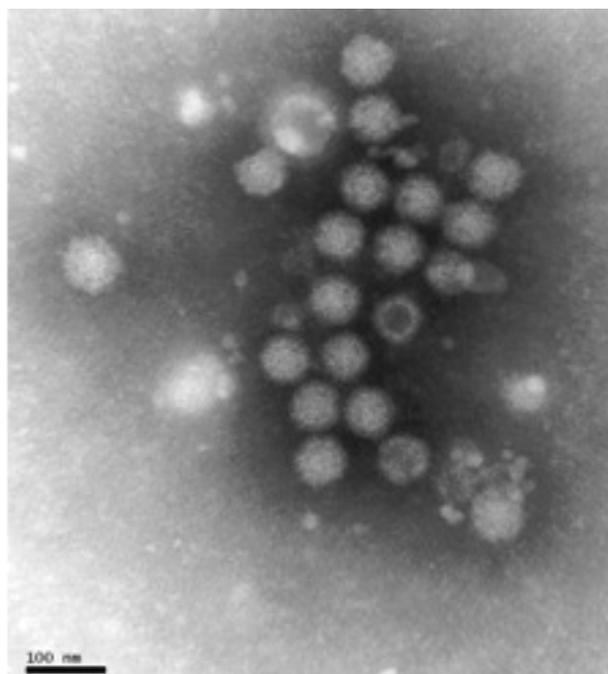


Figura 1. Partícula de rotavírus observada ao microscópio eletrônico JEOL JEM-1011.

FONTE: Foto gentilmente cedida por Dra. Marli Ueda, Seção de Microscopia Eletrônica, Instituto Adolfo Lutz.

Diversos vírus têm sido reconhecidos como agentes etiológicos das doenças diarréicas, porém, somente alguns são considerados de importância epidemiológica além dos rotavírus, como Norovírus e Sapovírus (*Caliciviridae*), Astrovirus (*Astroviridae*) e Adenovírus (*Adenoviridae*) (WILHELMI et al., 2003).

A primeira descrição da ocorrência dos RVs no Brasil foi feita por Linhares et al., (1977). Utilizando a técnica de microscopia eletrônica, os autores demonstraram a presença de partículas de rotavírus nas fezes de 2 de 13 crianças com diarreia aguda admitidas em um Hospital Público na cidade de Belém do Pará. Ao longo dos trinta anos, diversos estudos associados a infecção por esses vírus foram objeto de estudo em nível nacional, integrando um espectro que abrange desde os primeiros achados por microscopia eletrônica até a caracterização molecular das cepas circulantes (LINHARES e BRESSE, 2000).

1.3 PARTÍCULA DOS ROTAVÍRUS

O RV pertence à família *Reoviridae*, gênero *Rotavirus*. A partícula íntegra apresenta aproximadamente 100 nm de diâmetro, um nucleocapsídeo icosaédrico e sem envoltório. Possui uma tripla camada protéica compondo os capsídeos externo, intermediário e interno. O *core* que contém o genoma viral encontra-se na camada mais interna, apresentando um diâmetro aproximado de 37 nm.

O seu genoma é constituído de onze segmentos de RNA de fita dupla (dsRNA). Cada segmento genômico codifica uma proteína viral específica, ou seja, 6 proteínas estruturais, designadas com as iniciais em inglês VP, "Viral Protein" (VP1-VP4, VP6 e VP7); e 6 proteínas não estruturais - NSP, "No Structural Protein" (NSP1-NSP6). São denominadas de monocistrônicas, com exceção do segmento

genômico 11 que codifica duas proteínas, NSP5 e NSP6 (ESTES e KAPIKIAN, 2007; RAMIG, 2004) Figura 2.

A camada mais interna ou o *core* é constituída por 60 dímeros da proteína viral VP2, codificada pelo segmento genômico 2. A VP2 por sua vez interage com as proteínas virais VP1 e VP3, codificadas pelos segmentos genômicos 1 e 3, respectivamente, organizadas na forma de 12 complexos enzimáticos e ligadas diretamente ao genoma viral (PRASAD e CHIU, 1994; SHAW et al., 1993).

A camada intermediária da partícula de rotavírus é constituída por 260 trímeros da proteína VP6, a qual circunda o *core*, codificada pelo segmento genômico 6, representando cerca de 51% do virion (ESTES e KAPIKIAN, 2007).

O capsídeo externo da partícula de rotavírus consiste em 2 proteínas estruturais: VP4 e VP7.

A proteína VP4 é codificada pelo segmento genômico 4, constituindo cerca de 1,5% da proteína total do virion. (KAPIKIAN e ESTES, 2007). A proteína VP4 projeta-se do capsídeo externo da partícula viral em forma de pequenas espículas (SHAW et al., 1993). A proteína está associada a várias funções importantes como: indução na produção de anticorpos neutralizantes; atividade hemaglutinante; restrição do crescimento do rotavírus de origem humana em culturas de células; é o sítio para ativação da infecciosidade por clivagem proteolítica; contém o peptídeo de fusão dos rotavírus; e está associada à virulência. A clivagem proteolítica divide a proteína VP4 em duas subunidades protéicas indicadas com asterisco: VP5* e VP8*. A subunidade VP5* está associada à neutralização heterotípica, enquanto a VP8* está associada à neutralização homotípica (ESTES e KAPIKIAN, 2007).

A proteína VP7, uma glicoproteína, é considerada o principal componente do capsídeo externo da partícula de rotavírus e constituindo cerca de 30% do virion. A proteína é codificada pelos segmentos genômicos 7, 8 ou 9, dependendo da amostra de vírus, apresentando um papel importante na indução de produção de anticorpos neutralizantes (ESTES e COHEN, 1989).

As proteínas NSP1 e NSP4 são codificadas pelos segmentos 5 e 10, respectivamente, as proteínas NSP5 e NSP6 são codificadas pelo segmento genômico 11 e as proteínas NSP3 e NSP2 são codificadas pelos segmentos 7, 8 ou 9, dependendo da amostra de vírus. As proteínas NSP1 -NSP3 e NSP5 parecem apresentar propriedades de ligação a ácidos nucleicos, atividades de replicase e estão envolvidas na replicação do genoma viral (ESTES e COHEN, 1989; ESTES e KAPIKIAN, 2007). A proteína NSP4 foi descrita como sendo uma enterotoxina viral (BALL et al., 1996) (Figura 2).

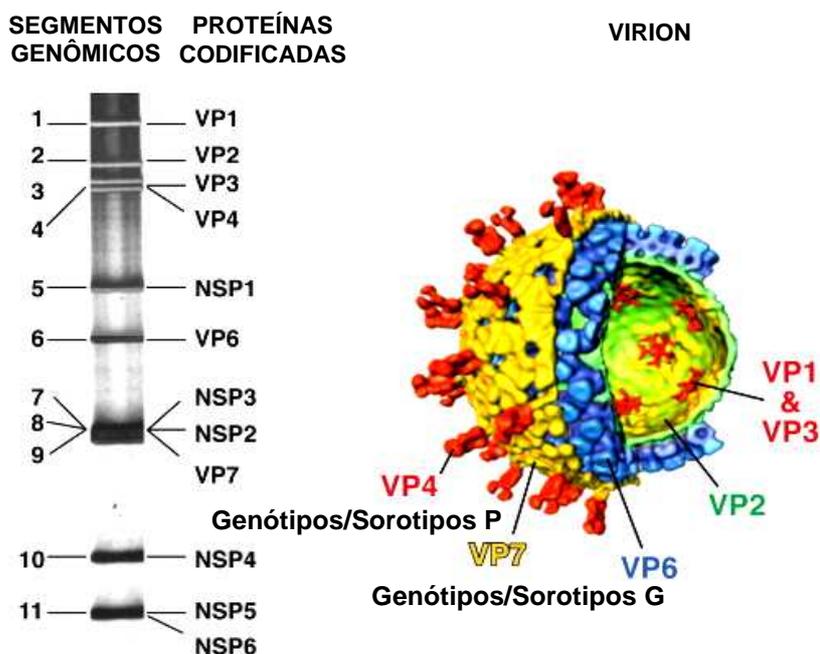


Figura 2. Representação esquemática dos segmentos genômicos e estrutura tridimensional em 3D da partícula viral de Rotavírus-A Símio (SA11).
 FONTE: Adaptado de Desselberger et al. (2009).

1.4 CLASSIFICAÇÃO

Os rotavírus são classificados dentro de três importantes especificidades antigênicas com base no grupo, subgrupo e sorotipo (HOSHINO e KAPIKIAN, 1994a; ESTES e KAPIKIAN, 2007).

A especificidade do grupo é determinada predominantemente pela proteína VP6, classificando o rotavírus sorologicamente em 7 grupos (A - G). Os rotavírus dos grupos A (RVs-A), B e C são encontrados tanto em humanos como em animais e os demais grupos (D - G) são encontrados apenas em animais. As cepas pertencentes aos grupos B, C, D, E, F e G são denominados como RVs do grupo-não A. O RV-A constitui a maioria dos rotavírus e é considerado o principal agente causador das gastroenterites graves em crianças e animais (ESTES e KAPIKIAN, 2007; SANTOS e HOSHINO, 2005).

O rotavírus do grupo B, inicialmente relacionado à diarreia animal, foi implicado como causa de vários surtos de gastroenterites graves ocorridos na China, envolvendo predominantemente adultos e em recém-nascidos e, mais tarde, a quadros diarreicos em adultos na Índia, Bangladesh e Myanmar (KRISHNAN et al., 1999; AHMED et al., 2004; BARMAN et al., 2006; KOBAYASHI et al., 2001; CHEN et al. 1985; FANG et al., 1989; HUNG et al., 1984; AUNG et al., 2009).

O rotavírus do grupo C, do mesmo modo inicialmente relacionado à diarreia em animais tem sido detectado de forma esporádica e surtos em humanos em diversos países (RODGER; BISHOP; HOLMES, 1982; DIMITROV et al., 1983; ESPEJO et al., 1984; ARISTA; GIOVANELLI; TITONE, 1985; SZUCS; KENDE; UJ, 1987; PEÑARANDA et al., 1989; USHIJIMA et al., 1989; JIANG et al., 1995; YEE et al., 2006, SANCHEZ – FAUQUIER et al., 2003; PHAN et al., 2004; STEYER et al., 2006; RAHMAN et al., 2005a, SCHNAGL et al., 2004; CAUL et al.; 1990; CASTELLO

et al., 2002; BÁNYAI et al., 2006); inclusive em algumas regiões no Brasil (PEREIRA et al., 1993; SOUZA et al., 1998; TEIXEIRA et al., 1998; GABBAY et al., 1999, 2008; LUCHS et al., 2009).

A especificidade de subgrupo do RV-A é definida pela proteína VP6, por ensaios imunoenzimáticos utilizando anticorpos monoclonais específicos. Até o momento, quatro subgrupos específicos são descritos: subgrupo I (comum em animais e pouco freqüente em humanos); subgrupo II (comum em humanos e pouco freqüente em animais); subgrupo I e II (pouco freqüente em humanos ou animais) e subgrupo não I não II (pouco freqüente em humanos e animais e comum em aves) (HOSHINO e KAPIKIAN, 1994a). Anteriormente, os subgrupos específicos das amostras de RV-A eram determinados pela análise do genoma viral, utilizando a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida (EGPA). Determinam 2 padrões eletroforéticos distintos de acordo com a mobilidade dos segmentos 10 e 11: “longo” e “curto”. Amostras de rotavírus com padrão eletroforético “longo”, estão freqüentemente associadas ao subgrupo II e amostras com padrão eletroforético “curto”, estão freqüentemente associadas ao subgrupo I (ESTES; GRAHAM; DIMITROV, 1984; ESTES e KAPIKIAN, 2007). Porém, estudos demonstram exceções a estas associações, ou seja, amostras de rotavírus pertencentes ao subgrupo I com um padrão eletroforético “longo” e amostras pertencentes ao subgrupo II com um padrão eletroforético “curto” (HOSHINO e KAPIKIAN 1994b).

A especificidade de sorotipo do RV-A é determinada pelas proteínas VP7 e VP4, que induzem de forma independente a produção de anticorpos neutralizantes (HOSHINO et al., 1985; OFFIT et al., 1985, 1986). Para facilitar a descrição dos rotavírus em sorotipos, sugeriu-se uma terminação binária: para os sorotipos específicos VP7 utiliza-se a letra **G** (por ser uma glicoproteína), para os sorotipos

específicos VP4 utiliza-se a letra **P** (por ser sensível à protease).

O critério estabelecido para se determinar um novo sorotipo VP7 ou VP4 está ligado à demonstração da diferença de 20 vezes ou mais no título de anticorpos neutralizantes entre o sorotipo de referência e o novo sorotipo. Alternativamente, pode-se empregar a análise comparativa da sequência dos aminoácidos dos genes do RNA viral que codificam as proteínas VP7 e VP4, e para que as amostras pertençam ao mesmo genótipo, estas devem apresentar pelo menos 89% ou mais de homologia (HOSHINO e KAPIKIAN, 1994a; ESTES e KAPIKIAN, 2007).

Para definir a especificidade em sorotipos determinada pela proteína VP4 são utilizadas na literatura duas classificações: genótipos P (idealizada por ESTES e COHEN, 1989) e sorotipos P (idealizada por GORZIGLIA et al., 1990). Os sorotipos P e os genótipos P são determinados como descrito anteriormente, porém não há relação entre os resultados obtidos nas duas metodologias utilizadas, tornando difícil a classificação e o seu entendimento, ao contrário dos sorotipos e genótipos G (ESTES e COHEN, 1989). Recomenda-se que os genótipos P sejam colocados entre colchetes seguidos da designação completa do sorotipo P (ex. a amostra padrão humana DS-1 deve ser designada como P1B[4], G2) e para aquelas amostras que não apresentam sorotipo P definido colocar apenas o genótipo entre colchetes (ex. a amostra humana padrão DHAKA6 deve ser designada como P[25] G11).

Com base em testes sorológicos, até o momento foram descritos em humanos e animais 14 P e 14 sorotipos G, e com base na caracterização molecular, pelo menos, 30 P e 21 genótipos G (ABE et al., 2009) Desses, 11 G tipos (G1-G6 e G8-G12) e 12 P tipos (P1 [8], P1B [4], P2A [6], P2C [6], P3 [9], P4 [10], P5A [3], P6

[1], P8 [11], P11 [14], P12 [19] e P [25]) têm sido isolados de seres humanos (MATTHIJNSSENS et al., 2008a).

Como as amostras de rotavírus humanos e animais possuem duas especificidades para sorotipos, sugere-se que a caracterização antigênica completa dos rotavírus inclua tanto a proteína VP7 como a proteína VP4 (HOSHINO et al., 1985), como consta no quadro 1.

Quadro 1 - Classificação genotípica de RVs-A de origem humana com base na proteína VP4.

VP4 Genotipo	VP7 Sorotipo/Genótipo	Cepas de Origem Humana
P[6]	G1	M37
P[8]	G1	Wa, KU, Dhaka 16-03, D
P[9]	G1	K8
P[4]	G2	DS1, TB-Chen, NR1, S2, RV5, RMC/G66, KUN, E210, AU85, AU102.
P[6]	G2	1076
P[3]	G3	PA260/97
P[6]	G3	RV3
P[8]	G3	YO, RMC437, P, Ai-75, CH32, CHW2, MO
P[9]	G3	Au-1, "02-92",
P[14]	G3	B4 106
P[4]	G4	RMC61
P[6]	G4	ST3
P[8]	G4	Hosokawa, RMC 100, Hochi, VA70, Odelia
P[8]	G5	IAL28
P[6]	G6	B1711
P[9]	G6	Se584
P[14]	G6	Hun5, PA169, 11/05-27, B10925-97
P[1]	G8	MP409
P[6]	G8	DRC86
P[8]	G8	DRC88
P[10]	G8	69M
P[6]	G9	US1205
P[8]	G9	WI61, B3458, F45
P[11]	G9	116E
P[19]	G9	RMC321, RMC/G7, Mc323, Mc345
P[11]	G10	I321
P[14]	G10	A64
P[25]	G11	Dhaka6, KTM368
P[4]	G12	L26
P[6]	G12	Dhaka12-06, Matlab13-03, N26-02, RV176-00, RV161-00
P[8]	G12	B4633-03, Dhaka25-02
P[9]	G12	T152

Nota: As amostras de origem humana são indicadas de acordo com o nome dado pelo local aonde foram isoladas as amostras.

FONTE: Adaptado de Matthijnssens et al. (2008a); Estes e Kapikian (2007).

Estudos utilizando técnicas de hibridização classificam os rotavírus dentro de famílias de genes ou genogrupos. Pela análise do número de segmentos genômicos do vírus é possível observar a formação ou não de bandas híbridas estáveis entre as amostras padrões utilizadas. Até o momento 3 genogrupos foram descritos em amostras de rotavírus humanos, são eles: Wa, DS-1 e AU-1 e vários em animais. Estes estudos indicam que a transmissão de rotavírus entre as espécies é provavelmente rara. Entretanto, há relatos que indicam homologia genética entre os genogrupos das espécies animal e humana, sugerindo que a diversidade gênica desses vírus seja devida à ocorrência de um rearranjo genético natural entre as amostras de rotavírus (WARD et al., 1990; NAKAGOMI e NAKAGOMI, 1991).

Recentemente uma nova recomendação tem sido proposta para classificação dos RVs-A, idealizada pelo Grupo de trabalho da Classificação dos Rotavirus em parceria com o Grupo de Estudo *Reoviridae*, do Comitê Internacional de Taxonomia dos Vírus (MATTHIJNSSENS et al., 2008a). Com base na porcentagem de identidade dos nucleotídeos foram definidos diferentes genótipos para todos os 11 segmentos genômicos do vírus, incluindo as proteínas VP1 a VP3, e proteínas NSP1 a NSP3 e NSP5/6 (MATTHIJNSSENS et al., 2008b). O novo sistema de classificação baseia-se na análise comparativa (valor do *cut-off*), da porcentagem de identidade da sequência completa de nucleotídeos da fase aberta de leitura (*open reading frame – ORF*) com outras sequências de cepas padrões disponíveis no GenBank. Portanto a sequência de nucleotídeos da *ORF* de todos os segmentos genômicos de uma cepa de rotavírus deve ser preferencialmente obtida de forma inequívoca, permitindo definir ou classificá-la em um dos genótipos já conhecidos ou em um novo genótipo, como demonstra o

quadro 2.

Quadro 2 - Genótipos dos 11 segmentos genômicos do rotavírus, segundo porcentagem de identidade dos nucleotídeos das ORFs.

Proteína	Porcentagem de Identidade. Valor cut-off (%)	Número de Genótipos descritos	Nome do Genótipo
VP7	80	21G	G licoproteína
VP4	80	30P	Sensível- P rotease
VP6	85	11I	Capsídeo I ntermediário
VP1	83	4R	RNA polimerase R NA - dependente
VP2	84	5C	Proteína do C ore
VP3	81	6M	M etiltransferase
NSP1	79	14A	A ntagonista Interferon
NSP2	85	5N	N TPase
NSP3	85	7T	<i>T</i> ranslation <i>e</i> nchancer
NSP4	85	11E	E nterotoxina
NSP5	91	6H	<i>p</i> H osphoprotein

FONTE: Adaptado de Matthijnssens et al. (2008a).

A provável nova nomenclatura para comparação do genoma completo dos rotavírus foi considerada utilizando as seguintes notações: Gx-P[x]-Ix-Rx-CX-Mx-Ax-Nx-Tx-Ex-Hx usados para os genes das proteínas VP7-VP4-VP6-VP1-VP2-VP3-NSP1-NSP2-NSP3-NSP5/6, respectivamente. No quadro 3 demonstra-se algumas amostras padrões de RV-A com a nova proposta de classificação e nomenclatura.

Quadro 3 - Proposta de classificação e nomenclatura para as proteínas estruturais e não estruturais, codificadas pelos 11 genes de cepas padrões de rotavírus humanos e animais.

Amostra Padrão	Hospedeiro	VP7		VP4		VP6		VP1		VP2		VP3		NSP1		NSP2		NSP3		NSP4		NSP5
Wa	Humano	G1	-	P[8]	-	I1	-	R1	-	C1	-	M1	-	A1	-	N1	-	T1	-	E1	-	H1
Ku	Humano	G1	-	P[8]	-	I1	-	R1	-	C1	-	M1	-	A1	-	N1	-	T1	-	E1	-	H1
Dhaka 16-03	Humano	G1	-	P[8]	-	I1	-	R1	-	C1	-	M1	-	A1	-	N1	-	T1	-	E1	-	H1
D	Humano	G1	-	P[8]	-	I1	-	R1	-	C1	-	M1	-	A1	-	N1	-	T1	-	E1	-	H1
P	Humano	G3	-	P[8]	-	I1	-	R1	-	C1	-	M1	-	A1	-	N1	-	T1	-	E1	-	H1
ST3	Humano	G4	-	P[6]	-	I1	-	R1	-	C1	-	M1	-	A1	-	N1	-	T1	-	E1	-	H1
IAL28	Humano	G5	-	P[8]	-	I1	-	R1	-	C1	-	M1	-	A1	-	N1	-	T1	-	E1	-	H1
WI61	Humano	G9	-	P[8]	-	I1	-	R1	-	C1	-	M1	-	A1	-	N1	-	T1	-	E1	-	H1
B3458	Humano	G9	-	P[8]	-	I1	-	R1	-	C1	-	M1	-	A1	-	N1	-	T1	-	E1	-	H1
RMC321	Humano	G9	-	P[19]	-	I5	-	R1	-	C1	-	M1	-	A1	-	N1	-	T1	-	E1	-	H1
Dhaka12-03	Humano	G12	-	P[6]	-	I1	-	R1	-	C1	-	M1	-	A1	-	N1	-	T1	-	E1	-	H1
Matlab 13-03	Humano	G12	-	P[6]	-	I1	-	R1	-	C1	-	M1	-	A1	-	N1	-	T2	-	E1	-	H1
B4633-03	Humano	G12	-	P[8]	-	I1	-	R1	-	C1	-	M1	-	A1	-	N1	-	T1	-	E1	-	H1
Dhaka25-02	Humano	G12	-	P[8]	-	I1	-	R1	-	C1	-	M1	-	A1	-	N1	-	T1	-	E1	-	H1
DS1	Humano	G2	-	P[4]	-	I2	-	R2	-	C2	-	M2	-	A2	-	N2	-	T2	-	E2	-	H2
TB-Chen	Humano	G2	-	P[4]	-	I2	-	R2	-	C2	-	M2	-	A2	-	N2	-	T2	-	E2	-	H2
B1711	Humano	G6	-	P[6]	-	I2	-	R2	-	C2	-	M2	-	A2	-	N2	-	T2	-	E2	-	H2
DRC86	Humano	G8	-	P[6]	-	I2	-	R2	-	C2	-	M2	-	A2	-	N2	-	T2	-	E2	-	H2
DRC88	Humano	G8	-	P[8]	-	I2	-	R2	-	C2	-	M2	-	A2	-	N2	-	T2	-	E2	-	H2
69M	Humano	G8	-	P[10]	-	I2	-	R2	-	C2	-	M2	-	A2	-	N2	-	T2	-	E2	-	H2
L26	Humano	G12	-	P[4]	-	I2	-	R2	-	C2	-	M1/M2	-	A2	-	N1	-	T2	-	E2	-	H1
N26-02	Humano	G12	-	P[6]	-	I2	-	R2	-	C2	-	M2	-	A2	-	N1	-	T2	-	E6	-	H2
RV176-00	Humano	G12	-	P[6]	-	I2	-	R2	-	C2	-	M2	-	A2	-	N2	-	T2	-	E6	-	H2
RV161-00	Humano	G12	-	P[6]	-	I2	-	R2	-	C2	-	M2	-	A2	-	N2	-	T2	-	E1	-	H2
AU-1	Humano	G3	-	P[9]	-	I3	-	R3	-	C3	-	M3	-	A3	-	N3	-	T3	-	E3	-	H3
T152	Humano	G12	-	P[9]	-	I3	-	R3	-	C3	-	M3	-	A12	-	N3	-	T3	-	E3	-	H6
NCDV-Lincoln	Bovino	G6	-	P[1]	-	I2	-	R2	-	C2	-	M2	-		-	N2	-	T6	-	E2	-	
BRV033	Bovino	G6	-	P[1]	-	I2	-	R2	-	C2	-	M2	-	A3	-	N2	-	T6	-	E2	-	H3
RF	Bovino	G6	-	P[1]	-	I2	-	R2	-	C2	-	M2	-	A3	-	N2	-	T6	-	E2	-	H3
UK	Bovino	G6	-	P[5]	-	I2	-	R2	-	C2	-	M2	-	A3	-	N2	-	T7	-	E2	-	H3
WC3	Bovino	G6	-	P[5]	-	I2	-	R2	-	C2	-	M2	-	A3	-	N2	-	T6	-	E2	-	H3
KJ44	Bovino	G5	-	P[1]	-	I1	-	R1	-	C1	-	M2	-	A1	-	N1	-	T1	-	E1	-	H1
KJ75	Bovino	G5	-	P[5]	-	I1	-	R1	-	C1	-	M2	-	A1	-	N1	-	T1	-	E1	-	H1
A131	Povino	G3	-	P[7]	-	I5	-	R1	-	C2	-	M1	-	A1	-	N1	-	T1	-	E1	-	H1
Gottfried	Povino	G4	-	P[6]	-	I1	-	R1	-	C1	-	M1	-	A8	-	N1	-	T1	-	E1	-	H1
OSU	Povino	G5	-	P[7]	-	I5	-	R1	-	C1	-	M1	-	A1	-	N1	-	T1	-	E1	-	H1
A253	Povino	G5	-	P[7]	-	I5	-	R1	-	C2	-	M1	-	A1	-	N1	-	T1	-	E1	-	H1
YM	Povino	G11	-	P[7]	-	I5	-	R1	-	C1	-	M1	-	A8	-	N1	-	T1	-	E1	-	H1
PO-13	Ave	G18	-	P[17]	-	I4	-	R4	-	C4	-	M4	-	A4	-	N4	-	T4	-	E4	-	H4
SA11g4"O"	Simio	G3	-	P[1]	-	I2	-	R2	-	C5	-	M5	-	A5	-	N5	-	T5	-	E2	-	H5
SA11-5S	Simio	G3	-	P[1]	-	I2	-	R2	-	C5	-	M5	-	A5	-	N5	-	T5	-	E2	-	H5
SA11-30/19	Simio	G3	-	P[1]	-	I2	-	R2	-	C5	-	M5	-	A5	-	N5	-	T5	-	E2	-	H5
SA11-30/1A	Simio	G3	-	P[1]	-	I2	-	R2	-	C5	-	M5	-	A5	-	N5	-	T5	-	E2	-	H5
SA11-H96	Simio	G3	-	P[2]	-	I2	-	R2	-	C5	-	M5	-	A5	-	N5	-	T5	-	E2	-	H5
SA11-Both	Simio	G3	-	P[2]	-	I2	-	R2	-	C5	-	M5	-	A5	-	N2	-	T5	-	E2	-	H5

FONTE: Adaptado de Matthijssens et al. (2008b).

1.5 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

A infectividade do RV e integridade são mantidas quando expostas a ação de fluorocarbono, éter e cloroformio. São estáveis a temperatura de 56 °C e ao pH entre 3 e 9 (KAPIKIAN; HOSHINO; CHANOCK, 2001). Mantem a infectividade por longos períodos a 4 °C ou 20 °C, quando estabilizadas em $C aCl_2$ 1,5mM.

A infectividade do RV pode ser inativada com uso de desinfetantes como fenóis, formalina, cloro e betapropalactona. O etanol a 95% é o desinfetante mais efetivo para os RVs, atuando na remoção do capsídeo externo da partícula viral (KAPIKIAN et al., 2001).

Estudos realizados utilizando o RV em soluções de tampão fosfato têm demonstrado ação eficiente da irradiação por ultravioleta (U.V.) na inativação total da infectividade do vírus. No entanto, a influência da U.V. na presença de material sólido orgânico, como suspensões de fezes ou alimento, não foi avaliada (SMIRNOV et al., 1991).

1.6 ORGANIZAÇÃO DO GENOMA

O genoma do RV-A é constituído de onze segmentos de RNA de fita dupla (dsRNA) e de polaridade positiva. O tamanho dos segmentos varia de 667 pb (segmento 11) a 3302 pb (segmento 1). O genoma total contém aproximadamente 18.552 pb, com peso molecular de $2,0 \times 10^5$ a $2,0 \times 10^6$ daltons (ESTES e KAPIKIAN, 2007).

Como o genoma dos rotavírus é naturalmente segmentado, pode ocorrer rearranjo entre cepas distintas gerando um novo vírus, conhecido como *reassortant*.

Rearranjo é um dos mecanismos importantes para geração da diversidade genética dos rotavírus, bem como para evolução do vírus (RAMIG et al., 1997; ABE et al., 2009).

Os 11 segmentos de várias cepas de rotavírus já foram sequenciados e o primeiro protótipo de rotavírus totalmente sequenciado foi a amostra Símia (SA11). No quadro 4 estão relacionadas todas as funções de cada uma das proteínas codificadas pelo segmento genômico do rotavírus.

Quadro 4 - Segmentos genômicos dos rotavírus e a função das proteínas.

Segmento Genômico Tamanho [pb]	ORFs	Proteína Viral (Protein Function)	Tamanho da proteína aa (Da)	Localização das proteínas na partícula viral	Função das proteínas
1 (3302)	18-3282	VP1 (Pol)	1088 (125005)	Core (capsídeo mais interno)	RNA polimerase RNA-dependente
2 (2690)	17-2659	VP2 (T1)	881 (102431)	Core (capsídeo mais interno)	Ligação do RNA/Formação Nucleocapsídeo
3 (2591)	50-2554	VP3 (Cap)	835 (98120)	Core (capsídeo mais interno)	Guanililtransferase Metiltransferase
4 (2362)	10 -2337	VP4	776 (86782)	Capsídeo externo	Hemaglutinina Antígeno de neutralização em tipos-P (sorotipos)
	-	VP5*	529 247-776 (60000)		Infectividade do vírus pela ação da tripsina clivando a VP4 em VP5* e VP8*
	-	VP8*	247 1-247 (28000)		Ligação das proteínas nas células
5 (1611)	31-1515	NSP1	495 (58654)	Não estrutural	Associado com citoesqueleto. Rica em cisteína Componente do pré core Ligação celular
6 (1356)	24-1214	VP6 (T13)	397 (4816)	Capsídeo intermediário	Principal proteína do virion. Compõe camada intermediária em forma de trímeros Hidrofóbica Determina antígenos de grupo e subgrupo
7 (1105)	26-970	NSP3	315 (34600)	Não estrutural	Ligação RNA, na região 3' do RNAm da partícula viral.
8 (1059)	47-997	NSP2 (VIP)	317 (36700)	Não estrutural	Ligação RNA. Provável participação na replicação RNA.

Continua

Conclusão

Segmento Genômico Tamanho [pb]	ORFs	Proteína Viral (Protein Function)	Tamanho da proteína aa (Da)	Localização das proteínas na partícula viral	Função das proteínas
9 (1062)	49-1026	VP7	326 [7368]	Capsídeo externo	Glicoproteína Antígeno de neutralização em G-tipos (sorotipos). Proteína transmembrana no RER Local de ligação Ca ²⁺ .
10 (751)	41-569	NSP4	175 (20290)	Não estrutural	Enterotoxina Glicoproteína transmembranica do RE Provável participação na morfogênese Local de Ligação Ca ²⁺ .
Segmento Genômico Tamanho [pb]	ORFs	Proteína Viral (Protein Function)	Tamanho da proteína aa (Da)	Localização das proteínas na partícula viral	Função das proteínas
11 (667)	22-615	NSP5	198 (21.725)	Não estrutural	Interage com a VP2, NSP2 e NSP6.
	80-355	NSP6	92 (11012)	Não estrutural I	Produto da segunda região ORF Interage com a NSP5. Localizada em viroplasma].

aa: aminoácido

FONTE: Adaptado de Estes (2001).

Cada segmento de RNA apresenta em sua extremidade 5' uma guanidina, seguido por um conjunto de nucleotídeos de sequências conservadas, não codificadoras, seguido pelo códon de iniciação e por um *ORF*, o qual codifica no mínimo uma proteína. No final de cada segmento há um conjunto de sequências não codificadoras, que por sua vez apresenta um conjunto de sequências conservadas terminais 3' finalizado com uma citidina 3', com um códon de parada. Quase todas as extremidades dos mRNAs com sequência consenso 5'-UGUGACC-3' contêm sinais para a expressão dos genes e replicação. Os comprimentos das sequências não codificadoras 3' e 5' variam para os diferentes genes, e não possuem cauda poliA na extremidade 3'. Todos os segmentos genômicos possuem pelo menos um *ORF* após o primeiro códon de iniciação para síntese protéica (AUG). Todos os segmentos genômicos são monocistrônicos, com exceção do gene 11. Os dsRNA são pareados do

início ao final no sentido positivo e contém uma sequência 5'cap m⁷GppG^(m) GPY (MATTION et al., 1991; ESTES e KAPIKIAN 2007). O empacotamento destes segmentos genômicos no capsídeo requer proteína-RNA interações (KAPAHNKE et al., 1986) (Figura 3).



Figura 3. Representação esquemática da estrutura do gene dos RVs.
 FONTE: Adaptado de Estes (2001).

AUG – Códon de iniciação para síntese protéica
 5' – seqüência intensificadora, extremidade guanidina
 3' – seqüência intensificadora, extremidade citosina

Os segmentos 1, 2, 3, 4, 6 e 9 codificam respectivamente as proteínas VP1, VP2, VP3, VP4, VP6 e VP7, enquanto os segmentos 5, 7, 8 e 10 codificam as proteínas NSP1, NSP3, NSP2 e NSP4, respectivamente e o segmento 11 codifica as proteínas NSP5 e NSP6. A proteína VP7 é codificada pelos segmentos 7, 8 ou 9 dependendo da amostra de RV.

O genoma segmentado do RV-A apresenta um padrão eletroforético de migração, quando este é submetido à eletroforese em gel de poliácridamida. Os onze segmentos são distribuídos em 4 classes, de acordo com sua ordem de migração e peso molecular, são eles: Classe I (segmentos 1, 2, 3 e 4); Classe II (segmentos 5 e 6);

Classe III (segmentos 7, 8 e 9) e Classe IV (segmentos 10 e 11), característicos do RV-A (4:2:3:2). Esses dois últimos segmentos caracterizam os padrões eletroforéticos “longo”, “curto” e “super curto”, de acordo com a maior ou menor velocidade de migração (LOURENÇO et al., 1981; MATSUNO et al., 1985; ESTES, 1996). Os segmentos 7, 8 e 9 apresentam aproximadamente o mesmo peso molecular, formando um *triplet* característico dos RVs-A, diferenciando-os dos outros rotavírus do grupo não A (RVs-não A) (Figura 4).

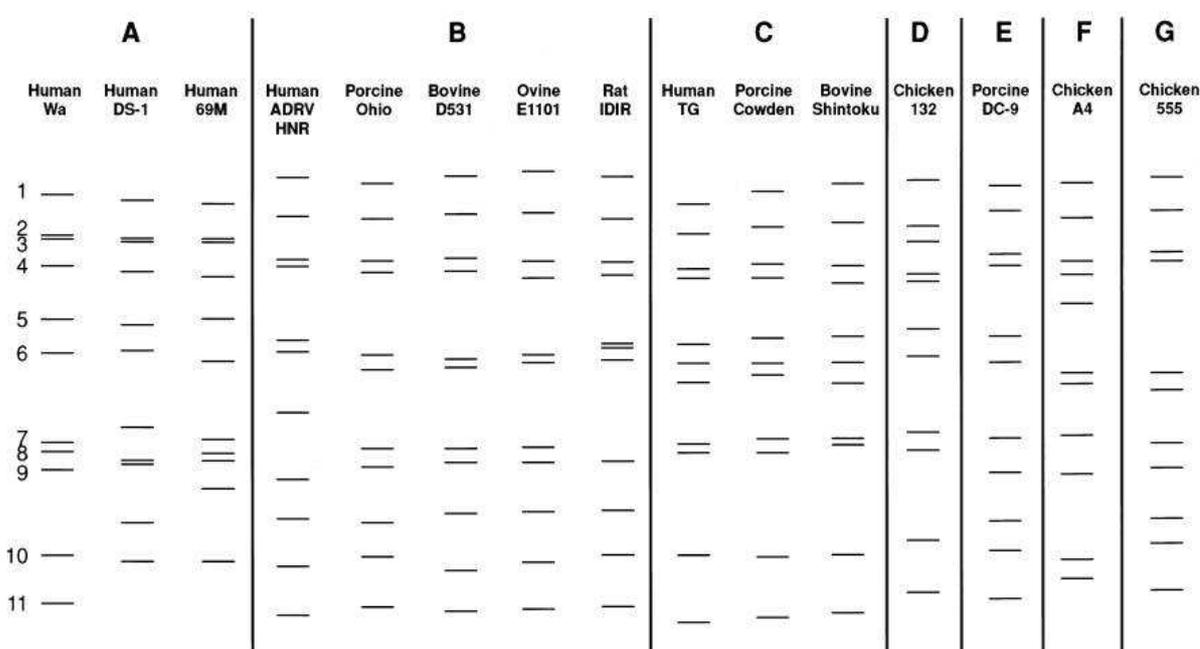


Figura 4. Demonstração esquemática do padrão de migração eletroforética dos segmentos de amostras de rotavírus dos grupos A a G.
 FONTE: Kapikian et al. (2001).

A diversidade de migrações eletroforéticas provavelmente ocorre devido a três diferentes mecanismos de evolução na natureza entre diferentes cepas do RVs em diferentes hospedeiros, como pontos de mutações (*drift*), rearranjos genômicos (*shift*) e reestruturação (*reassortment*) (DESSELBERGER, 1996; TANIGUCHI e URASAWA, 1995;

GOUVEA e BRANTLY 1995).

Provavelmente os rearranjos dos RVs ocorrem em função de erros no processo da transcrição pela RNA polimerase, RNA - dependente de um único segmento do genoma. O produto destes rearranjos genômicos surge provavelmente pela duplicação parcial do *ORF* dos RVs, ou sob a forma de deleção, migrando desta maneira de forma diferente na eletroforese em gel de poliacrilamida. (DESSELBERGER, 1996; DUNN et al., 1993).

Amostras de RVs consideradas não usuais sugerem a ocorrência de rearranjos naturais entre vários tipos de RVs humano ou rearranjos entre amostras de origem humana e animal (GOUVEIA e BRANTLY, 1995). Rearranjos genéticos também podem originar cepas de rotavírus com especificidades para dois sorotipos simultaneamente (TIMENETSKY et al., 1997; CIARLET; HIDALGO; LIPRANDI, 1996; NAGESHA et al., 1990).

1.6.1 Proteínas virais

1.6.1.1 Proteínas estruturais

a) Proteínas do capsídeo interno (*core*)

VP1: Proteína codificada pelo segmento genômico 1 do dsRNA viral, de maior peso molecular com 125 kDa, constituída por 1088 aminoácidos. É uma RNA polimerase. Além de sua função estrutural, participa do complexo enzimático que ativa a replicação dos rotavírus. Liga-se especificamente na extremidade 3' do mRNA com propriedades semelhantes as RNA polimerases. No entanto, para atividade de replicação necessita da proteína VP2 (PATTON et al., 1997).

VP2: Proteína estrutural codificada pelo segmento genômico 2 do dsRNA viral. Possui peso molecular de 102kDa, constituída por 881aminoácidos. Proteína mais abundante do core viral. Estudos demonstram que a VP2 é uma proteína imunogênica, e que os anticorpos para esta proteína sejam indicadores de infecção primária (SVENSSON et al., 1987.) Apresenta uma camada de densidade contínua onde estão as unidades morfológicas de 120 monômeros. É considerada essencial para atividade de replicase junto com a VP1, e sua função na replicação está associada à habilidade de se ligar ao mRNA. Análise com a técnica de crio microscopia eletrônica demonstrou que as proteínas VP1/VP3 estão ligadas a VP2 que por sua vez circunda o genoma do rotavirus. (LAWTON et al., 1997.)

VP3: Proteína estrutural codificada pelo segmento 3 do dsRNA viral, com peso molecular de 98 kDa e 835 aminoácidos. Apresenta atividade de helicase e metiltransferase associada a formação de estrutura da *cap* durante o processo de transcrição do mRNA. É uma guanililtransferase, pois se liga covalentemente a guanosina trifosfato - GTP(LIU; MATTION; ESTES, 1992).

b) Proteínas dos capsídeos interno (camada intermediária) e externo

VP4: Proteína estrutural do capsídeo externo codificada pelo segmento 4 do dsRNA viral, constitui cerca de 1,5% da proteína total do vírion. Proteína não glicosilada, apresentando peso molecular de 87 kDa, com 775 aminoácidos (rotavírus de origem humana) e 776 aminoácidos (rotavírus de origem símia). Estudos utilizando técnica de criomicroscopia eletrônica demonstram que a proteína é representada por 60 estruturas

que projeta em forma de pequenas espículas da superfície do capsídeo viral, cada qual formada por um dímero VP4 (LI et al., 2009; PRASAD et al., 1990; YEAGER et al., 1994).

A proteína está associada a várias funções importantes como: indução na produção de anticorpos neutralizantes sendo responsáveis pela determinação dos sorotipos/genótipos P; atividade hemaglutinante; restrição do crescimento do rotavírus de origem humana em culturas de células; é o sítio para ativação da infecciosidade por clivagem proteolítica; contém o peptídeo de fusão dos rotavírus; e está associada à virulência. A clivagem proteolítica divide a proteína VP4 em duas subunidades protéicas indicadas com asterisco: VP5* e VP8*.

A subunidade VP5* apresenta peso molecular de 60kDa e contém 529 aminoácidos. Está associada com a atividade de neutralização heterotípica e possui os epítomos responsáveis pela adsorção do vírus à célula com uma região variável e outra conservada. Da mesma maneira está associada com a restrição da replicação de certas amostras de RVs em cultura de células e associado à virulência em cepas animais (GREENBERG et al., 1983). Estudos demonstram que a subunidade VP5* induz de maneira mais eficaz a produção de anticorpos neutralizantes, conferindo imunidade protetora em seres humanos e animais, quando comparados com a VP8* (DUNN et al., 1995; OFFIT e BLAVAT, 1985, 1986).

A subunidade VP8* apresenta peso molecular de 28kDa e contém 247 aminoácidos. A maioria dos epítomos está associada às reações tipo-específico e localizada na região hipervariável entre os aminoácidos residuais 71 e 24, e entre os aminoácidos residuais 84 e 180 correlacionados com os tipos P de VP4 (TANIGUCHI, 1989; LARRALDE et al.,

1991).

Também possui três sítios antigênicos responsáveis pela reação cruzada entre diferentes VP4. O peptídeo B, localizado entre os aminoácidos residuais 84 a 180 contendo especificidades para sorotipos e subtipos; peptídeo A entre os aminoácidos residuais 1 a 102 e o C entre os aminoácidos residuais 150 a 246.

VP6: Proteína do capsídeo interno codificada pelo segmento genômico 6 do dsRNA viral, forma a camada intermediária do vírus, que por sua vez circunda o *core*. Apresenta peso molecular de 48kDa e contém 396 aminoácidos. Representa componente estrutural em maior quantidade, aproximadamente 51% do vírion. Desempenha um papel importante na organização geral da partícula viral ao interagir com as proteínas do capsídeo externo VP4 e VP7 e com a proteína do *core*, VP2, integrando a entrada de célula e transcrição endógena (PESAVENTO et al., 2006). É uma proteína hidrofóbica, imunogênica e altamente estável. Apresenta epítomos conservados, alvo para o diagnóstico laboratorial. A VP6 é a base para classificar os rotavírus em sete sorogrupos (A – G). Esta proteína também define a especificidade de subgrupo (SGI, SGII, SGI e II, SG não I e II) do RV-A por anticorpos monoclonais específicos, reconhecida entre os aminoácidos 296 a 259 e 305 (ITURRIZA-GÓMARA et al., 2002).

VP7: Proteína estrutural codificada pelos segmentos genômicos 7, 8 ou 9, dependendo da amostra de RV e principal componente do capsídeo externo. É uma glicoproteína e a segunda mais abundante, constituindo aproximadamente 30% do vírion. Considerada

altamente imunogênica possui importante papel na indução de anticorpos neutralizantes e responsáveis pela determinação de sorotipo-específico G (OFITT e BLAVAT, 1986).

Apresenta um peso molecular de 37 kDa e contém um *ORF* de 326 aminoácidos com dois códons de iniciação. Estes códons são precedidos por dois domínios hidrofóbicos denominados de H1 (entre os aminoácidos residuais 6 e 23) e H2 (entre os aminoácidos residuais 33 e 34) orientando a VP7 para o retículo endoplasmático. Na extremidade 3' do segmento genômico encontra-se um terceiro códon. Contem seis regiões consideradas sorotipo-específico, denominadas de A a F, constituída de aminoácidos altamente conservados entre as cepas do mesmo sorotipo, porém com variações entre cepas de diferentes sorotipos. Através da comparação da sequência deduzida de aminoácidos até o momento foram descritos 9 regiões antigênicas variáveis (VR) VR1 a VR9. As regiões variáveis VR5, VR7 e VR8 correspondem as regiões A, B e C, respectivamente, responsáveis pela codificação dos epítomos neutralizantes. A região A está localizada entre os aminoácidos residuais 87 e 101, a região B entre os aa residuais 143 e 152, e a região C entre os aa residuais 208 e 221, esta última considerada o sítio antigênico mais imunogênico da VP7. (ESTES e KAPIKIAN, 2007). Outras três regiões antigênicas foram descritas como a região D, corresponde ao aa 291; região E corresponde ao aa 190 e região F corresponde a VR9, localizada entre os aa residuais 235 e 242 (TRINH et al., 2007).

1.6.1.2 *Proteínas não estruturais*

O genoma do RV-A codifica outras seis proteínas consideradas não estruturais. Entre estas, cinco proteínas estão envolvidas na replicação do genoma viral (NSP1 a NSP3, NSP5 e NSP6), interagindo com o ácido nucléico e uma está associada à morfogênese viral (NSP4) (ESTES e KAPIKIAN, 2007).

NSP1: Proteína codificada pelo segmento genômico 5 do dsRNA viral, apresenta peso molecular de aproximadamente 58kDa e contém 495 aminoácidos. A proteína tem sido detectada no citoplasma das células infectadas por rotavírus em baixas concentrações nos estágios iniciais da maturação, provavelmente em associação com citoesqueleto (HUA et al., 1994). Provavelmente apresenta atividade na replicação do RNA viral associada ao pré *core* (HUA et al., 1994; PATTON, 1986).

NSP2: Proteína codificada pelos segmentos genômicos 7, 8 ou 9 de dsRNA, dependendo da amostra de RV-A. Apresenta peso molecular de 36 kDa e contém 317 aminoácidos. É uma proteína altamente conservada, expressa em níveis elevados em células infectadas por RV. Possui atividade nucleotídeo trifosfatase (NTPase). É um componente intermediário da replicação, com atividade de replicase, interagindo com a RNA polimerase RNA - dependente (PATTON et al., 2006). Exerce importante papel na replicação genômica e na formação do viroplasma quando associada a VP1, sendo designada como matriz protéica do viroplasma (ESTES e KAPIKIAN, 2007).

NSP3: Proteína codificada pelos segmentos genômicos 7, 8 ou 9 dependendo da

amostra de RV. Apresenta peso molecular de 36 kDa e contém 315 aminoácidos. A proteína está envolvida no reconhecimento específico de RNA viral, facilitando a tradução pela maquinaria celular. Este reconhecimento é realizado pelo fator de inicialização eucariótica (eIF4G) e a mensagem de poliadenilação por uma poli (A). O domínio N-terminal de NSP3 interage com a sequência consenso 3' do mRNA viral, enquanto o domínio C-terminal interage com o eIF4G para facilitar circularização dos mRNAs virais e seu caminho para os ribossomos para a síntese de proteína (PESAVENTO et al., 2006).

NSP4: Proteína codificada pelo segmento genômico 10, apresenta peso molecular de 20 kDa e contém 175 aminoácidos. É considerada uma glicoproteína transmembrana associado ao retículo endoplasmático. Apesar de não estar associada ao RNA viral durante a replicação, apresenta um papel importante na morfogênese viral e da mesma maneira na virulência por apresentar atividade de enterotoxina (BALL et al., 1996).

O NSP4 interage com receptor celular do epitélio intestinal promovendo o aumento de níveis de cálcio e a permeabilidade ao cloreto da membrana plasmática, o que potencializa a secreção de cloreto, induzindo diarreia secretora. (ESTES e KAPIKIAN, 2007; TIAN et al., 1994).

NSP5: Uma das proteínas codificada pelo segmento genômico 11, apresenta peso molecular de 22 kDa contendo 198 aminoácidos. É uma proteína ácida, rica em resíduos de serina e treonina, que formam dímeros. Liga-se eficientemente tanto ao ssRNA quanto ao dsRNA (VENDE; TARAPOREWALA; PATTON., 2002) sofre

fosforilação na célula infectada (WELCH; CRAWFORD; ESTES, 1989). O acúmulo de NSP5 no viroplasma sugere que a proteína esteja envolvida na replicação do genoma e montagem do núcleo. Contudo outras evidências indicam que talvez a sua atividade ligada ao RNA esteja conectada a supressão da ativação dsRNA da resposta antiviral.

NSP6: Proteína codificada pelo *ORF* do segmento genômico 11, apresenta peso molecular de 11 kDa contendo 92 aminoácidos. Considerada a menor proteína dos RV-A. É uma componente do viroplasma interagindo com a NSP5 (PESAVENTO et al., 2006).

1.7 TRANSMISSÃO

A transmissão dos rotavírus ocorre basicamente pela via fecal-oral, pessoa a pessoa e pela ingestão de água e alimentos contaminados (LINHARES et al., 1981; STUMOLLER et al., 1982). A possibilidade de transmissão por via aérea tem sido considerada (KAPIKIAN et al., 2001). A transmissão entre as espécies não tem sido documentada em condições naturais, porém tem sido descrito alto grau de homologia entre amostras de rotavírus animais e humanas, devido a rearranjos genéticos entre as espécies (GOUVEA e BRANTLY, 1995; NAKAGOMI e NAKAGOMI, 1993).

O período de incubação da infecção por rotavírus pode variar de 1 a 3 dias. Em seguida, a manifestação clínica da infecção é caracterizada pela presença de diarreia aquosa e abundante, por um período médio de 3 a 8 dias, podendo levar a desidratação e óbito (ESTES e KAPIKIAN, 2007).

A alta infectividade dos RVs é revelada durante a excreção do vírus na fase

aguda da diarreia, onde apenas 10 partículas se constituem em dose infectante em um trilhão de partículas virais por mililitro de fezes (WARD et al., 1996).

1.8 REPLICAÇÃO E PATOGÊNESE

Os RV-A possuem tropismo pelos interceptos maduros das vilosidades do intestino delgado, especificamente da mucosa do jejuno (LUNDGREN e SVENSSON, 2001). Estas células são infectadas quando as partículas de rotavírus ultrapassam as barreiras de defesa do trato gastrointestinal. A replicação do vírus ocorre principalmente no jejuno, podendo chegar até o íleo. A replicação e a estrutura do vírus são dependentes da concentração de Ca^{2+} no meio. A adsorção dos rotavírus à célula hospedeira é determinada pela proteína VP4, após clivagem em dois domínios VP5* e VP8*, pela ação da tripsina pancreática. O domínio VP5*, ácido-siálico independente, interage na ligação com enterócitos humanos. A penetração da partícula viral na célula é mediada por VP4 e auxiliada pela VP7, processo que envolve receptores contendo ácido siálico e integrinas $\alpha 2\beta 1$, $\alpha v\beta 3$ e $\alpha 4\beta 1$ e pode ocorrer, diretamente através da membrana plasmática do enterócito ou por endocitose. Nesta etapa ocorre o desnudamento, perda do capsídeo externo e em seguida a liberação do cerne no citoplasma celular.

Os *mRNAs* são sintetizados de forma ordenada, inicialmente pelos segmentos menores e posteriormente pelos maiores. As proteínas codificadas pelo genoma viral são sintetizadas em ribossomos livres, ao contrário das proteínas VP7 e NSP4, que são sintetizadas em ribossomos ligados ao retículo endoplasmático rugoso (RER). A montagem das partículas de duplo capsídeo (*core* viral e VP6) esta associada a

formação de viroplasmas. A maturação final das partículas virais ocorre no interior do RER, na dependência de íons Ca^{2+} . No interior do RER as partículas de dupla camada brotam através da membrana adquirindo a tripla camada. Durante esse processo ocorrem interações específicas entre as proteínas VP4, VP6, VP7 e NSP4, sendo transitoriamente envelopadas. As partículas recebem o capsídeo externo (VP4 e VP7), antes ou após o brotamento a partir do retículo endoplasmático. As partículas virais completas perdem o envelope, migram para o citoplasma e em seguida são liberadas após a lise celular, infectando outros enterócitos (ESTES e KAPIKIAN, 2007).

Estudos envolvendo modelos animais demonstram que durante a replicação dos RVs várias alterações ocorrem como: atrofia das vilosidades; hipertrofia das criptas; dilatação mitocondrial e infiltrado da lâmina própria.

Na célula absorptiva, o retículo endoplasmático se torna dilatado e há destruição das microvilosidades; como consequência, as células das criptas migram rapidamente em direção ao topo das vilosidades, produzindo uma redução na atividade das dissacaridases. Isto causa um aumento da osmolaridade, ocasionando uma afluência de líquidos, dando origem a uma diarreia do tipo osmótica. Esta diarreia ocasiona uma diminuição na digestão de açúcares e na absorção de sais minerais e água, fatores estes que caracterizam a gravidade da doença (KAPIKIAN et al., 2001). Entretanto, estudos em modelo animal demonstraram que a doença diarreica também pode ocorrer na ausência de danos celulares, sugerindo outro fator como causa. Estes estudos indicam que a proteína NSP4 foi a responsável pelas alterações patológicas observadas nas células infectadas (BALL et al., 1996). Atualmente, esta proteína

representa um papel importante na indução da doença diarreica, possuindo atividade semelhante às enterotoxinas bacterianas (RAMIG, 2004). A proteína NSP4 interage com receptor celular do eptélio intestinal expressando aumento nos níveis de Ca^{2+} , o que leva ao aumento da permeabilidade da membrana plasmática ao cloreto e de sua secreção; como decorrência induz a diarreia secretora (KAPIKIAN et al., 2001).

Estudos recentes descrevem o provável papel do sistema nervoso entérico, quando ativado na presença da proteína NSP4, como indutor da secreção de fluidos intestinais e eletrólitos (LUNDGREN et al., 2000; LUNDGREN e SVENSSON, 2001; RAMIG, 2004).

1.9 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

As manifestações clínicas mais freqüentes observadas nas infecções por RV são diarreia, febre e vômito. A infecção pode ser assintomática ou causar diarreia de variada intensidade, de moderada a grave levando a desidratação e óbito (LINHARES e BREESE, 2000).

A infecção sintomática geralmente ocorre na faixa etária de 6 a 24 meses, porém pode acometer indivíduo de qualquer idade. Recém nascidos e crianças até os 4 meses de idade raramente apresentam a doença sintomática, em função da proteção conferida pelos anticorpos maternos; por outro lado os prematuros podem apresentar quadro grave com alta letalidade (LINHARES et al., 1989). Em adultos e crianças previamente infectados por RV frequentemente apresentam quadro assintomático ou diarreia com sintomatologia mais branda (KAPIKIAN et al., 2001).

O início do quadro clínico é agudo e os vômitos ocorrem na maioria das

infecções por RV. Cerca de 30% a 50% das crianças apresentam febre de ≥ 39 °C precedida do início da diarreia. As fezes são aquosas, isotônicas e raramente contêm muco, sangue ou leucócitos com número aumentado.

Manifestações clínicas não usuais devido a infecção por RV também têm sido descritas, dentre estas, comprometimento das vias respiratórias, evoluindo a otite e broncopneumonia (ZAHN e MARSHALL, 2006), doença de Kawasaki (MATSUNO; UTAGAWA; SUGIURA, 1983), encefalites (BARNES e BISHOP, 1997), enterocolite (MOGILNER e SHANON, 1983), exantema súbito (SAITOH; MATSUNO; MUKOYAMA, 1981) e intussuscepção (NICOLAS et al., 1982).

Em indivíduos saudáveis, as manifestações clínicas perduram no máximo até 8 dias. As re-infecções por RV são comuns, e isto ocorre devido aos diferentes sorotipos do vírus. A primo-infecção é considerada a mais grave e as subsequentes geralmente mais brandas.

1.10 IMUNIDADE

O mecanismo da resposta imunológica contra as infecções por rotavírus ainda não está totalmente definido. Provavelmente a imunidade seja representada por anticorpos sistêmicos, locais - produzidos na mucosa intestinal, ou mediados por células (ESTES e KAPIKIAN, 2007).

A proteína viral VP6 tem demonstrado o seu potencial imunogênico, na produção de anticorpos secretórios (Imunoglobulinas A - IgA) presentes predominantemente na mucosa do intestino delgado (BURNS et al., 1996).

As proteínas do capsídeo externo da partícula de rotavírus VP4 e VP7 possuem especificidade de sorotipo-específico e são responsáveis pela produção de anticorpos séricos, capazes de neutralizar ação do vírus (OFFIT et al., 1985, 1986; 1993; WARD, 1996). Nas infecções naturais, a proteína VP4 parece ser o principal indutor de imunoglobulinas específicas (WARD, 1996).

A resposta imunológica aos sorotipos de rotavírus possui 2 tipos de componentes: a homotípica, que é sorotipo específica e a heterotípica, ou seja, um sorotipo capaz de induzir a resposta imunológica para mais de um sorotipo, podendo fornecer proteção a outros episódios de diarreia (GERNA et al., 1990; GREEN et al., 1989).

A primo-infecção natural por rotavírus pode conferir proteção contra a forma grave da doença no decorrer de re-infecções subsequentes, sugerindo-se que a imunidade à infecção natural é transitória ou incompleta (BISHOP et al., 1983; VELÁZQUEZ et al., 1996; LINHARES et al., 1989). Na infecção natural sugere-se que a imunidade seja sorotipo-específico e nas demais infecções confira imunidade cruzada. As Imunoglobulinas IgM, IgG, IgA são produzidas tanto na primo-infecção natural como nas infecções subsequentes e são detectadas no soro, saliva e secreções intestinais. Estudos demonstram associação direta dos altos níveis de anticorpos da classe IgA na mucosa intestinal com o nível de proteção contra a infecção por rotavírus e contra a gravidade da doença (BURNS et al., 1996; COULSON et al., 1991).

A imunidade às infecções por rotavírus em neonatos pode ser adquirida passivamente através de anticorpos maternos, administração do leite materno ou colostro. Esta imunidade não confere proteção total contra a infecção; geralmente a

doença é assintomática e parece proteger contra a diarreia grave (MATSUI et al., 1989; ZHENG et al., 1991; NEWBURG et al., 1998).

1.11 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

As manifestações clínicas da infecção ocasionada pelo rotavírus não são específicas e se assemelham às de outros enteropatógenos. Portanto é necessária a confirmação laboratorial, a qual é de grande utilidade para a vigilância epidemiológica e em algumas situações clínicas.

A grande quantidade de vírus excretada durante os primeiros dias da doença (2 - 5 dias) permitiu o desenvolvimento de várias metodologias para a detecção dos rotavírus diretamente das amostras fecais, como a microscopia eletrônica direta (MED) (BISHOP et al., 1973; FLEWETT; BRYDEN; DAVIS, 1973) e técnicas imunológicas como a imunomicroscopia eletrônica (IME) (BRANDT et al., 1981), ensaio imunoenzimático (EIE) (YOLKEN et al., 1978; PEREIRA et al., 1985; DENNEHY; GAUNTLETT; TENDE, 1988), reação de imunofluorescência (YOLKEN et al., 1977; CANDEIAS et al., 1980), radioensaio (KALICA et al., 1977), contraímunoeletroforese (CANDEIAS; ROSENBERG; RÁCZ, 1978), coaglutinação (DURIGON et al., 1991), aglutinação em látex (THOMAS et al., 1994) e imunocromatografia (TOPKAYA et al., 2006). A pesquisa do genoma viral por EGPA além de ser muito utilizada no diagnóstico dos rotavírus, também é aplicada nos estudos epidemiológicos (KALICA et al., 1978; GOUVEA et al., 1990a; LOURENÇO et al., 1981; PEREIRA et al., 1983a,b).

A MED foi a primeira técnica utilizada para a detecção de partículas de rotavírus

pelo exame direto em amostras fecais (FLEWETT; BRYDEN; DAVIS, 1973). A IME apresenta maior especificidade e sensibilidade comparada à MED, pois esta técnica utiliza anticorpos específicos para rotavírus (WU et al., 1990). A MED e IME são ferramentas importantes no diagnóstico dos rotavírus e outros vírus associados à doença diarréica, porém seu uso rotineiro se torna inviável devido à necessidade de técnicos altamente especializados e ao custo elevado do aparelho (DENNEHY et al., 1988).

O EIE é o método imunológico mais utilizado no diagnóstico das gastroenterites por rotavírus, permitindo a detecção direta do antígeno nas fezes. Os vários ensaios disponíveis comercialmente para o diagnóstico dos RV do grupo A, utilizam anticorpos monoclonais ou policlonais direcionados à proteína VP6, proteína do capsídeo interno a qual define antígeno comum de grupo. É um método amplamente utilizado apresentando alta sensibilidade e especificidade, considerado de fácil execução, acessível a laboratórios de rotina e que permite testar inúmeras amostras simultaneamente. Seu emprego em laboratórios clínicos tornou-se viável devido a produção de reagentes específicos em grande escala (YOLKEN et al., 1978; PEREIRA et al., 1985; DENNEHY et al., 1988).

Ensaio imunoenzimático, utilizando anticorpos monoclonais específicos, também são empregados para a detecção dos rotavírus dos grupos B e C (FUJII et al., 1992), porém estes de uso apenas em Instituições de pesquisa. A reação de polimerase em cadeia (*PCR*) tem sido utilizada para a detecção dos rotavírus dos grupos B e C (GOUVEA et al., 1991).

Os métodos de aglutinação em látex e imunocromatografia para detecção dos

RVs-A apresentam sensibilidade pouco inferior quando comparado ao EIE, porém devido a rapidez do teste e fácil execução tem sido amplamente utilizado e recomendado em hospitais e em consultórios pediátrico (WILHELMI et al., 2001; THOMAS et al., 1994).

A EGPA é uma técnica amplamente utilizada para a pesquisa do genoma dos rotavírus, no âmbito da investigação científica. O dsRNA dos rotavírus apresenta 11 segmentos com diferentes perfis eletroforéticos. Esses perfis são determinados com base na velocidade de migração dos segmentos genômicos “10” e “11”, sendo classificados como “curtos”, “longos” e “supercurtos” (TANIGUCHI e URASAWA, 1995). Empregando a EGPA, vários estudos demonstraram a diversidade de perfis eletroforéticos encontrados em amostras de rotavírus (GOUVEA et al., 1990a; LOURENÇO et al., 1981; PEREIRA et al., 1983 a,b; STEWIEN et al., 1994). A análise dos perfis eletroforéticos do genoma dos rotavírus apresenta importante significado epidemiológico, permitindo demonstrar a presença da diversidade de eletroferotipos, de diferentes cepas de rotavírus em diferentes regiões em que circulam e a época do ano, a possibilidade de definir surto de diarreia, modo de transmissão e acompanhar a sua evolução (ESTES et al., 1984; GOUVEA et al., 1990a). Esta técnica também tem sido utilizada para o diagnóstico presuntivo dos rotavírus do grupo não-A, apresentando perfis eletroforéticos distintos. Estes vírus não possuem a trinca de segmentos 7, 8 e 9 na Classe III, que é característica do rotavírus do grupo A (4:2:3:2). Os rotavírus dos grupos B, E e G apresentam o seguinte perfil eletroforético 4:2:2:3, do grupo C, 4:3:2:2 e dos grupos D e F, 5:2:2:2 (LOURENÇO et al., 1981; SAIF e JIANG, 1994).

Para estudos epidemiológicos e investigação científica, a determinação dos RVs-A em sorotipos e subgrupos é realizada por ensaios imunoenzimáticos, com anticorpos monoclonais; e por metodologias moleculares como Transcrição Reversa – Reação em Cadeia pela Polimerase (RT-PCR), para detecção e caracterização dos genótipos.

Recentemente, outras metodologias como RT-PCR ELISA e *Microarray* hibridização foram desenvolvidas com o objetivo de diminuir a frequência de amostras de RVs não tipadas por EIE ou RT-PCR. Ambas as técnicas empregam diversas sondas específicas para os tipos G (VP7) e P (VP4) demonstrando ser altamente sensíveis e específicas (SANTOS et al., 2008; HONMA et al., 2007).

Os RVs podem ser isolados em cultura de células com utilização de linhagens de origem animal e humana como MA104 (rim de macaco rhesus) e CaCo-2 (adenocarcinoma de cólon humano). Entretanto, a propagação do vírus é muito lenta, desta maneira o método não possui valor prático para o diagnóstico e seu uso limita-se a investigação científica.

1.12 EPIDEMIOLOGIA

1.12.1 Distribuição rotavírus

Após a descrição inicial da presença de rotavírus em humanos (BISHOP et al., 1973; FLEWETT; BRYDEN; DAVIS, 1973), vários estudos epidemiológicos têm sido descritos no mundo, demonstrando o impacto da doença diarréica por este vírus (PARASHAR et al., 2006).

Aproximadamente 110 milhões de casos de diarréia a cada ano são atribuídos aos RVs. Estima-se que causa > 500.000 mortes por ano em crianças menores de 5

anos de idade e é responsável por 2 milhões de hospitalizações em todo o mundo, com consequente impacto econômico. Nos países em desenvolvimento, aproximadamente 1.200 crianças morrem diariamente devido à doença, sendo que 82% destas mortes são oriundas de países mais pobres (ESTES e KAPIKIAN, 2007; PARASHAR et al., 2006; GLASS et al., 2006).

Nos Estados Unidos, a doença por RV acomete aproximadamente 3 milhões de crianças menores de cinco anos de idade, e destas, 55 a 70 mil são hospitalizadas, com estimativa de 200 milhões de dólares em gastos hospitalares e aproximadamente 1 bilhão de dólares em gastos sociais (WIDDOWSON et al., 2007; PARASHAR et al., 2006). Na América Latina, África e Ásia, estima-se a ocorrência de 30% a 60% das hospitalizações em crianças menores de 5 anos de idade devido a infecção por RV, e destas aproximadamente 80% das mortes ocorrem na África e Ásia (O'RYAN et al., 2001; STEELE et al., 2003; BRESEE et al., 2004; RHEINGANS et al., 2007).

No Brasil, após três décadas do primeiro relato da ocorrência de rotavírus em casos de diarreia aguda, diversos estudos epidemiológicos e moleculares têm sido realizados. A maioria destes estudos permitiu determinar o impacto da doença ocasionado pelo rotavírus, bem como conhecer a diversidade de genótipos circulantes no nosso meio (LEITE; CARVALHO-COSTA; LINHARES, 2008; SARTORI et al., 2008; LINHARES, 2000; LINHARES et al., 1977). A gravidade da doença diarreica causada por RV tem sido maior no âmbito ambulatorial e hospitalar, quando comparado no comunitário (KAPIKIAN et al., 2001). Aproximadamente 12% a 48% dos rotavírus têm sido associados a casos que necessitam de hospitalização ou atendimento ambulatorial, afetando principalmente crianças abaixo de 2 anos de idade (ANDREASI

et al., 2007; CARVALHO-COSTA et al., 2006; CARNEIRO et al., 2005; LUZ et al., 2005; CARMONA et al., 2004; LINHARES et al., 2000; STEWIEN et al., 1994; PEREIRA et al., 1993).

Infecções assintomáticas por rotavírus têm sido relatadas, porém com pouca frequência. A excreção assintomática desses vírus parece estar mais associada a adultos e crianças maiores de dois anos de idade, que permanecem em comunidades fechadas como creches e hospitais, funcionando como possíveis reservatórios da infecção (TIMENETSKY et al., 1993; LINHARES et al., 1989; KOOPMAN; MONTO; LONGINI, 1989; PICKERING et al., 1988).

Infecção primária assintomática ou clinicamente leve já foi descrita em neonatos, isto provavelmente ocorra devido a transferência passiva de anticorpos maternos. Estas cepas de rotavírus detectadas entre neonatos foram consideradas naturalmente atenuadas, representando possíveis candidatas a vacina contra a doença (CICIRELLO et al., 1994; BHAN et al., 1993; LINHARES et al., 1989).

Linhares et al. (2002) realizaram o primeiro estudo no Brasil demonstrando participação dos rotavírus entre neonatos hospitalizados ocasionando infecções, das quais a maioria desenvolveu infecção nosocomial assintomática.

O rotavírus também apresenta papel importante nas infecções nosocomiais infantil, relatado em inúmeros estudos (GUTIÉRREZ-GIMENO et al., 2010; GLEIZES et al., 2006; CHANDRAN et al., 2006; FISCHER; BRESEE; GLASS, 2004; WIDDOWSON et al., 2000; GAGGERO et al., 1992).

Gusmão et al. (1995) demonstraram a participação dos rotavírus como causa de diarreia nosocomial em crianças internadas em um Hospital Público de Belém, Pará. Os

autores verificaram que, em 40% dos casos, os rotavírus estiveram associados às diarreias adquiridas em ambiente hospitalar.

Da mesma maneira, Moreira et al. (2009) em Salvador, Bahia, avaliaram a participação dos rotavírus em 77 casos de gastroenterites nosocomial identificados, do qual 76,6% dos casos foram positivos.

Geralmente, nos 2 primeiros anos de vida, as crianças já desenvolvem infecções primárias ou secundárias por rotavírus. Portanto, cerca de 80% a 90% das crianças adquirem anticorpos contra os rotavírus até os 3 anos de idade (COX et al., 1998; ISHAK et al., 1984; LINHARES et al., 1983).

Nos adultos, a infecção pelo rotavírus tem sido relatada em surtos epidêmicos e em forma esporádica, algum destes casos ocorrendo de maneira grave (TATTE; GENTSCH; CHITAMBAR, 2010; PODKOLZIN et al., 2009; FEENEY et al., 2006; ANDERSON e WEBER, 2004; RUBILAR-ABREU et al., 2005; WANG et al., 2007; TIMENETSKY et al., 1996).

A variação sazonal dos rotavírus nas infecções diarreicas é bem estabelecida em países de clima temperado, sendo freqüentes durante os meses mais frios. Nos países de clima tropical, porém sua distribuição é relativamente constante durante o decorrer do ano (LINHARES, 2000; BISHOP et al., 1996; COOK et al., 1990; LINHARES et al., 1989).

No Brasil, Pereira et al. (1993) observaram dois panoramas distintos de sazonalidade durante estudo envolvendo estados de diversas regiões do Brasil. A ocorrência da infecção por rotavírus apresentou maior incidência nos meses mais frios e secos, em algumas áreas das regiões sul, sudeste e central do País. Entretanto, nas

demais regiões a ocorrência dos rotavírus foi constante ao longo de todo o ano.

1.12.2 Sorotipos/Genótipos

Atualmente, a distribuição endêmica dos rotavírus e a epidemiologia dos diferentes sorotipos/genótipos circulantes estão bem definidas em diversas regiões do mundo.

Até o momento foram descritos em humanos 11 sorotipos/genótipos G de rotavírus (G1-G6 e G8-G12) e 12 P (P1 [8], P1B [4], P2A [6], P2C [6], P3 [9], P4 [10], P5A [3], P6 [1], P8 [11], P11 [14], P12 [19] e P [25]) (MATTHIJNSSENS et al., 2008a).

Os sorotipos/genótipos G1, G2, G3, G4 e P[8] estão freqüentemente associados à diarreia em humanos, apresentando maior importância epidemiológica, e é com eles que as vacinas foram desenvolvidas (ESTES e KAPIKIAN, 2007).

No Brasil, a primeira caracterização dos rotavírus em sorotipos foi realizada por Linhares et al. (1988). Os autores utilizando de ensaios imunoenzimáticos com anticorpos monoclonais específicos demonstraram que, entre as amostras de rotavírus caracterizadas, 50%, 40%, 3,3% e 16,7% pertenciam aos sorotipos G1, G2, G3 e G4, respectivamente. Stewien et al. (1994) demonstraram na cidade de São Luís, Maranhão, que os sorotipos de rotavírus G3, G1 e G4, mais comumente relacionados às infecções foram encontrados em 41%, 27% e 9%, respectivamente. O sorotipo G2 não foi detectado nas amostras analisadas. Castro et al. (1994) identificaram o sorotipo G1 como causa de um surto ocorrido em uma creche no Rio de Janeiro. Os autores também observaram que no período de 1989 a 1991, antes da ocorrência do surto, somente o sorotipo G2 havia sido identificado nessa mesma creche. Timenetsky et al.

(1996) descreveram um surto de gastroenterite grave ocorrido no Interior do Estado de São Paulo afetando adultos e crianças. O rotavírus foi detectado em 44% das amostras analisadas e, identificado o genótipo G2 como causa do surto.

Tipos de rotavírus considerados não usuais em amostras humanas têm sido descritos em diversos países, incluindo o Brasil (LEITE; CARVALHO-COSTA; LINHARES, 2008; SANTOS e HOSHINO, 2005; GENTSCH et al., 2005; CASTELLO et al., 2004).

Os genótipos G5 (GOUVEA et al., 1994a; CARMONA et al., 2004; LEITE et al., 1996), G6 (MARTINI et al., 2008), G8; G10 (GÓMEZ et al., 2010; VOLATÃO et al., 2006; MASCARENHAS et al., 2002; SANTOS et al., 1998) e G12 (PIETRUCHINSKI et al., 2006) já foram detectados em diversas regiões do Brasil.

O genótipo G5 também foi detectado na Argentina, Paraguai, Republica dos Camarões, do Reino Unido China e Vietnan (SANTOS e HOSHINO, 2005; DUAN et al., 2007; AHMED; ANH; NAKAGOMI, 2007); G6 tem sido detectado na Austrália, Índia, Estados Unidos, Bélgica, e Hungria; G8 tem sido frequentemente detectado na África e esporadicamente em na Ásia e América do Sul; G10 em sido relatado no Reino Unido, Índia, Tailândia e Paraguai (SANTOS e HOSHINO, 2005); G11 foi recentemente detectado em Daka, Bangladesh (RAHMAN et al., 2005b) e Coréia do Sul (HONG et al., 2007); e G12 foi detectado na América do Norte, América do Sul, Ásia e Europa (CASTELLO et al., 2006, 2009; PIETSCH e LIEBERT, 2009; HOSHINO e KAPIKIAN, 2005; CASTELLO et al., 2004).

O genótipo G9 inicialmente considerado um tipo não usual, tem sido identificado com muita freqüência em diversos países, sendo atualmente considerado como o

quinto tipo de rotavírus mais freqüente mundialmente (SANTOS & HOSHINO, 2005; GENTSCH et al., 2005; CASTELLO et al., 2004). No Brasil, este sorotipo foi encontrado pela primeira vez em Belém do Pará (1990-1992), a seguir amplamente detectado em diversos Estados do país (MUNFORD et al., 2009; CARMONA et al., 2006; SANTOS et al., 2005; SOUZA et al., 2003; ARAUJO et al., 2001; SANTOS et al., 2001; LINHARES et al., 1996).

Inúmeros estudos realizados sobre a distribuição dos genótipos P e G de rotavírus demonstram que as associações consideradas usuais P[8]G1, [4]G2, P[8]G3 e P[8]G4 são as mais freqüentes nas infecções em humanos. Representando 90% das infecções na América do Norte, Europa e Austrália. Na América do Sul e Ásia estas associações representam 68% das infecções, América Latina cerca de 80% e na África 50%.(GENTSCH et al., 2005; SANTOS e HOSHINO, 2005; CASTELLO et al., 2004).

No Brasil, estudos realizados sobre a distribuição dos genótipos de RV-A indicam a predominância de 62% de amostras humanas caracterizadas como P[8]G1/P[Não tipadas (NT)]G1; P[4]G2/P[NT]G2; P[8]G3/P[NT]G3 e P[8]G4/P[NT]G4 (Figura 5).

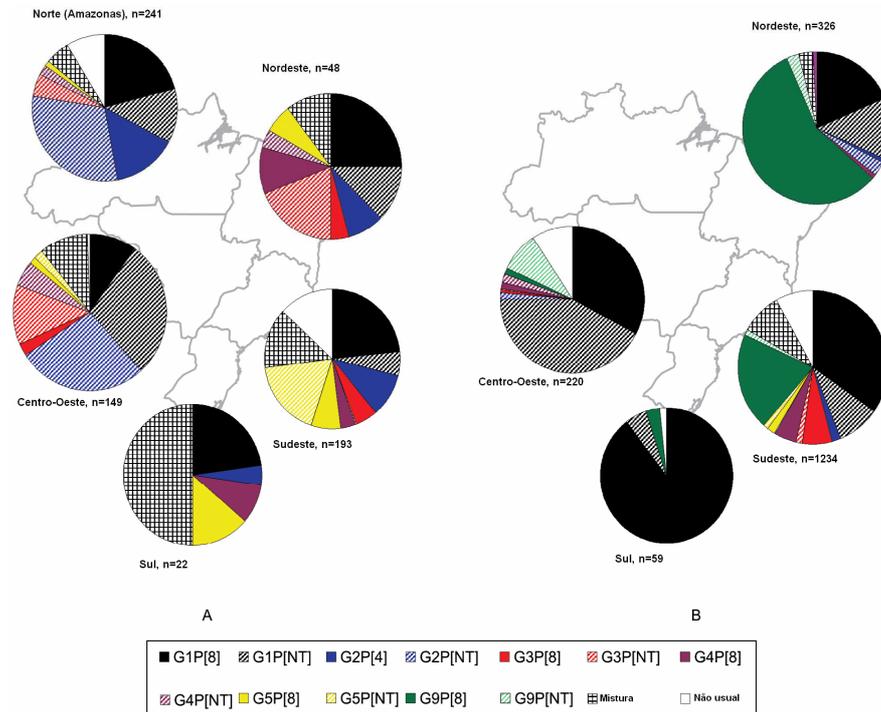


Figura 5. Distribuição dos genótipos de rotavírus no Brasil por região geográfica.
 FONTE: Adaptado de Leite; Carvalho-Costa; Linhares. (2008).

O primeiro estudo de vigilância da associação dos genótipos P e G de rotavírus em casos de gastroenterites agudas foi realizado no Brasil por Timenetsky, Santos; Gouvea (1994). Utilizando a técnica de *PCR*, os autores analisaram 139 amostras de rotavírus isoladas de crianças com gastroenterite aguda no Estado de São Paulo e observaram predominância dos genótipos P[8] (21%) e P[4] (8%). Estes estiveram em associação com os sorotipos G1, G3, G4 e G2, respectivamente. Também foi observada a presença de número grande de amostras P[6], P[3], mistura de genótipos G e P e uma diversidade de genótipos ainda não encontrados em humanos.

Associações de rotavírus P e G não usuais também têm sido detectadas em todo mundo, representando aproximadamente 5% do total das amostras de RV, destes a maioria é detectada nos países da África, América do Sul e Ásia (LEITE; CARVALHO-

COSTA; LINHARES, 2008; GENTSCH et al., 2005; SANTOS e HOSHINO, 2005).

Diversas associações de rotavírus P e G, até então descritas, demonstram a possibilidade da ocorrência de *reassortment* de forma espontânea na natureza entre amostras de diferentes genótipos de RV humanos (ITURRIZA-GÓMARA et al., 2001). Por outro lado, associações consideradas não usuais, também poderiam representar *reassortants* entre amostras de RV de origem humana com animal (DAS et al, 1994); ou até mesmo pela transmissão direta de RV animal para humano, esta última possibilidade classificaria os rotavírus como uma zoonose (BÁNYAI et al., 2009; COOK et al., 2004; PALOMBO, 2002; DUNN, et al., 1993).

As associações P e G não usuais poderiam emergir como resultado de infecções mistas de RV (GOUVEA e BRANTLY, 1995). As infecções mistas por rotavírus têm sido detectadas na América do Sul, Ásia, África, América do Norte, Austrália e Europa, com frequência aproximada de 15%, 12%, 10%, 5%, 2% e 1,8%, respectivamente (SANTOS e HOSHINO, 2005). Nos países em desenvolvimento, a diversidade de tipos incomuns de RV é freqüentemente encontrada, portanto a detecção de infecções mistas é muito elevada (GENTSCH et al., 2005). O impacto destas amostras não usuais na evolução dos RVs ainda não foi determinada, entretanto sabe-se que poderia proporcionar a introdução de um novo tipo P ou G de RV na população humana através do evento de *reassortment* (MAUNULA e VON BONSDORFF, 2002).

1.13 TRATAMENTO, PREVENÇÃO E CONTROLE

O tratamento das doenças diarréicas agudas por rotavírus e outros enteropatógenos associados consiste na reposição das perdas hidroeletrólíticas.

Esforços contínuos têm sido realizados mundialmente para incentivar o uso da TRO nos casos de diarreia aguda moderada e grave. Para esta finalidade, a Organização Mundial da Saúde padronizou os componentes utilizados na solução de reidratação oral (WALKER et al., 2009).

Diversos estudos controlados e metanálises têm demonstrado a utilização de probióticos na redução do tempo da diarreia aguda por RV bem como a sua gravidade. Os efeitos do uso de probióticos também têm sido avaliados em ensaios controlados randomizados para a prevenção da infecção por RV nosocomial ou adquirida na comunidade, em lactentes e crianças jovens (SZAJEWSKA e DZIECHCIARZ, 2010; GUANDALINI et al., 2008; MRUKOWICZ; SZAJEWSKA; VESIKARI, 2008).

Um medicamento recentemente lançado no mercado, denominado nitazoxanida, já esta em utilização para tratamento das diarreias causadas por parasitas e da mesma maneira tem sido indicada para tratamento de rotavírus e norovírus. De acordo com os estudos realizados, o medicamento mostrou ser efetivo na redução do tempo de duração da doença, possuindo atividade anti-viral decorrente de um mecanismo de provável atuação na síntese da proteína viral, inibindo a replicação viral, e podendo reduzir a excreção do vírus. Porém, estudos adicionais são necessários para confirmar a segurança da nitazoxanida e eficácia no tratamento da diarreia por rotavírus (TERAN; TERAN-ESCALERA; VILLARROEL, 2009; ROSSIGNOL; KORBA; KABIL, 2006; LANATA e FRANCO, 2006).

A utilização de imunoglobulinas de origem animal ou humana, com níveis elevados de anticorpos da classe IgA para RV, adquiridos por imunização, tem demonstrado eficácia contra a gravidade da doença diarreica em crianças

imunodeficientes (MRUKOWICZ; SZAJEWSKA; VESIKARI, 2008).

Devido à importância epidemiológica dos rotavírus nas gastroenterites graves, que levam a óbito > de 400 mil crianças menores de 5 anos de idade no mundo inteiro, inúmeros esforços têm sido realizados na elaboração de uma vacina eficaz para o combate efetivo da doença (DENNEHY, 2008).

A primeira vacina de rotavírus foi produzida seguindo os princípios de Edward Jenner, que imunizou com sucesso seres humanos contra a varíola no século XVII, utilizando vírus vivo de origem bovina.

Três vacinas monovalentes, vivas atenuadas de origem animal seguindo o princípio de Jenner foram desenvolvidas. São elas: RIT-4237; WC3 e MU18006. A primeira vacina monovalente testada contra rotavírus era constituída por vírus de origem bovina, denominada RIT-4237. Esta cepa foi derivada de rotavírus de origem bovina (NCDV - "Nebraska Calf Diarrhoea Virus", sorotipo P[1]G6), considerada uma cepa naturalmente atenuada para humanos. Esta vacina proporcionou uma eficiência de 88% na proteção contra a doença em crianças finlandesas de 6 a 12 meses de idade (VESIKARI et al., 1984). Nos países em desenvolvimento, como Peru e Gâmbia, a eficácia desta vacina foi testada, apresentando reduzida imunogenicidade em crianças menores de 6 meses de idade e, em consequência, o seu uso foi interrompido (VESIKARI e JOENSUU, 1996). Outra vacina de origem bovina, WC3 (sorotipo P[5]G6), mostrou ser eficaz na proteção homotípica contra a doença diarréica moderada e grave em crianças de 5 a 11 meses de idade (CLARK et al., 1988). Porém, em outros estudos, a vacina mostrou eficiência reduzida (MIDTHUN e KAPIKIAN, 1996). A vacina MMU 18006 (RVV, sorotipo P[3]G3), originária de rotavírus símia, mostrou ser segura e

imunogênica em crianças de 2 a 5 meses de idade. Porém, 3 a 4 dias após a vacinação, 30% destas crianças desenvolveram reações adversas. Esta vacina desenvolveu proteção contra a cepa homotípica de rotavírus (sorotipo G3) e não proteção heterotípica. Durante o período de estudo circulava o sorotipo G1 na comunidade. Estes estudos demonstraram resultados variáveis, e por esta razão, constatou-se a necessidade da elaboração de uma vacina que protegesse contra os quatro sorotipos de RV considerados mais importantes epidemiologicamente para o homem.

A partir daí foram desenvolvidas vacinas derivadas de rearranjos genéticos (*reassortants*) entre amostras de rotavírus animais e humanas.

Como os rotavírus animais são cultiváveis em linhagens contínuas celulares e apresentam baixo potencial patogênico, foi feito rearranjo genético (*reassortants*) *in vitro* entre cepas de rotavírus origem símia (RRV), sorotipo G3 e de origem humanas (HRV): D (sorotipo G1) X RRV, DS-1 (sorotipo G2) X RRV, e ST3 (sorotipo G4) X RRV. Todos os segmentos são derivados da cepa símia RRV, menos o segmento 9 que codifica a proteína VP7 derivada das amostras de rotavírus humanas. A vacina RRV-TV contém a amostra símia RRV, sorotipo G3, e os *reassortants* para os sorotipos G1, G2 e G4 (HOSHINO e KAPIKIAN, 1994b; KAPIKIAN et al., 1996) (Figura 6).

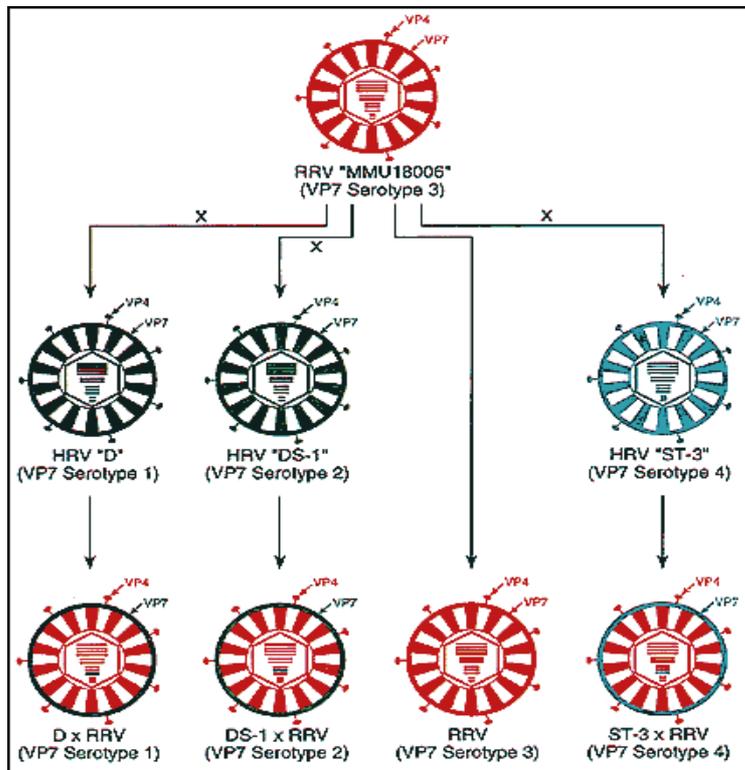


Figura 6. Demonstração esquemática do *reassortant* entre amostras de RV animal e humana na produção da vacina tetravalente humana com VP7 sorotipos específicos.
 FONTE: Kapikian et al. (1996)

Durante estudos clínicos com a vacina RRV-TV (*rhesus-human reassortant rotavirus tetravalent vaccine*), realizados em crianças nos EUA, Venezuela e Finlândia observou-se eficácia de 69%, 88% e 91%, respectivamente, nos casos mais graves da doença diarréica por RVs. No Brasil, Linhares et al. (1996) observaram eficácia contra a doença diarréica de 35%, e 57% de imunogenicidade durante o primeiro ano de acompanhamento.

Em agosto de 1998, o órgão governamental dos Estados Unidos, *Food and Drug Administration* (FDA) licenciou a vacina tetravalente contra rotavírus - RRV-TV, conhecida como *Rotashield™* (Wyeth-Laboratories, Inc., Marietta, Pensilvânia, EUA). Em julho de 1999, depois de ter sido administrada cerca de um milhão e meio de doses

nos EUA, a vacina foi suspensa e retirada do mercado devido à associação com casos de intussuscepção em 15 crianças vacinadas (CDC, 1999a,b). Em outubro do mesmo ano, o Comitê Assessor para Prática de Imunizações (ACIP) cancelou a recomendação do uso da *Rotashield*TM em território americano, recomendando mais estudos na associação de casos de intussuscepção como reação adversa à vacina. Tal medida também foi sugerida a outras regiões do mundo (MURPHY et al., 2001).

Atualmente, algumas vacinas já foram licenciadas para uso em humanos e outras estão na fase de ensaios clínicos. Estas vacinas foram desenvolvidas utilizando amostras de vírus vivos atenuados de origem humana (LLR e RIX4414/Rotarix®), amostras de rotavírus recombinantes de bovino-humano (WC3/Rotateq e UK) e amostras de origem neonatal (116E, RV3, I32, M37).

A vacina contra RV LLR é composta por amostra de vírus atenuada de origem ovina, sorotipo P[12]G10 (Lanzhou Institute of biological Products, China). Esta vacina foi licenciada apenas para uso em algumas regiões da China (GLASS et al., 2005).

Em 2004, a vacina contra rotavírus Rotarix® (GlaxoSmithKline® Biologicals, GSK, Rixensart, Bélgica) foi aprovada no mercado Internacional. Trata-se de uma vacina oral, atenuada, monovalente (P[8]G1-II), amostra RIX4414. Originalmente, esta amostra de RV foi isolada a partir de fezes de uma criança com quadro de diarreia moderada, em Cincinnati, Ohio, EUA, designada de 89-12. A partir de passagens seriadas em cultura de células VERO (rim de macaco verde africano) e posteriormente clonagem deu origem a amostra atenuada RIX4414 (BERNSTEIN et al., 2002). Ensaios clínicos desenvolvidos com a vacina em lactentes de 6 a 13 semanas de idade

provenientes de 11 países da América Latina (Argentina, Brasil, Chile, Colômbia, Honduras, México, Nicarágua, República Dominicana, Panamá, Peru, Venezuela) e Finlândia, demonstraram aproximadamente 85% de eficácia contra a doença diarreica grave. A eficácia para prevenção de diarreia grave para os sorotipos de RV foi de 90,8% para P[8]G1; 87,3% para P[8]G3, P[8]G4P[8] e P[8]G9 e 41,0% para P[4]G2. A proteção teve início cerca de duas semanas após a segunda dose. Não foram observados casos com reações adversas graves, como intussuscepção (RUIZ-PALACIOS et al., 2006). Em março de 2006, o Brasil foi o primeiro país do mundo a introduzir a vacina oral contra rotavírus humano (VORH) Rotarix® no sistema público de saúde, Programa de Imunização Nacional.

A vacina oral atenuada pentavalente contra RV Rotateq® (Merck Sharp & Dohme) é derivada da amostra bovina WC3. É produzida com reassortant entre a cepa bovina e humana, para os tipos G1, G2, G3, G4 e P[8]. Trata-se de produto não-reatogênico e altamente eficaz, alcançando níveis protetores de até 100% frente aos episódios diarreicos mais graves. Recentemente a vacina foi licenciada pelo FDA nos EUA. Além da ausência quanto ao risco representado pela intussuscepção, a vacina apresentou 98% de eficácia referente aos episódios graves causados por rotavírus (VESIKARI et al., 2006). Em abril de 2008 esta vacina foi licenciada no Brasil pela Agência Nacional Vigilância Sanitária (ANVISA).

Outra candidata à vacina oral contra rotavírus foi produzida pelo National Institute of Health (NIH), a partir de *reassortants* entre amostras bovinas UK e humanas, utilizando os sorotipos G1 a G4, e tipos adicionais como G8 ou G9, conforme sua

importância epidemiológica no país. Estudos de fase II realizados na Finlândia têm se mostrado satisfatórios quanto aos níveis de inocuidade, eficácia e imunogenicidade (KAPIKIAN et al., 2005). Atualmente, a vacina está em fase de produção em escala para os ensaios clínicos no Brasil, China e Índia. No Brasil, a Fundação Butantan, em São Paulo, tem realizado a produção da vacina pentavalente com foco nos sorotipos mais freqüentes no país (G1 a G4), incluindo o sorotipo G9, pois este tem sido detectado com alta freqüência nas duas últimas décadas no nosso meio (LEITE; CARVALHO-COSTA; LINHARES, 2008; CARMONA et al., 2006). Além da vantagem de fornecer um produto mais específico para a realidade nacional, a meta é reduzir os custos da vacina e fornecer um preço mais acessível para o governo brasileiro.

Candidatas monovalentes a vacinas contra rotavírus compostas de amostras de neonatos humanos têm sido avaliadas quanto a sua eficácia e potencial imunogênico, como a cepa proveniente da Austrália, RV3 (sorotipo G3); e amostras de RV oriundas da Índia, 116E (sorotipo G10) e I32I (sorotipo G9) (BHANDARI et al., 2006; BARNES et al., 2002). A cepa M37, P [6]G1 foi a primeira candidata a vacina utilizando esta estratégia, isolada em neonatos com infecção assintomática na Venezuela e considerada uma cepa naturalmente atenuada. Entretanto, os resultados inexpressivos de eficácia obtidos em testes realizados na Finlândia promoveram a descontinuação dos estudos com esta vacina (LINHARES e BRESEE, 2000).

A vacina RRV-TV *Rotashield* foi adquirida pelo grupo americano BioVirx, que possui planos para retomar a sua fabricação. Este grupo considera que o risco de intussuscepção dos estudos originais foi seriamente superestimado e que, dada a elevada mortalidade e morbidade infantil devido a doença diarréica por rotavírus nos

países em desenvolvimento, o benefício seria maior em relação a possibilidade de eventuais riscos (GLASS et al., 2005).

No quadro 5 encontra-se um resumo das vacinas atualmente licenciadas e em desenvolvimento.

Quadro 5 - Vacinas orais contra rotavírus atualmente licenciadas e em desenvolvimento.

Vacina/Origem/Laboratório, País	Cepas rotavírus/genótipo	Estágio
1. Tetravalente, <i>reassortant</i> entre amostras de rotavírus rhesus (RRV) - humana/BIOVIRX, EUA	RRV X D/P[3],G1 RRV X DS1/P[3], G2 RRV/P[3], G3 RRV X ST3/P[3],G4	Licenciada 1998 (EUA) Suspensa em 1999 Atualmente não comercializada
2. Monovalente, amostra de rotavírus atenuada humana (RIX4414)/ GSK, Bélgica	89-12/P[8]G1	Licenciada
3. Pentavalente, <i>reassortant</i> entre amostras de rotavírus bovina (WC3)- humana/Merck, EUA	WC3 X 179/P[5],G1 WC3 X SC2/ P[5],G2 WC3 XW178/P[5],G3 WC3 XBrB/P[5],G4 WC3 XW179/P[8],G1	Licenciada
4. Monovalente, amostra ovina/Lanzhou Institute of Biological Products, China	LLR/P[12],G10	Licenciada na China
5. Tetravalente rearranjo de amostras de rotavírus de bovina (UK)-humana/National Institute of Health, EUA	UK X Wa/P[5],G1 UK X DS1/P[5],G2 UK X P[5],G3 UK X ST3/P[5]G1	Fase II
6. Monovalente, neonatal humana (RV3)/Universidade de Melbourne, Austrália e Bio Farma, Indonésia.	RV3/P[6], G3	Fase II
7. Monovalente, neonatal humana/Bharat Biotech, Índia.	116E/P[11], G10	Fase I

Além dos sorotipos reconhecidos como de importância epidemiológica universal

(P[8] G1, G2, G3 e G4), o encontro de tipos adicionais deve ser considerado para o desenvolvimento de novas vacinas a serem administradas em diferentes regiões do mundo. Desta maneira, a vigilância contínua dos rotavírus é imprescindível para monitorar a diversidade genética e antigênica de cepas circulantes na nossa comunidade, antes e após a introdução de uma vacina contra a doença (KAPIKIAN e HOSHINO, 2007). Este monitoramento permite prever possíveis emergências e/ou re-emergências de genótipos e aperfeiçoar a compreensão da dinâmica e o padrão de evolução do vírus.

6 CONCLUSÕES

- a) A presença de rotavírus foi observada em 20% (n=1.784) das 8.961 amostras de fezes analisadas de pacientes com diarreia aguda, provenientes de diversos municípios do Estado de São Paulo, entre 1996 e 2006.
- b) Neste estudo foi possível observar a ampla diversidade de RVs no nosso meio. Entre as 1.300 amostras de RVs selecionadas para caracterização em genótipos G (VP7) e (VP4), o tipo G1 foi o mais freqüente, seguido dos tipos G9, G2, G3, G4 e G12. Verificou-se 1,8% de mistura de genótipos G entre as amostras analisadas, com diferentes combinações. Em relação ao genótipo P, o tipo P[8] foi o mais predominante, seguido dos tipos P[4], P[6], P[9], P[10], e P[3]. Verificou-se 1,0% de mistura de genótipos P. As associações P(VP4) e G(VP7) dos rotavírus foram determinadas em 51,5% das amostras analisadas. A associação P e G mais predominante entre as amostras de rotavírus foi P[8]G1, seguidos P[8]G9, P[4]G2, P[8]G4 e P[8]G3. Infecções mistas e associações consideradas não usuais também foram observadas em 7,9% das amostras.
- c) O genótipo G1 foi o mais freqüente durante 7 anos, ou seja, entre 1996 e 2001 e 2003. A emergência do genótipo G9 pôde ser verificada a partir do ano 2000, sendo o tipo mais predominante nos anos 2002, 2004 e 2005. No ano de 2006, o tipo G2 foi o mais freqüente entre os tipos G de rotavírus, representando 28,9% das infecções, seguidos dos tipos G9, G1 e G3. O genótipo G12 foi detectado apenas no ano de 2004 em pacientes provenientes do município de Guarulhos,

com características sócio-econômicas menos favorecidas. Em relação ao genótipo P, o tipo P[8] foi o mais predominante em todos os anos, seguidos dos tipos P[4], P[6], P[9], P[10] e P[3]. Entretanto, nota-se a exceção em 2006, onde genótipo P[4] foi o mais freqüente entre os tipos de rotavírus.

- d) Foi possível identificar 8 surtos de diarreia agudas por RVs comparando-se os dados laboratoriais com os dados epidemiológicos do CVE/SP, em diversos municípios do Estado de São Paulo, nos anos de 2004 a 2006. O genótipo P[6]G9 foi responsável pelo surto no município de Brodósqui, P[8]G9 responsável por surtos ocorridos nos municípios de Cerquilha, Sete Barras e Fernandópolis, P[8]G1 responsável pelo surto no município de Urânia, P[8]G1+G9 pelo surto no município de Martinópolis e P[4]G2 pelo surto nos municípios de Pitangueiras e Salto. Alguns destes acometeram tanto crianças como adultos, e de forma grave levando a hospitalização, demonstrando a virulência desses genótipos.
- e) As 38 amostras sequenciadas e analisadas quanto à filogenia do gene 9 VP7 G1 foram agrupadas em duas linhagens distintas: G1-I (44,7%) e G1-II (55,3%), quando comparadas com as cepas padrões humanas. Este é o primeiro relato de classificação da VP7 G1 em linhagens no Estado de São Paulo.
- f) Foram detectadas mudanças de aminoácidos entre as amostras de RVs G1 de mesma linhagem, indicando a presença de polimorfismo ou subtipos. Entretanto,

nenhum acúmulo de mutações de aminoácidos foi observado dentro das regiões antigênicas.

- g) Análises preliminares sugerem que a vacina anti-RV-A disponível no calendário infantil brasileiro, Rotarix[®] G1 linhagem II demonstrou ser eficiente contra ambas as linhagens dos vírus G1-I e G1-II detectadas neste estudo, porém análises adicionais serão necessárias para confirmar os achados.

REFERÊNCIAS*

ABE, M.; ITO, N.; MORIKAWA, S.; TAKASU, M.; MURASE, T.; KAWASHIMA, T.; KAWAI, Y.; KOHARA, J.; SUGIYAMA, M. Molecular epidemiology of rotaviruses among healthy calves in Japan: isolation of a novel bovine rotavirus bearing new P and G genotypes. **Virus Res.**, v. 144, p. 250-7, 2009.

AHMED, K.; ANH, D.D.; NAKAGOMI, O. Rotavirus G5P[6] in child with diarrhea, Vietnam. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 13, n.8, p. 1232-5, 2007.

AHMED, M. U.; KOBAYASHI, N.; WAKUDA, M.; SANEKATA, T.; TANIGUCHI, K.; KADER, A.; NAIK, T.N.; ISHINO, M.; ALAM, M. M.; KOJIMA, K.; MISE, K.; SUMI, A. Genetic analysis of group B human rotaviruses detected in Bangladesh in 2000 and 2001. **J. Med. Virol.**, v 72, p. 149-55, 2004.

AKAIKE, H. A new look at the statistical model identification. **IEEE Trans. Autom. Contr.**, v. 19, p. 716-23, 1974.

ANDERSON, E. J.; WEBER, S. G. Rotavirus infection in adults. **Lancet Infect. Dis.**, v. 4, p. 91-9, 2004.

ANDREASI, M. S.; BATISTA, S. M.; TOZETTI, I. A.; OZAKI, C. O.; NOGUEIRA, M. M.; FIACCADORI, F. S.; BORGES, A. M.; SANTOS, R. A.; CARDOSO, D. D. Rotavirus A among hospitalized infants, up to three years of age, with acute gastroenteritis in Campo Grande, State of Mato Grosso do Sul. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 40, p. 411-4, 2007.

AOKI, S. T.; SETTEMBRE, E. C.; TRASK, S. D.; GREENBERG, R. B.; HARRISON, S. C.; DORMITZER, P. R. Structure of Rotavirus Outer-Layer Protein VP7 Bound with a Neutralizing Fab. **Science**, v. 324, p. 1444-7, 2009.

ARAÚJO, I. T.; ASSIS, R. M.; FIALHO, A. M.; MASCARENHAS, J. D.; HEINEMANN, M. B.; LEITE, J. P. Brazilian P[8], G1, P[8], G5, P[8], G9 and P[4], G2 rotavirus strains: nucleotide sequence and phylogenetic analysis. **J. Med. Virol.**, v. 79, p. 995-1001, 2007.

* De acordo com: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

ARAÚJO, I. T.; FERREIRA, M. S.; FIALHO, A. M.; ASSIS, R. M.; CRUZ, C. M.; ROCHA, M.; LEITE, J. P. Rotavirus genotypes P[4]G9, P[6]G9 and P[8]G9 in hospitalized children with acute gastroenteritis in Rio de Janeiro, Brazil. **J. Clin. Microbiol.**, v. 39, n. 5, p. 1999-2001, 2001.

ARISTA, S.L.; GIAMMANCO, G. M.; DE GRAZIA, S.; RAMIREZ, S.; LO BIUNDO, C.; COLOMBA, C.; CASCIO, A.; MARTELLA, V. Heterogeneity and temporal dynamics of evolution of G1 human rotaviruses in a settled population. **J. Virol.**, v. 80, n. 21, p. 10724-33, 2006.

ARISTA, S. L.; GIOVANNELLI, L.; TITONE, L. Detection of antigenically distinct human rotavirus in Palermo. **Ann. Inst. Pasteur Virol.**, v. 136, p. 229-35, 1985.

AUNG, T. S.; KOBAYASHI, N.; NAGASHIMA, S.; GHOSH, S.; AUNG, M. S.; OO., K.Y.; WIN, N. Detection of group B rotavirus in an adult with acute gastroenteritis in Yangon, Myanmar. **J. Med. Virol.**, v. 81, n. 11, p. 1968-74, 2009.

BALL, M. J.; TIAN, P.; ZENG, C. Q.-Y.; MORRIS, A. P. ESTES, M. K. - Age-Dependent Diarrhea Induced by a Rotaviral Nonstructural Glycoprotein. **Science**, v. 272, p. 101-04, 1996.

BÁNYAI, K.; ESONA, M. D.; MIJATOVIC, S.; KERIN, T. K.; PEDREIRA, C.; MERCADO, J.; BALMASEDA, A.; PEREZ, M. C.; PATEL, M. M.; GENTSCH, J. R. Zoonotic bovine rotavirus strain in a diarrheic child, Nicaragua. **J. Clin. Virol.**, v. 46, p. 391-3, 2009.

BÁNYAI, K.; JIANG, B.; BOGDÁN, A.; HORVÁTH, B.; JAKAB, F.; MELEG, E.; MARTELLA, V.; MAGYARI, L.; MELEGH, B.; SZUCS, G. Prevalence and molecular characterization of human group C rotaviruses in Hungary. **J. Clin. Virol.**, v. 37, p. 317-22, 2006.

BARMAN, P.; GHOSH, S.; SAMAJDAR, S.; MITRA, U.; DUTTA, P.; BHATTACHARYA, S. K.; KRISHNAN, T.; KOBAYASHI, N.; NAIK, T.N. RT-PCR based diagnosis revealed importance of human group B rotavirus infection in childhood diarrhoea. **J. Clin. Virol.**, v. 36, p. 222-7, 2006.

BARNES, G. L.; BISHOP, R.F. Rotavirus infection and prevention. **Curr. Opin. Pediatr.**, v. 9, n. 1, p. 19-23, 1997.

BARNES, G. L.; LUND, J. S.; MITCHELL, S. V.; DE BRUYN, L.; PIGGFORD, L.; SMITH, A. L.; FURMEDGE, J.; MASENDYCZ, P. J.; BUGG, H. C.; BOGDANOVIC-SAKRAN, N.; CARLIN, J. B.; BISHOP, R. F. Early phase II trial of human rotavirus vaccine candidate RV3. **Vaccine**, v. 26, n. 20, p. 2950-6, 2002.

BERN, C.; UNICOMB, L.; GENTSCH, J. R.; BANUL, N.; YUNUS, M.; SACK, R. B.; GLASS, R. I. Rotavirus diarrhea in Bangladesh children: correlation of disease severity with serotypes. **J. Clin. Microbiol.**, v. 30, p. 323-38, 1992.

BERNSTEIN, D. I.; SACK, D. A.; REISINGER, K.; ROTHSTEIN, E.; WARD, R. L. Second-year follow-up evaluation of live, attenuated human rotavirus vaccine 89-12 in healthy infants. **J. Infect. Dis.**, v. 186, p. 1487-9, 2002.

BHAN, M. K.; LEW, J. F.; SAZAWAL, S.; DAS, B. K.; GENTSCH, J. R.; GLASS, R. I. Protection conferred by neonatal rotavirus infection against subsequent rotavirus diarrhea. **J. Infect. Dis.**, v. 168, p. 282-7, 1993.

BHANDARI, N.; SHARMA, P.; GLASS, R. I.; RAY, P.; GREENBERG, H.; TANEJA, S.; SAKSENA, M.; RAO, C. D.; GENTSCH, J. R.; PARASHAR, U.; MALDONADO, Y.; WARD, R. L.; BHAN, M. K. Safety and immunogenicity of two live attenuated human rotavirus vaccine candidates, 116E and I321, in infants: Results of a randomised controlled trial. **Vaccine**, v. 24, p. 5817-23, 2006.

BISHOP, R. F.; BARNES, G. L.; CIPRIANI, E.; LUND, J.S. Clinical immunity after neonatal rotavirus infection: a prospective, longitudinal study in young children. **The New Engl. Med.**, v. 309, p. 72-6, 1983.

BISHOP, R. F.; BUGG, H. C.; MASENDYCZ, P. J.; LUND, J. S.; GORRELL, R. J.; BARNES, G. L. Serum, fecal & breast milk rotavirus antibodies as indices in other infant pairs. **The J. Infect. Dis.**, v. 174, p. 22-9, 1996.

BISHOP, R. F.; DAVIDSON, G. P.; HOLMES, I. H.; RUCK, B.J. . Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with viral gastroenterites. **Lancet**, v. 2, p. 1281-3, 1973.

BLACK, R. E.; MORRIS, S. S.; BRYCE, J. Where and why are 10 million children dying every year? **Lancet**, v. 361, p. 2226-34, 2003.

BOK, K.; CASTAGNARO, N.; BORSA, A.; NATES, S.; ESPUL, C.; FAY, O.; FABRI, A.; GRINSTEIN, S.; MICELI, I.; MATSON, D. O.; GÓMEZ, J. A. Surveillance for rotavirus in Argentina. **J. Med. Virol.**, v. 65, n. 1, p. 190-8, 2001.

BRANDT, C. D.; KIM, H. W.; RODRIGUEZ, W.J.; THOMAS, L.; YOLKEN, R.H.; ARROBIO, J.O.; KAPIKIAN, A.Z.; PARROTT, R.H.; CHANOCK, R.M. Comparison of direct electron microscopy, immune electron microscopy, and rotavirus enzyme-linked immunosorbent assay for detection of gastroenteritis viruses in children. **J. Clin. Microbiol.**, v.13, n. 5, p. 976-81, 1981.

BRANDT, C. D.; ARNDT, C. W.; EVANS, G. L.; KIM, H. W.; STALLINGS, E. P.; RODRIGUEZ, W. J.; PARROTT, R. H. Evaluation of a latex test for rotavirus detection. **J. Clin. Microbiol.**, v. 25, n. 9, p. 1800-2, 1987.

BRESEE, J. S.; PARASHAR, U. D.; WIDDOWSON, M. A.; GENTSCH, J. R.; STEELE, A. D.; GLASS, R. I. Update on rotavirus vaccines. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 24, n. 11, p. 947-52, 2005.

BRESEE, J.; FANG, Z. Y.; WANG, B.; NELSON, E. A.; TAM, J.; SOENARTO, Y.; WILOPO, S. A.; KILGORE, P.; KIM, J. S.; KANG, J. O.; LAN, W. S.; GAIK, C. L.; MOE, K.; CHEN, K. T.; JIRAPHONGSA, C.; PONGUSWANNA, Y.; NGUYEN, V. M.; PHAN, V. T.; LE, T. L.; HUMMELMAN, E.; GENTSCH, J. R.; GLASS, R. First report from the Asian Rotavirus Surveillance Network. **Emerg. Infect. Dis.**; v. 10, p. 988-95, 2004.

BURNS, J. W.; SIADAT-PAJOUH, M.; KRISHNANEY, A. A.; GREENBERG, H. B. Protective effect of rotavirus VP6-specific IgA monoclonal antibodies lack neutralizing activity. **Science**, v. 272, p. 104-7, 1996.

CANDEIAS, J. A. N.; BALDACCI, E. R.; BREVIGLIERI, J. C.; GRISI, S. J. E.; RÁCZ, M. L.; HARSI, C. M. Diagnostico de infecções por rotavirus através da reação de imunofluorescência indireta. **Rev. Microbiol.**, v. 11, p. 76-8, 1980.

CANDEIAS, J. A. N.; ROSENBERG, C. P.; RÁCZ, M. L. Identificação por contraímuno-eletróforese de rotavírus em casos de diarreia infantil. **Rev. Saude. Publ.**, v. 12, p. 99-103, 1978.

CARDOSO, D. D.; RÁCZ, M. L.; AZEVEDO, M. S.; MARTINS, R. M.; SOARES, C. M.

Genotyping of group A rotavirus samples from Brazilian children by probe hybridization. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 34, n. 4, p. 471-3, 2001.

CARDOSO, D. D.; SOARES, C. M.; DIAS E SOUZA, M. B.; AZEVEDO, M.da S.; MARTINS, R. M.; QUEIRÓZ, D. A.; BRITO, W. M.; MUNFORD, V.; RÁCZ, M. L. Epidemiological features of rotavirus infection in Goiânia, Goiás, Brazil, from 1986 to 2000. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 1, p. 25-9, 2003.

CARMONA, R. C.; TIMENETSKY, M do C.; SILVA, F. F.; GRANATO, C. F. Characterization of rotavirus strains from hospitalized and outpatient. **J. Med. Virol.**, v. 74, n. 1, p. 166-72, 2004.

CARMONA, R. C.; TIMENETSKY, M. do C.; MORILLO, S. G.; RICHTZENHAIN, L. J. Human rotavirus serotype G9, São Paulo, Brazil, 1996-2003. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 12, p. 963-8, 2006.

CARMONA, R. C. C.; MORILLO, S. G.; LUCHS, A.; RIBEIRO, C. D.; CALUX, S. J.; EDUARDO, M. B. P.; TIMENETSKY, M. C. S. T. Rotavirus detected among children with acute gastroenteritis after vaccine introduction in São Paulo, Brazil. **Vírus Rev. Res.**, v. 14, p. 190, 2009. Suplemento. Apresentado no XX National Meeting of Virology, 1., 2009, Brasília.

CARNEIRO, N.B.; DINIZ-SANTOS, D. R.; FAGUNDES, S. Q.; NEVES, L. L.; REGES, R. M.; LIMA, E. K.; QUADROS, V. H.; SOARES, L. E.; SILVA, F. S.; SCHNEITER, H. de G.; FIGUEIREDO, I.; SILVA, L. R. Clinical and epidemiological aspects of children hospitalized with severe rotavirus-associated gastroenteritis in Salvador, BA, Brazil. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 9, p. 525-8, 2005.

CARRARO, E.; PEROSA, A. H.; SIQUEIRA, I.; PASTERNAK, J.; MARTINO, M. D. Rotavirus infection in children and adult patients attending in a tertiary Hospital of São Paulo, Brazil. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 12, n. 1, p. 44-6, 2008.

CARVALHO-COSTA, F. A.; ASSIS, R. M.; FIALHO, A. M.; BÓIA, M. N.; ALVES, D. P.; MARTINS, C. M.; LEITE, J.P. Detection and molecular characterization of group A rotavirus from hospitalized children in Rio de Janeiro, Brazil, 2004. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 1, n. 3, p. 291-4, 2006.

CARVALHO-COSTA, F. A.; ARAÚJO, I. T.; ASSIS, R. M. S.; FIALHO, A. M; MARTINS,

C.M. de A.; BÓIA, M. N.; LEITE, J.P. Rotavirus genotype distribution after vaccine introduction, Rio de Janeiro, Brazil. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 15, n. 1, p. 95-7, 2009.

CASTELLO, A. A.; ARGÜELLES, M. H.; VILLEGAS, G. A.; OLTHOFF, A.; GLIKMANN, G. Incidence and prevalence of human group C rotavirus infections in Argentina. **J. Med. Virol.**, v. 67, p. 106-12, 2002.

CASTELLO, A. A.; ARVAY, M. L.; GLASS, R. I., GENTSCH, J. Rotavirus strain surveillance in Latin America: a review of the last nine years. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 23, p. 168-72, 2004.

CASTELLO, A. A.; ARGÜELLES, M. H.; ROTA, R. P.; OLTHOFF, A.; JIANG, B.; GLASS, R.I.; GENTSCH, J. R. ; GLIKMANN, G. Molecular epidemiology of group A rotavirus diarrhea among children in Buenos Aires, Argentina, from 1999 to 2003 and emergence of the infrequent genotype G12. **J. Clin. Microbiol.**, v. 44, n. 6, p. 2046-50, 2006.

CASTELLO, A. A.; NAKAGOMI, T.; NAKAGOMI, O.; JIANG, B.; KANG, J. O.; GLASS, R. I.; GLIKMANN, G.; GENTSCH, J. R. Characterization of genotype P[9]G12 rotavirus strains from Argentina: high similarity with Japanese and Korean G12 strains. **J. Med. Virol.**; v. 81, p. 371-81, 2009.

CASTRO, L.; RODRIGUESP, D.; FLAUZINO, R.; MOURA, M.; LEITE, J. P. G. An outbreak of diarrhea associated with rotavirus serotype 1 in a day care nursery in Rio de Janeiro, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 89, p. 5-9, 1994.

CAUL, E. O.; ASHLEY, C. R.; DARVILLE, J. M.; BRIDGER, J. C. Group C rotavirus associated with fatal enteritis in a family outbreak. **J. Med. Virol.**, v. 30, p. 201-5, 1990.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Withdrawal of rotavirus vaccine recommendation. **MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.**, v. 48, n. 43, p. 1007, 1999a.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Intussusception among recipients of rotavirus vaccine – United States, 1998-1999. **MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.**, v. 48, n. 27, p. 577-81, 1999b.

CHANDRAN, A.; HEINZEN, R. R.; SANTOSHAM, M.; SIBERRY, G. K. Nosocomial rotavirus infections: a systematic review. **J. Pediatr.**, v. 149, p. 441-7, 2006.

CHANG, H. G.; SMITH, P. F.; TSERENPUNTSAG, B.; MARKEY, K.; PARASHAR, U.; MORSE, D. L. Reduction in hospitalizations for diarrhea and rotavirus infections in New York state following introduction of rotavirus vaccine. **Vaccine**, v. 28, n.3, p. 754-8, 2010

CHEN, C. M.; HUNG, T.; BRIDGER, J. C.; MCCRAE, M. A. Chinese adult rotavirus is a group B rotavirus. **Lancet**, v. 2, p. 1123 - 4, 1985.

CHOMEZYNSKI, P.; SACCHI, N. Single-step method RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. **Anal. Biochem.**, v. 162, n. 1, p. 156-9, 1987.

CIARLET, M.; HIDALGO, M.; LIPRANDI, F. Cross-reactive, serotype- and monotype-specific neutralization epitopes on VP7 of serotype G3 and G5 porcine rotavirus strains. **Arch. Virol.**, v. 141, p. 601-14, 1996.

CICIRELLO, H. G.; GLASS, R. I. Current concepts of the epidemiology of diarrheal diseases. **Sem. Pediat. Inf. Dis.**, v. 5, p. 163-167, 1994.

CLARK, H. F.; HOSHINO, Y.; BELL, L. M.; GROFF, J.; HESS, G.; BACHMAN, P.; OFFIT, P. A. Rotavirus isolate WI61 representing a presumptive new human serotype. **J. Clin. Microbiol.**, v. 25, n. 9, p. 1757-62, 1987,

CLARK, F. H.; BORIAN, F. E.; BELL, L. M.; MODESTO, K.; GOUVEA, V.; PLOTKIN, S.A. Protective effect of WC3 vaccine against rotavirus diarrhea in infants during a predominantly serotype 1 rotavirus season. **J. Infect. Dis.**, v. 158, p. 570-87, 1988.

CLARK, H. F.; LAWLEY D. A.; SCHAFFER, A.; PATACSIL, J. M.; MARCELLO, A. E.; GLASS, R. I.; JAIN, V.; GENTSCH, J.R. Assessment of the epidemic potential of a new strain of rotavirus associated with the novel G9 serotype which caused an outbreak in the United States for the first time in the 1995–1996 season. **J. Clin. Microbiol.**, v. 42, p. 1434-8, 2004.

COLUCHI, N.; MUNFORD, V.; MANZUR, J.; VAZQUEZ, C.; ESCOBAR, M.; WEBER, E.; MÁRMOL, P.; RÁCZ, M. L. Detection, subgroup specificity, and genotype diversity of rotavirus strains in children with acute diarrhea in Paraguay. **J. Clin. Microbiol.**, v. 40, n. 5, p. 1709-14, 2002.

COOK, N.; BRIDGER, J.; KENDALL, K.; GOMARA, M. I.; EL-ATTAR, L.; GRAY, J. The zoonotic potential of rotavirus. **J. Infect.**, v. 48, p. 289-302, 2004.

COOK, S. M.; GLASS, R. I.; LEBARON, C. W.; HO, M. S. Global seasonality of rotavirus infections. **Bull. W.H.O.**, v. 68, p. 171-7, 1990.

CORREIA, J. B.; PATEL, M. M.; NAKAGOMI, O.; MONTENEGRO, F. M.; GERMANO, E. M.; CORREIA, N. B.; CUEVAS, L. E.; PARASHAR, U. D.; CUNLIFFE, N. A.; NAKAGOMI, T. Effectiveness of monovalent rotavirus vaccine (Rotarix) against severe diarrhea caused by serotypically unrelated G2P[4] strains in Brazil. **J. Infect. Dis.**, v. 201, n. 3, p. 363-9, 2010.

COSTA, P. S.; CARDOSO, D. D.; GRISI, S. J.; SILVA, P. A.; FIACCADORI, F.; SOUZA, M. B.; SANTOS, R. A. Rotavirus A infections and reinfections: genotyping and vaccine implications. **J. Pediatr.**, v. 80, n. 2, p. 119-22, 2004.

COSTA, F. F.; LUCHS, A.; CILLI, A.; MORILLO, S. G.; CARMONA, R. de C.; TIMENETSKY, M. do C. Rotavirus genotype G9P[8] among Peguaó Ty Indian community in São Paulo, Brazil. **J. Clin. Virol.**, v. 46, n. 4, p. 387-8, 2009.

COULSON, B. S.; KIRKWOOD, C. Relation of VP7 amino acid sequence to monoclonal antibody neutralization of rotavirus and rotavirus monotype. **J. Virol.**, v. 65, n. 11, p. 5968-74, 1991.

CURNS, A. T.; STEINER, C. A.; BARRETT, M.; HUNTER, K.; WILSON, E.; PARASHAR, U. D. Reduction in acute gastroenteritis hospitalizations among US children after introduction of rotavirus vaccine: analysis of hospital discharge data from 18 US states.. **J. Infect. Dis.**, v. 201, n. 11, p. 1617-24, 2010.

COX, M. J.; AZEVEDO, R. S.; NOKES, D. J.; BEARDS, G. M.; MCCRAE, M. A.; MASSAD, E.; MEDLEY, G. F.; Seroepidemiology of group A rotavirus in suburban São Paulo, Brazil. **Epidemiol. Infect.**, v. 120, p. 327-3, 1998.

DAS, B. K.; GENTSCH, J. R.; CICIRELLO, H. G.; WOODS, P. A.; GUPTA, A.; RAMACHANDRAN, M.; KUMAR, R.; BHAN, M. K.; GLASS, R. I. Characterization of rotavirus strains from newborns in New Delhi, India. **J. Clin. Microbiol.**, v. 32, n. 7, p. 1820-2, 1994.

DEL REFUGIO GONZÁLEZ-LOSA, M.; POLANCO-MARÍN G. G.; MANZANO-CABRERA, L.; PUERTO-SOLÍS, M. Acute gastroenteritis associated with rotavirus in adults. **Arch. Med. Res.**, v. 32, p. 164-7, 2001.

DENNEHY, P. H.; GAUNTLETT, D. R.; TENDE, W. E. Comparison of nine commercial immunoassay for the detection of rotavirus in faecal samples. **J. Clin. Microbiol.**, v. 26, p. 1630-48, 1988.

DENNEHY, P. H.; BERTRAND, H. R.; SILAS, P. E.; DAMASO, S.; FRIEDLAND, L. R.; ABU-ELYAZEED, R. Coadministration of RIX4414 oral human rotavirus vaccine does not impact the immune response to antigens contained in routine infant vaccines in the United States. **Pediatrics**, v. 122, p. 1062-6, 2008.

DESSELBERGER, U. Genome rearrangements of rotaviruses. **Adv. Virus Res.**, v. 46, p. 69-95, 1996.

DESSELBERGER, U.; MANKTELOW, E. ; LI, W.; CHEUNG, W; ITURRIZA-GÓMARA, M.; GRAY, J. Rotaviruses and rotavirus vaccines. **Br. Med. Bull.**, v. 90, p. 37-51, 2009.

DIMITROV, D. H.; ESTES, M. K.; RANGELOVA, S. M.; SHINDAROV, L. M.; MELNICK, J. L.; GRAHAM, D. Y. Detection of antigenically distinct rotaviruses from infants. **Infect. Immun.**, v. 41, p. 523-6, 1983.

DUAN, Z.; 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. J. Novel human rotavirus of genotype G5P[6] identified in a stool specimen from a Chinese girl with diarrhea. **Clin. Microbiol.**, v. 45, p. 1614-7, 2007.

DUNN, S. J.; GREENBERG, H. B.; WARD, R. L.; NAKAGOMI, O.; BURNS, J. W.; VO, P. T.; PAX, K. A.; DAS, M.; GOWDA, K.; RAO, C. D. Serotypic and genotypic characterization of human serotype 10 rotavirus from asymptomatic neonates. **J. Clin. Microbiol.**, v. 31, p. 165 - 9, 1993.

DUNN, S. J.; WARD, R. L.; McNEAL, M. M.; CROSS, T. L.; GREENBERG, H. B. Identification of a new neutralization epitope on VP7 of human serotype 2 rotavirus and evidence for electropherotype differences caused by single nucleotide substitutions. **Virology**, v. 197, p. 397-404, 1993.

DUNN, S. J.; FIORE, L.; WERNER, R. L.; CROSS, T. L.; BROOME, R. L.; RUGGERI, F. M.; GREENBERG, H. B. Immunogenicity, antigenicity and protection efficacy of baculovirus expressed VP4 trypsin cleavage products, VP5* and VP8* from rhesus rotavirus. **Arch. Virol.**, v. 140, p. 1969-78, 1995.

DURIGON, E. L.; CANDEIAS, J. A. N.; JEREZ, J. A.; BITTENCOURT, M. J.; ORTOLANI, E. L. Comparison of Staphylococcal co-agglutination with other assays for rapid diagnosis of rotavirus infection in humans, calves and piglets. **J. Virol. Methods**, v. 35, p. 73-9, 1991.

DYALL-SMITH, M. L.; LAZDINS, I.; TREGGAR, G. W.; HOLMES, I. H. Location of the major antigenic sites involved in rotavirus serotype-specific neutralization. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v. 83, n. 10, p. 3465-8, 1986.

EDMONSON, L. M.; EBBERT, J. O.; EVANS, J. M. Report of a rotavirus outbreak in an adult nursing home population. **J. Am. Med. Dir. Assoc.**, v. 1, p. 175-9, 2000.

ESPARZA-AGUILAR, M.; BAUTISTA-MÁRQUEZ, A.; GONZÁLEZ-ANDRADE, M. C, RICHARDSON-LÓPEZ-COLLADA V. L. Analysis of the mortality due to diarrhea in younger children, before and after the introduction of rotavirus vaccine. **Salud Publica Mex.**, v. 51, n. 4, p. 285-90, 2009.

ESPEJO, R. T.; PUERTO, F.; SOLER, C.; GONZÁLES, N. Characterization of a human pararotavirus. **Infect. Immun.**, v. 44, p. 112-6, 1984.

ESPÍNOLA, E. E.; PARRA, G. I.; RUSSOMANDO, G.; ARBIZA, J. Genetic diversity of the VP4 and VP7 genes affects the genotyping of rotaviruses: analysis of Paraguayan strains. **Infect. Genet. Evol.**, v. 8, n. 1, p. 94-9, 2008.

ESTEBAN, L. E.; ROTA, R. P.; GENTSCH, J. R.; JIANG, B.; ESONA, M.; GLASS R. I.; GLIKMANN, G.; CASTELLO, A. A. Molecular epidemiology of group A rotavirus in Buenos Aires, Argentina 2004-2007: reemergence of G2P[4] and emergence of G9P[8] strains. **J. Med. Virol.**, v. 82, n. 6, p. 1083-93, 2010.

ESTES, M. K. Advances in molecular biology: impact on rotavirus vaccine development. **J. Infect. Dis.**, v. 174, n. 1, p. S37-46. 1996.

ESTES, M. K.; KAPIKIAN, A. Z. Rotaviruses and their replication. In: KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M.; GRIFFIN, D. E. **Fields Virology**. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007. p. 1917-74.

ESTES, M. K.; COHEN, J. Rotaviruses Gene Structure and Function. **Microbiol. Rev.**, v. 53, p. 410-49, 1989.

ESTES, M. K. Rotaviruses and their replication. In: KNIPE, D.M.; HOWLEY, P.M. **Fields Virology**. 4. ed. Philadelphia: Lippincott & Wilkins, 2001. p 1426-54.

ESTES, M. K., GRAHAM, D. Y.; DIMITROV, D. H. The molecular epidemiology of rotavirus gastroenteritis. **Prog. Med. Virol.**, v. 29, p. 1-22, 1984.

FANG, Z.; YE, Q.; HO, M.; DONG, H.; QING, S.; PEÑARANDA, M.E.; HUNG, T.; WEN, L.; GLASS, R.I. Investigation of an outbreak of adult diarrhea rotavirus in China. **J. Infect. Dis.**, v. 160, p. 948-53, 1989.

FEENEY, S. A.; MITCHELL, S. J.; MITCHELL, F.; WYATT, D. E.; FAIRLEY, D.; MCCAUGHEY, C.; COYLE, P. V.; O'NEILL, H. J. Association of the G4 rotavirus genotype with gastroenteritis in adults. **J. Med. Virol.**, v. 78, n. 8, p. 1119-23, 2006.

FELSENSTEIN, J. Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. **J. Mol. Evol.**, v.17, n.6, p.368-76,1981.

FISCHER, T. K.; BRESEE, J.cS.; GLASS, R.cl. Rotavirus vaccines and the prevention of hospital-acquired diarrhea in children. **Vaccine**, v. 22, p. S49-54, 2004.

FISCHER, T. K.; EUGEN-OSLEN, J.; PEDERSEN, A. G.; MOLBAK, K.; BOTTIGER, B.; ROSTGAARD, K.; NIELSEN, N. M. Characterization of rotavirus strains in a Danish population: high frequency of mixed infection and diversity within the VP4 gene of P[8] strains. **J. Clin. Microbiol.**, v. 43, p. 1099–104, 2005.

FLEWETT, T. H.; BRYDEN, A.S.; DAVIS, H. Virus particles in gastroenteritis. **Lancet**, v. 2, p. 1497, 1973.

FLEWETT, T. H.; BRYDEN, A. S.; DAVIES, H. Diagnostic electron microscopy of faeces. I - The viral flora of the faeces as seen by electron microscopy. **J. Clin. Pathol.**, v. 27, p. 603-8, 1974.

FUJII, R.; HAMANO, M.; YAMADA, M.; YAMASAKI, S. Detection of human group C rotaviruses by enzyme-linked immunosorbent assay using monoclonal antibodies. **J. Clin. Microbiol.**, v. 30, p. 1307-11, 1992.

GABBAY, Y. B.; BORGES, A. A.; OLIVEIRA, D. S.; LINHARES, A. C.; MASCARENHAS, J. D.; BARARDI, C. R.; SIMÕES, C. M.; WANG, Y.; GLASS R. I.; JIANG, B. Evidence for zoonotic transmission of group C rotavirus among children in Belem. **Braz. J. Med. Virol.**, v. 80, p. 1666-74, 2008.

GABBAY, Y. B.; JIANG, B.; OLIVEIRA, C. S.; MASCARENHAS, J. D.; LEITE, J. P.; GLASS, R. I.; LINHARES, A. C. An outbreak of group C rotavirus gastroenteritis among children attending a day-care centre in Belem, Brazil. **J. Diarrhoeal. Dis. Res.**, v. 17, p. 69-74, 1999.

GAGGERO, A., AVENDANO, L., FERNANDEZ, J., SPENCER, E. Nosocomial transmission of rotavirus from patients admitted with diarrhea. **J. Clin. Microbiol.**, v. 30, p. 3294-7, 1992.

GENTSCH, J. R.; GLASS, R. I.; WOODS, P.; GOUVEA, V.; GORZIGLIA, M.; FLORES, J.; DAS, B. K.; R. M. K. Identification of group A rotavirus gene 4 types by Polymerase Chain Reaction. **J. Clin. Microbiol.**, v. 30, p. 1365 - 73, 1992.

GENTSCH, J. R.; LAIRD, A. R.; BIELFELT, B.; GRIFFIN, D. D.; BANYAI, K.; RAMACHANDRAN, M.; JAIN, V.; CUNLIFFE, N. A.; NAKAGOMI, O.; KIRKWOOD, C. D.; FISCHER, T. K.; PARASHAR, U. D.; BRESEE, J. S.; JIANG, B.; GLASS, R. I. Serotype diversity and reassortment between human and animal rotavirus strains: implications for rotavirus vaccine programs. **J. Infect. Dis.**, v. 192, n. 1, p. S146-59, 2005.

GERNA, G.; SARASINI, A.; TORSELINI, N.; TORRE, D.; PAREA, M.; BATTAGLIA, M. Group - and - type specific serologic response in infants and children with primary rotavirus infections and gastroenteritis caused by a strain of known serotype. **J. Infect. Dis.**, v. 161, p. 1105-11, 1990.

GLASS, R. I.; BRESEE, J. S.; PARASHAR, U.; TURCIOS, R.; FISCHER, T.; JIANG, B.; WIDDOWSON, M. A.; GENTSCH, J.R. Rotavirus vaccines: past, present, and future. **Arch. Pediatr.**, v. 12, p. 844-7, 2005.

GLASS, R. I.; PARASHAR, U. D.; BRESEE, J. S.; TURCIOS, R.; FISCHER, T. K.; WIDDOWSON, M. A.; JIANG, B.; GENTSCH, J. R. Rotavirus vaccines: current prospects and future challenges. **Lancet**, v. 368, p. 323–32, 2006.

GLEIZES, O.; DESSELBERGER, U.; TATOCHENKO, V.; RODRIGO, C.; SALMAN, N.; MEZNER, Z.; GIAQUINTO, C.; GRIMPREL, E. Nosocomial rotavirus infection in European countries: a review of the epidemiology, severity and economic burden of hospital-acquired rotavirus disease. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 25, p. S12-21, 2006.

GOMES, J. A.; NATES, S.; De CASTAGNARO, N. R.; ESPUL, C.; BORSA, A.; GLASS, R. I. Anticipating rotavirus vaccines: review of epidemiologic studies of rotavirus diarrhea in Argentina. **Rev. Panams. Saluds. Publica**, v. 3, p. 69-78, 1998.

GÓMEZ, M. M.; VOLOTAO, E. M.; LIMA DE MENDONÇA, L. F. L.; TORT, M. F. M.; LEITE, J. P. G. Detection of uncommon rotavirus A strains P[8]G8 and P[4]G8 in the city of Rio de Janeiro, 2002. **J. Med. Virol.**, v. 82, p. 1272-6, 2010.

GORZIGLIA, M.; NISHIKAWA, K.; HOSHINO, Y.; TANAGUCHI, K. Similarity of the outer capsid protein VP4 of the Gottfried strain of porcine rotavirus to that of asymptomatic human rotavirus strains. **J. Virol.**, v. 64, p. 414 - 8, 1990.

GOUVEA, V.b S.; DOMINGUES, A. L.; NAVECA, F. G.; PEDRO, A. R.; BEVILACQUA, C. C. Changing epidemiology of rotavirus-related hospitalizations in Rio de Janeiro, Brazil, from 2001 to 2006. **Open Virol. J.**, v. 1, p. 47-50, 2007.

GOUVEA, V.; BRANTLY, M. Is rotavirus a population of reassortants? **Trends Microbiol.**, v. 3, p. 159-62, 1995.

GOUVEA, V.; ALLEN, J. R.; GLASS, R. I.; FANG, Z.; BREMONT, M.; COHEN, J.; MCCRAE, M. A.; SAIF, L.; SINARACHATANANT, P.; CAUL, E.O. Detection of group B and C rotaviruses by polymerase chain reaction. **J.Clin.Microbiol.**, v. 29, p. 519-23, 1991.

GOUVEA, V.; HO, M.; GLASS, R. I.; WOODS, P.; FORRESTER, P.; ROBINSON, C.; ASHLEY, R.; RIEPENHOFF-TALTY, M., CLARK, H. F., TANIGUCHI, K., MEDDIX, E., MCKELLAR, B., PICKERING, L. Serotypes and electropherotypes of human rotavirus in the USA: 1987-1989. **J. Infect. Dis.**, v. 162, p. 362-7, 1990a.

GOUVEA, V.; CASTRO, L.; TIMENETSKY, M. C.; GREENBERG, H.; SANTOS, N. Rotavirus serotype G5 associated with diarrhea in brazilian children. **J. Clin. Microbiol.**, v. 32, p. 1408-9, 1994a.

GOUVEA, V.; GLASS, R. I.; WOODS, P.; TANIGUCHI, K.; CLARK, H. F.; FORRESTER, B.; FANG, Z.Y. Polymerase Chain Reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens. **J. Clin. Microbiol.**, v. 28, p. 276-82, 1990b.

GOUVEA, V.; SANTOS, N.; TIMENETSKY, M.C. VP4 typing of bovine and porcine group A rotaviruses by PCR. **J. Clin. Microbiol.**, v. 32, p. 1333 - 7, 1994b.

GOUVEA, V.; SANTOS, N.; TIMENETSKY, M. C. Identification of bovine and porcine rotavirus G types by PCR. **J. Clin. Microbiol.**, v. 32, p. 1338-40, 1994c.

GREEN, K. Y.; TANIGUCHI, K.; MACKOW, E. R.; KAPIKIAN, A. Z. Homotypic and heterotypic epitope-specific antibody responses in adult and infant rotavirus vaccines: implications for vaccine development. **J. Infect. Dis.**, v. 161, p. 667-79, 1989.

GREENBERG, H.; MCAULIFFE, V.; VALDESUSO, J.; WYATT, R.; FLORES, J.; KALICA, A.; HOSHINO, Y.; SINGH, N. Serological analysis of the subgroup protein of rotavirus, using monoclonal antibodies. **Infect. Immun.**, v. 39, p. 91-9, 1983.

GRIFFIN, D. D.; FLETCHER, M.; LEVY, M. E.; CHING-LEE, M.; NOGAMI, R.; EDWARDS, L.; PETERS, H.; MONTAGUE, L.; GENTSCH, J. R.; GLASS, R. I. Outbreaks of adult gastroenteritis traced to a single genotype of rotavirus. **J. Infect. Dis.**, v.185, n. 10, p. 1502-5, 2002.

GUANDALINI, S. J. Probiotics for children with diarrhea: an update. **Clin. Gastroenterol.**, v. 42, n. 2, p. S53-7, 2008.

GUINDON, S.; LETHIEC, F.; DUROUX, P.; GASCUEL O. PHYML Online – a web server for fast maximum likelihood-based phylogenetic inference. **Nucleic Acids. Res.**, v. 33, p. 557-9, 2005.

GURGEL, R. G.; BOHLAND, A. K.; VIEIRA, S. C.; OLIVEIRA, D. M.; FONTES, P. B.; BARROS, V. F.; RAMOS, M. F.; DOVE, W.; NAKAGOMI, T.; NAKAGOMI, O.; CORREIA, J. B.; CUNLIFFE, N.; CUEVAS, L. E. Incidence of rotavirus and all-cause diarrhea in northeast Brazil following the introduction of a national vaccination program. **Gastroenterology**, v. 137, n. 6, p. 1970-5, 2009.

GURGEL, R. Q.; CUNLIFFE, N. A.; NAKAGOMI, O.; CUEVAS, L. E. Rotavirus genotypes circulating in Brazil before national rotavirus vaccination: a review. **J Clin Virol.**, v. 43, n. 1, p. 1-8, 2008.

GURGEL, R. Q.; CUEVAS, L. E.; VIEIRA, S. C. F.; BARROS, V. C. F.; FONTES, P. B.; SALUSTINO, E. F.; NAKAGOMI, O.; NAKAGOMI, T.; DOVE, W.; CUNLIFFE, N.; HART, C.A. Predominance of rotavirus P[4]G2 in a vaccinated population, Brazil. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 13, p. 1571-3, 2007.

GUSMÃO, R. H.; MASCARENHAS, J. D.; GABBAY, Y. B.; LINS-LAINSON, Z.; RAMOS, F. L.; MONTEIRO, T. A.; VALENTE, S. A.; LINHARES, A. C. Rotaviruses as a cause of nosocomial, infantile diarrhoea in northern Brazil: pilot study. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 90, n. 6, p. 743-9, 1995.

GUTIÉRREZ-GIMENO, M. V.; MARTIN-MORENO, J. M.; DÍEZ-DOMINGO, J.; ASENSI-BOTET, F.; HERNÁNDEZ-MARCO, R.; CORRECHER-MEDINA, P.; SÁNCHEZ-FAUQUIER, A. Nosocomial rotavirus gastroenteritis in Spain: a multicenter prospective study. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 29, p. 23-7, 2010.

HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic. Acids. Symp. Ser.**, v. 41: p. 95-8, 1999.

HASING, M.E.; TRUEBA, G.; BAQUERO, M.I.; PONCE, K.; CEVALLOS, W.; SOLBERG, O.D. EISENBERG, J.N. Rapid changes in rotaviral genotypes in Ecuador. **J. Med. Virol.**, v. 81, n. 12, p. 2109-13, 2009.

HEDBERG, C. W.; OSTERHOLM, M. T. Outbreaks of food-borne and waterborne viral gastroenteritis. **J. Clin. Microbiol.**, v. 6, p. 199-210, 1993.

HERRING, A. J.; INGLES, N. F.; OJEN, 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.**, v. 16, p. 473-7, 1982.

HO, M. S.; GLASS, R. I.; PENBKY, P. F.; ANDEUSON, L. Rotavirus as a cause of diarrheal morbidity and mortality in the United States. **J. Infect. Dis.**, v. 158, p. 1112-6, 1988.

HODES, H.L. Viral gastroenteritis. **Am. J. Dis. Child.**, v. 131, p. 729-31, 1977.

HONG, S. K.; LEE, S. G.; LEE, S. A.; KANG, J. H.; LEE, J. H.; KIM, J. H.; KIM, D. S.; KIM, H. M.; JANG, Y. T.; MA, S. H.; KIM, S. Y.; PAIK, S. Y. Characterization of a G11,P[4] strain of human rotavirus isolated in South Korea. **J. Clin. Microbiol.**, v. 45, p. 3759-61, 2007.

HONMA, S.; CHIZHIKOV, V.; SANTOS, N.; TATSUMI, M.; TIMENETSKY, M. do C.; LINHARES, A. C.; MASCARENHAS, J. D.; USHIJIMA, H.; ARMAH, G. E.; GENTSCH, J. R.; HOSHINO, Y. Development and validation of DNA microarray for genotyping group A rotavirus VP4 (P[4], P[6], P[8], P[9], and P[14]) and VP7(G1 to G6, G8 to G10, and G12) genes. **J. Clin. Microbiol.**, v. 45, p. 2641-8, 2007.

HOSHINO, Y.; KAPIKIAN, A.Z. Rotavirus serotypes: classification and importance in epidemiology, immunity, and vaccine development. **J. Health Popul. Nutr.**, v. 18, n. 1, p. 5-14, 2000.

HOSHINO, Y.; KAPIKIAN, A. Z. Rotavirus antigens. In: RAMING, R.F. ed. Rotaviruses. **Berlin: Springer - Verlag**, p.180-227, 1994a.

HOSHINO, Y.; KAPIKIAN, A. Z. Rotavirus vaccine development for the prevention of severe diarrhea in infant and young children. **Trends Microbiol.**, v. 2, p. 242-9, 1994b.

HOSHINO, Y.; SERENO, M.; MIDTHUN, K.; FLORES, J.; KAPIKIAN, A. Z.; CHANOCK, R.M. Independent segregation of two antigenic specificities (VP3 and VP7) involved in neutralization of rotavirus infectivity. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 82, p. 8701-4, 1985.

HUA, J.; CHEN, X.; PATTON, J. T. Deletion mapping of the rotavirus metalloprotein NS53 (NSP1): the conserved cysteine-rich region is essential for virus-specific RNA binding. **J. Virol.**, v. 68, n. 6, p. 3990-4000, 1994.

HUNG, T.; CHEN, G.; WANG, C.; YAO, H.; FANG, Z.; CHAO, T.; CHOU, Z.; YE, W.; CHANG, X.; DEN, S.; LIONG, X.; CHANG, W. Waterborne outbreak of rotavirus diarrhea in adults in China caused by a novel rotavirus. **Lancet**, v. 1, p. 1139 - 42, 1984.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ E CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA "Professor Alexandre Vranjac". Diarréia e Rotavírus. **Rev. Saude Públ. São Paulo**, v. 38, p. 844-5, 2004.

ISHAK, R.; LINHARES, A. C.; GABBAY, Y.; ISHAK, M. O. G.; CARDOSO, D. D. P. Soroepidemiologia de rotavírus em uma população infantil, Goiânia, Goiás, Brasil. **Rev. Inst. Med. Trop.**, v. 26, p. 280-4, 1984.

ITURRIZA-GÓMARA, M.; ISHERWOOD, B.; DESSELBERGER, U.; GRAY, J. Reassortment *in vivo*: driving for diversity of human rotavirus strains isolated in the United Kingdom between 1995 and 1999. **J. Virol.**, v. 75, p. 3696-3705, 2001.

ITURRIZA-GÓMARA, M.; WONG, C.; BLOME, S.; DESSELBERGER, U.; GRAY, J. Molecular characterization of VP6 genes of human rotavirus isolates: correlation of genogroups with subgroups and evidence of independent segregation. **J. Virol.**, v. 76, p. 6596-601, 2002.

JIANG, B.; DENNEHY, P. H.; SPANGENBERGER, S.; GENTSCH, J. R.; GLASS, R. I. First detection of group C rotavirus in fecal specimens of children with diarrhea in the United States. **J. Infect. Dis.**, v. 172, p. 45-50, 1995.

JIN, Q.; WARD, R. L.; KNOWLTON, D. R.; GABBAY, Y. B.; LINHARES, A. C. RAPPAPORT, R.; WOODS, P. A.; GLASS, R. I.; GENTSCH, J.R. Divergence of VP7 genes of G1 rotaviruses isolated from infants vaccinated with reassortant rhesus rotaviruses. **Arch. Virol.**, v. 141, p. 2057-76, 1996.

KALICA, A. R.; SERENO, M. M.; WYATT, R. G.; MEBUS, C. A.; CHANOCK, R. M.; KAPIKIAN, A. Z. Comparison of human and animal rotavirus strains by gel electrophoresis of viral RNA. **Virology**, v. 87, p. 247-55, 1978.

KALICA, A. R.; PURCELL, R. H.; SEREWNO, M. M.; WYATT, R. G.; KIM, H. W.; CHANOCK, R. M.; KAPIKIAN, A. Z. A microtiter solid phase radioimmunoassay for detection of the human reovirus-like agent in stools. **J. Immunol.**, v. 118, p. 1275-9, 1977.

KANE, E. M.; TURCIOS, R. M.; ARVAY, M. L.; GARCIA, S.; BRESEE, J. S.; GLASS, R. I. The epidemiology of rotavirus diarrhea in Latin America. Anticipating rotavirus vaccines. **Rev. Panam. Salud. Publica**, v. 16, n. 6, p. 371-7, 2004.

KAPAHNKE, R.; RAPPOLD, W.; DESSELBERGER, U.; RIESNER, D. The stiffness of dsRNA: hydrodynamic studies on fluorescence-labelled RNA segments of bovine rotavirus. **Nucleic. Acids. Res.**, v. 14, p. 3215-28, 1986.

KAPIKIAN, A. Z.; HOSHINO, Y.; CHANOCK, R. M. Rotaviruses. In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, editors. **Fields Virology**. 4th. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; p.1787-833, 2001.

KAPIKIAN, A.Z.; HOSHINO, Y. To serotype or not to serotype: that is still the question. **Infect. Dis.**, 195:611-4, 2007.

KAPIKIAN, A. Z.; SIMONSEN, L.; VESIKARI, T.; HOSHINO, Y.; MORENS, D. M.; CHANOCK, R. M. A hexavalent human rotavirus-bovine rotavirus (UK) reassortant vaccine designed for use in developing countries and delivered in a schedule with the potential to eliminate the risk of intussusception. **J. Infect. Dis.**, v. 192, p. S22-9, 2005.

KAPIKIAN, A. Z.; HOSHINO, Y.; CHANOCK, R. M.; PEREZ-SCHAEL, I. Jennerian and modified Jennerian approach to vaccination against rotavirus diarrhea using a quadrivalent rhesus rotavirus (RRV) and human-RRV reassortant vaccine. **Arch. Virol.**, v. 12, p. 163-75, 1996.

KAPIKIAN, A. Z., WYATT, R. G., DOLIN, R., THORNHILL, T. S., KALICA, A. R.; CHANOCK, R. M. Visualization by immune electron microscopy of a 27 nm particle associated with acute infections nonbacterial gastroenteritis. **J. Virol.**, v. 10, p. 1075-81, 1972.

KIRKWOOD, C. D.; BONIFACE, K.; BISHOP, R. F.; BARNES, G. L.; Australian Rotavirus Surveillance Group Australian Rotavirus Surveillance Program annual report, 2008/2009. Kirkwood. **Commun. Dis. Intell.**, v. 33, n. 4, p. 382-8, 2009.

KIRKWOOD, C. D.; BOGDANOVIC-SAKRAN, N.; CLARK, R.; MASENDY CZ, P.; BISHOP, R.; BARNES, G. Report of the Australian Rotavirus Surveillance Program, 2001/2002. **Commun. Dis. Intell.**, v. 26, n. 4, p. 537-40, 2002.

KOBAYASHI, N.; NAIK T. N.; KUSUHARA, Y.; KRISHNAN, T.; SEN, A.; BHATTACHARYA, S. K.; TANIGUCHI, K.; ALAM, M. M.; URASAWA, T.; URASAWA, S. Sequence analysis of genes encoding structural and nonstructural proteins of a human group B rotavirus detected in Calcutta, India. **J. Med. Virol.**, v. 64, n. 4, 4. P. 583-8, 2001.

KOOPMAN, J. S.; MONTO, A. S.; LONGINI, I. M. Jr. The Tecumesh study: family and community sources of rotavirus infection. **Am. J. of Epidemiol.**, v. 130, p. 760-8, 1989.

KOSEK, M.; BERN, C.; GUERRANT, R. L. The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. **Bull. W.H.O.**, v. 81, p. 197-204, 2003.

KRISHNAN, T.; SEN, A.; CHOUDHURY, J. S.; DAS, S.; NAIK, T. N.; BHATTACHARYA, S. K. Emergence of adult diarrhoea rotavirus in Calcutta, India. **Lancet**, v. 353, p. 380-1, 1999.

LANATA, C. F.; FRANCO, M. Nitazoxanide for rotavirus diarrhoea? **Lancet**, v. 368, p. 100-1, 2006.

LANZIERI, T. M.; COSTA, I.; SHAFI, F. A.; CUNHA, M. H.; ORTEGA-BARRIA, E.; LINHARES, A. C.; COLINDRES, R. E. Trends in hospitalizations from all-cause gastroenteritis in children younger than 5 years of age in Brazil before and after human rotavirus vaccine introduction, 1998-2007. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 29, n. 7, p. 673-5, 2010.

LARRALDE, G.; LI, B. G.; KAPIKIAN, A. Z.; GORZIGLIA, M. Serotype-specific epitope(s) present on the VP8 subunit of rotavirus VP4 protein. **J. Virol.**, v. 65, p. 3213-8, 1991.

LAWTON, J. A.; ZENG, C. Q.; MUKHERJEE, S. K.; COHEN, J.; ESTES, M. K.; PRASAD, B. V. Three-dimensional structural analysis of recombinant rotaviruslike particles with intact and amino-terminal-deleted VP2: implications for the architecture of the VP2 capsid layer. **J. Virol.**, v. 71, p. 7353-60, 1997.

LE BARON, C. W.; FURUTAN, N. P.; LEW, J. F.; ALLEN, J. R.; GOUVEA, V.; MOE, C.;

MONROE, S. S. Viral agents of gastroenteritis. **M.M.W.R.**, v. 39, p. 1-24, 1990.

LEITE, J. P. G.; CARVALHO-COSTA, F. A.; LINHARES, A. C. Group A rotavirus genotypes and the ongoing Brazilian experience: a review. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 103, p. 745-53, 2008.

LEITE, J. P. G.; ALFIERI, A. A.; WOODS, P. A.; GLASS, R. I.; GENTSCH, J. R. Rotavirus G and P types circulating in Brazil: characterization by RT-PCR, probe hybridization, and sequence analysis. **Arch. Virol.**, v. 141, p. 2365-74, 1996.

LEVETT, P. N.; GU, M.; LUAN, B.; FEARON, M.; STUBBERFIELD, J.; JAMUSON, F.; PETRIC, M. Longitudinal study of molecular epidemiology of small round structured viruses in a pediatric population. **J. Clin. Microbiol.**, v. 34, p. 1497-501, 1996.

LI, Z.; BAKER, M. L.; JIANG, W.; ESTES, M. K.; PRASAD, B. V. Rotavirus architecture at subnanometer resolution. **J. Virol.**, v. 83, n. 4, p. 1754-66, 2009.

LI, B.; CLARK, H. F.; GOUVEA, V. Nucleotide sequence of the VP4 - encoding gene of an unusual human rotavirus (HCR 3). **Virology**, v. 196, p. 825-30, 1993.

LIGHT, J. S.; HODES, H. L. Studies on epidemic diarrhea of the newborn: isolation of a filtrable agent causing diarrhea in calves. **Am. J. Public Health.**, v. 33, p. 1451 - 4, 1943.

LINHARES, A. C.; BREESE, J. S. Rotavirus vaccines and vaccination in Latin America. **Rev. Panam. Salud Publica**, v. 8, p. 305-31, 2000.

LINHARES, A. C.; MASCARENHAS, J. D.; GUSMÃO, R. H.; GABBAY, Y. B.; FIALHO, A. M.; LEITE, J. P. G. Neonatal rotavirus infection in Belém, northern Brazil: nosocomial transmission of a P[6] G2 strain. **J. Med. Virol.**, v. 67, p. 418-26, 2002.

LINHARES, A. C.; RUIZ-PALACIOS, G. M.; GUERRERO, M. L.; SALINAS, B.; PEREZ-SCHAEEL, I.; CLEMENS, A. S. A short report on highlights of world-wide development of RIX4414: a Latin American experience. **Vaccine**, v. 24, n. 18, p. 3784-5, 2006a.

LINHARES, A. C.; VERSTRAETEN, T.; WOLLESWINKEL-VAN DEN BOSCH, J.; CLEMENS, R.; BREWER, T. Rotavirus serotype G9 is associated with more-severe disease in Latin America. **Clin. Infect. Dis.**, v. 43, n. 3, p. 312-4, 2006b.

LINHARES, A.C. Rotavirus infection in Brazil: epidemiology and challenges for its control. **Cad. Saúde. Publica**, v. 16, p. 629-46, 2000.

LINHARES, A. C.; FERREIRA, F. S.; MAUES, B. C.; BENCHIMOL, J. A.; GABBAY, Y. B. Prevalência de anticorpos para rotavírus em crianças diarreicas de Belém, Brasil. **Rev. Fundação.SESP**, v. 28, p. 95-105, 1983.

LINHARES, A. C.; GABBAY, Y. B.; MASCARENHAS, J. D. P.; FREITAS, R. B.; FLEWETT, T. H.; BEARDS, G. M. Epidemiology of rotavirus subgroups and serotypes in Belem, Brazil: a three-year study. **Ann. Inst. Pasteur Virol.**, v. 139, p. 89-99, 1988.

LINHARES, A. C.; PINHEIRO, F. P.; FREITAS, R. B.; GABBAY, Y. B.; SHIRLEY, J. A.; BEARDS, G. M. An outbreak of rotavirus diarrhea among a nonimmune, isolated South American indian community. **Am. J. Epidemiol.**, v. 113, p. 703-10, 1981.

LINHARES, A. C.; PINHEIRO, F. P.; SCHMETZ, C.; MULLER, G.; PETERS, D. Duovírus (rotavírus) em Belém do Pará, Brasil. **Rev. Inst. Med. Trop.**, v. 19, p. 278-9, 1977.

LINHARES, A. C.; GABBAY, Y. B.; FREITAS, R. B.; TRAVASSOS DA ROSA, E. S.; MASCARENHAS, J. D.; LOUREIRO, E. C. B. Longitudinal study of rotavirus infections among children from Belém, Brazil. **Epidemiol. Infect.**, v. 102, p. 129-44, 1989.

LINHARES, A. C.; GABBAY, Y. B.; MASCARENHAS, J. D.; DE FREITAS, R. B.; OLIVEIRA, C. S.; BELLESI, N.; MONTEIRO, T. A.; LINS-LAINSON, Z.; RAMOS, F. L.; VALENTE, S. A. Immunogenicity, safety and efficacy of rhesus-human, reassortant rotavirus vaccine in Belém, Brazil. **Bull W.H.O.**, v.74, p. 491-500, 1996.

LIU, M.; MATTION, N. M.; ESTES, M. K. Rotavirus VP3 expressed in insect cells possesses guanylyltransferase activity. **Virology**, v. 188, p. 77-84, 1992.

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. Inst. Pasteur**, v. 132, p. 161 - 73, 1981.

LUCHS, A.; MORILLO, S. G.; KISIELIUS, J. J.; UEDA, M.; CARMONA, R. C.; TIMENETSKY, M. C. Group C rotavirus, detection in Southeastern Brazil after 15 years. **J. Clin. Virol.**, v. 46, p. 389-90, 2009.

LUNDGREN, O.; SVENSSON, L. Pathogenesis of rotavirus diarrhea. **Microbes. Infect.**, v. 3, p. 1145-56, 2001.

LUNDGREN, O.; TIMAR-PEREGRIN, A.; PERSSON, K.; KORDASTI, S.; UHNOO, I.; SVENSSON, L. Role of the enteric nervous system in the fluid and electrolyte secretion of rotavirus diarrhea. **Science**, v. 287, p. 491-5, 2000.

LUZ, C. R.; MASCARENHAS, J. D.; GABBAY, Y. B.; MOTTA, A. R.; LIMA, T. V.; SOARES, L. DA S.; LINHARES, A. C. Rotavirus serotypes and electropherotypes identified among hospitalised children in São Luís, Maranhão, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop.**, v. 47, n. 5, p. 287-93, 2005.

MACEDO, C. I.; CHRISTOFOLETTI, A.; MUNFORD, V.; RÁCZ, M. L. G and P rotavirus genotypes in stool samples from children in Teresina, State of Piauí. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 40, n.4, p. 381-4, 2007.

MARTINI, I. J.; GENNARI, G. M.; MARTINS, S. S.; GOUVÊA, V. S.; GATTI, M. S. Changing distribution of human rotavirus serotypes during two epidemic outbreaks of gastroenteritis in Campinas, São Paulo, Brazil, 2003-2004: detection of G6 strains. **J. Clin. Virol.**, v. 43, p. 244-6, 2008.

MASCARENHAS, J. D. P.; LIMA, C.S.; DE OLIVEIRA, D. S.; GUERRA, S. DE F.; MAESTRI, R. P.; GABBAY, Y. B.; DE LIMA, I. C.; DE MENEZES, E. M.; LINHARES, A. C.; BENSABATH, G. Identification of two sublineages of genotype G2 rotavirus among diarrheic children in Parauapebas, Southern Pará State, Brazil. **J. Med. Virol.**, v. 82, n. 4, p. 712-9, 2010.

MASCARENHAS, J. D. P.; LINHARES, A. C.; GABBAY, Y. B.; LEITE, J. D. P. Detection and characterization of rotavirus G and P types from children participating in a rotavirus vaccine trial in Belém, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 113-7, 2002.

MASENDY CZ, P.; BOGDANOVIC-SAKRAN, N.; PALOMBO, E.; BISHOP, R.; BARNES G. Annual report of the rotavirus surveillance program, 1999/2000. **Commun. Dis. Intell.**, v. 24, p. 195-8, 2000.

MATSUI, S. M.; OFFIT, P. A.; VO, P. T.; MACKOW, E. R.; BENFIELD, D. A.; SHAW, R.

D.;PADILLA, N. L.; GREENBERG, H. B. Passive protection against rotavirus-induced diarrhea by monoclonal antibodies to the heterotypic neutralization domain of VP7 and VP8 fragment of VP4. **J. of Clin. Microbiol.**, v. 27, p. 780-2, 1989.

MATSUNO, S.; UTAGAWA, E.; SUGIURA, A. Association of rotavirus infection with Kawasaki syndrome. **J. Infect. Dis.**, v. 148, n. 1, p. 177, 1983.

MATTHEWS, R. E. F. The classification and nomenclature of viruses: summary of results of meeting of the International Committee on Taxonomy of Viruses, The Hague. Sep. 1978. **Intervirology**, v. 11, p. 133-5, 1979.

MATTHIJNSSENS, J.; CIARLET, M.; RAHMAN, M.; ATTOUI, H.; BANYAI, K.; ESTES, M.; GENTSCH, J. R.; ITURRIZA-GOMARA, M.; KIRKWOOD, C. D.; MARTELLA, V.; MERTENS, P. P. C.; NAKAGOMI, O.; PATTON, J. T.; RUGGERI F. M.; SAIF, L. J.; SANTOS, N.; STEYER, A.; TANIGUCHI, K.; DESSELBERGER, V.; RANST, M. V. Recommendation for the classification of group A rotaviruses using all 11 genomic RNA segments. **Arch. Virol.**, v. 153, p. 1621-9, 2008a.

MATTHIJNSSENS, J.; CIARLET, M.; HEIMAN, E.; ARIJS, I.; DELBEKE, T.; MCDONALD, S. M.; PALOMBO, E. A.; ITURRIZA-GÓMARA, M.; MAES, P.; PATTON, J. T.; RAHMAN, M.; VAN RANST, M. Full genome-based classification of rotaviruses reveals a common origin between human Wa-Like and porcine rotavirus strains and human DS-1-like and bovine rotavirus strains. **J. Virol.**, v. 82, 3204-19, 2008b.

MATTION, N. M.; MITCHELL, D. B.; BOTH, G. W.; ESTES M. K. Expression of rotavirus proteins encoded by alternative open reading frames of genome segment 11. **Virology**, v. 181, p. 295-304, 1991.

MAUNULA, L.; VON BONSDORFF, C. H. Frequent reassortments may explain the genetic heterogeneity of rotaviruses: analysis of Finnish rotavirus strains. **J. Virol.**, v. 76, n. 23, p. 11793-800, 2002.

MAUNULA, L.; VON BONSDORFF, C. H. Short sequences define genetic lineages: phylogenetic analysis of group A rotaviruses based on partial sequences of genome segments 4 and 9. **J. Gen. Virol.**, v. 79, n. 2, p. 321-32, 1998.

MEBUS, C. A.; UNDERDAHL, N.R.; RHODES, M.B.; TWIEHAUS, M.J. Calf diarrhea (scours) reproduced with a virus from a field outbreak. **Nebraska Agric. Exp. St. Bull.**, v. 233, p. 1-16, 1969.

MIDTHUN, K.; KAPIKIAN, A. Z. Rotavirus Vaccines: an Overview. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 9, p. 423-34, 1996.

MIKAMI, T.; NAKAGOMI, T.; TSUTSUI, R.; ISHIKAWA, K.; ONODERA, Y.; ARISAWA, K.; NAKAGOMI, O; An outbreak of gastroenteritis during school trip caused by serotype G2 group A rotavirus. **J. Med. Virol.**, v. 73, n. 3, p. 460-4, 2004.

MOGILNER, B. M., SHANON, A. Necrotizing enterocolitis--a 5-year experience. **Isr. J. Med. Sci.**, v. 19, n. 11, p. 982-3, 1983.

MONTENEGRO, F. M.; CORREIA, J. B.; RODRIGUES FALBO, A.; DOVE, W.; NAKAGOMI, T.; NAKAGOMI, O.; CUEVAS, L. E.; CUNLIFFE, N. A.; HART, C. A. Anticipating rotavirus vaccines in Brazil: detection and molecular characterization of emerging rotavirus serotypes G8 and G9 among children with diarrhoea in Recife, Brazil. **J. Med. Virol.**, v. 79, n. 3, p. 335-40, 2007.

MOREIRA, L. L.; NETTO, E. M.; NASCIMENTO-CARVALHO, C. M. Risk factors for nosocomial rotavirus infection in a paediatric hospital: the potential role for rotavirus vaccine use. **Vaccine**, v. 27, n. 3, p. 416-20, 2009.

MOULTON, L. H.; STAAT, M. A.; SANTOSHAM, M.; WARD, R. L. The protective effectiveness of natural rotavirus infection in an American Indian population. **J. Infect. Dis.**, v. 178, n. 6, p. 1562-6, 1998.

MRUKOWICZ, J.; SZAJEWSKA, H.; VESIKARI, T. Options for the prevention of rotavirus disease other than vaccination. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v. 46, p. S32-7, 2008.

MUNFORD, V.; SOUZA, E. C.; CARUZO, T. A. R.; MARTINEZ, M. B.; RÁCZ, M. L. Serological and molecular diversity of human rotavirus in São Paulo, Brazil. **Braz. J. Microbiol.**, v. 38, n. 3, p. 459-66, 2007.

MUNFORD, V.; GILIO, A. E.; DE SOUZA, E. C.; CARDOSO, D. M.; CARDOSO D. D.; BORGES, A. M.; COSTA, P. S.; MELGAÇO, I. A.; ROSA, H.; CARVALHO, P. R.; GOLDANI, M. Z.; MOREIRA, E. D. JR.; SANTANA, C.; EL KHOURY, A.; IKEDO, F.; RÁCZ, M. L. Rotavirus gastroenteritis in children in 4 regions in Brazil: a hospital-based surveillance study. **J. Infect. Dis.**, v. 200, p. S106-13, 2009.

MUNOS, M. K.; WALKER, C. L.; BLACK, R. E. The effect of rotavirus vaccine on diarrhoea mortality. **Int. J. Epidemiol.**, v. 39, p. i56-62, 2010.

MURPHY, T. V.; GARGIULLO, P. M.; MASSOUDI, M. S.; NELSON, D. B.; JUMAAN, A. O.; OKORO, C. A.; ZANARDI, L. R.; SETIA, S.; FAIR, E. L.; LEBARON, C.W.; SCHWARTZ, B.; WHARTON, M.; LIVINGOOD, J. R. Intussusception among infants given an oral rotavirus vaccine. **New Engl. J. Med.**, v. 344, n. 8, p. 564-72, 2001.

NAGESHA, H. S.; HUANG, J.; HUM, C. P.; HOLMES, I. H. A porcine rotavirus strains with dual VP7 serotype specificity. **Virology**, v. 175, p. 319-22, 1990.

NAKAGOMI, T.; AKATANI, K.; IKEGAMI, N.; KATSUSHIMA, N.; NAKAGOMI, O. Occurrence of changes in human rotavirus serotypes with concurrent changes in genomic RNA electropherotypes. **J Clin Microbiol.**, v. 26, n. 12:2586-92, 1988.

NAKAGOMI, O.; NAKAGOMI, T. Molecular evidence for naturally occurring single VP7 gene substitution reassortant between human rotaviruses belonging to two different genogroups. **Arch. Virol.**; v. 119, p. 67-81, 1991.

NAKAGOMI, O.; NAKAGOMI, T. Interspecies transmission of rotaviruses studied from the perspective of genogroup. **Microbiol. Immunol.**, v. 37, p. 337-48, 1993.

NAKAGOMI, T.; CUEVAS, L. E.; GURGEL, R. G.; ELROKHSI, S. H.; BELKHIR Y.A.; ABUGALIA, M.; DOVE, W.; MONTENEGRO, F. M.; CORREIA, J. B.; NAKAGOMI, O.; CUNLIFFE, N. A.; HART, C. A. Apparent extinction of non-G2 rotavirus strains from circulation in Recife, Brazil, after the introduction of rotavirus vaccine. **Arch. Virol.**, v. 153, n. 3, p. 591-3, 2008.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. [GenBank](http://www.ncbi.nlm.nih.gov) [database]. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>>. Acesso em: 07 jan 2010.

NEWBURG, D. S.; PETERSON, J. A.; RUIZ-PALACIOS, G. M.; MATSON, D. O.; MORROW, A. L.; SHULTS, J.; GUERRERO, M. L.; CHATURVEDI, P.; NEWBURG, S. O.; SCALLAN, C. D.; TAYLOR, M. R.; CERIANI, R. L.; ICKERING, L. K. Role of human-milk lactadherin in protection against symptomatic rotavirus infection. **Lancet**, v. 351, n. 9110, p. 1160-4, 1998.

NICOLAS, J. C.; INGRAND, D.; FORTIER, B.; BRICOUT, F. A one-year virological survey of acute intussusception in childhood. **J. Med. Virol.**, v. 9, n. 4, p. 267-71, 1982.

NUNES, A. A.; DE MELLO, L. M.; PARRO DE, R. N.; BITTAR, J. P.; DOMINGUES, A. L. Prevalence of Rotavirus in Acute Diarrhea and its Association with Clinical Signs and Symptoms. **J. Trop. Pediatr.**, v. 56, n. 3, p. 212-3, 2009.

OFFIT, P. A.; BLAVAT, G. Identification of the two rotavirus genes determining neutralization specificities. **J. Virol.**, v. 57, p. 376-8, 1986.

OFFIT, P. A.; CLARK, H. F. Protection against rotavirus-induced gastroenteritis in a murine model by passively acquired gastroenintestinal but not circulating antibodies. **J. Virol.**, v. 54, p. 58-64, 1985.

OFFIT, P. A.; HOFFENBERG, E. J.; SANTOS, N.; GOUVEA, V. Rotavirus-specific humoral and cellular immune responses after primary, symptomatic infection. **J. Infect. Dis.**, v. 167, p. 1436-40, 1993.

O'RYAN, M.; PEREZ-SCHAEL, I.; MAMANI, N.; PENA, A.; SALINAS, B.; GONZALEZ, G.; MATSON, D. O.; GÓMEZ, J. Rotavirus-associated medical visits and hospitalizations in South America: a prospective study at three large sentinel hospitals. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 20, p. 685-93, 2001.

PALOMBO, E. A. Genetic analysis of Group A rotaviruses: evidence for interspecies transmission of rotavirus genes. **Virus Genes**, v. 24, p. 11-20, 2002.

PARASHAR, U. D.; BRESEE, J. S.; GLASS, R. I. The global burden of diarrhoeal disease in children. **Bull W.H.O.**, v. 81, p. 236, 2003.

PARASHAR, U. D.; GIBSON, C. J.; BRESEE, J. S.; GLASS, R. I. Rotavirus and severe childhood diarrhea. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 12, p. 304-6, 2006.

PARRA, G. I.; ESPÍNOLA, E. E.; AMARILLA, A. A.; STUPKA, J.; MARTINEZ, M.; ZUNINI, M.; GALEANO, M. E.; GOMES, K.; RUSSOMANDO, G.; ARBIZA, J. Diversity of group A rotavirus strains circulating in Paraguay from 2002 to 2005: detection of an atypical G1 in South America. **J. Clin. Virol.**, v. 40, n. 2, p. 135-41, 2007.

PARRA, G. I.; BOK, K.; MARTÍNEZ, V.; RUSSOMANDO, G.; GÓMEZ, J. Molecular

characterization and genetic variation of the VP7 gene of human rotaviruses isolated in Paraguay. **J. Med. Virol.**, v. 77, n. 4, p. 579-86, 2005.

PATTON, J. T., SILVESTRI, L. S.; TORTORICI, M. A.; VASQUEZ-DEL CARPIO, R.; TARAPOREWALA, Z. F. Rotavirus genome replication and morphogenesis: role of the viroplasm. **Curr. Top. Microbiol. Immunol.**, v. 309, p. 169-87, 2006.

PATTON, J. T., JONES, M. T.; KALBACH, A. N.; HE, Y. W.; XIAOBO, J. Rotavirus RNA polymerase requires the core shell protein to synthesize the double-stranded RNA genome. **J. Virol.**, v. 71, p. 9618-26, 1997.

PATTON, J. T. Synthesis of simian rotavirus SA11 double-strand RNA in a cell free system. **Virus Res.**, v. 6, p. 217-33, 1986.

PAULKE-KORINEK, M.; RENDI-WAGNER, P.; KUNDI, M.; KRONIK, R.; KOLLARITSCH, H. Universal mass vaccination against rotavirus gastroenteritis: impact on hospitalization rates in austrian children. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 29, n. 4, p. 319-23, 2010.

PEÑARANDA, M. E.; CUBITT, W. D.; SINARACHATANANT, P.; TAYLOR, D. N.; LIKANONSAKUL, S.; SAIF, L.; GLASS, R. I. Group C rotavirus infections in patients with diarrhea in Thailand, Nepal, and England. **J. Infect. Dis.**, v. 160, p. 392-7, 1989.

PEREIRA, H. G.; AZEREDO, R. S.; LEITE, J. P. G.; CANDEIAS, J. A. N.; RÁCZ, M. L.; LINHARES, A. C.; GABBAY, Y. B.; TRABULSI, L. R. Electrophoretic study of the genome of human rotaviruses from Rio de Janeiro, São Paulo and Pará, Brazil. **J. Hyg. Camb.**, v. 90, p. 117-25, 1983a.

PEREIRA, H. G.; AZEREDO, R. S.; SUTMOLLER, F.; LEITA, J. P. G.; FARIAS, U. de; BARTH, O.M.; VIDAL, M.N.P. Comparasion of polyacrilamide gel electrophoreses (PAGE), immuno-electron microscopy (IEM) and enzyme immunoassay (EIA) for the rapid diagnosis of rotavirus infection in children. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 78, p. 483-90, 1983b.

PEREIRA, H. G.; AZEREDO, R. S.; LEITE, J. P. G.; ANDRADE, Z. P.; DE CASTRO, L. A combined enzyme immunoassay for rotavirus and adenovirus (EIARA). **J. Virol. Methods.**, v. 10, p. 21-8, 1985.

PEREIRA, H. G.; LINHARES, A. C.; CANDEIAS, J. A. N.; GLASS, R.I. National laboratory surveillance of viral agents of gastroenteritis in Brazil: **Bull. Pan. Am. Health Organ.**, v. 27, p. 224-33, 1993.

PESAVENTO, J. B.; CRAWFORD, S. E.; ESTES, M. K.; PRASAD, B. V. Rotavirus proteins: structure and assembly. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, v. 309, p. 189-219, 2006.

PHAN, T. G.; OKITSU, S.; MANEEKARN, N.; USHIJIMA, H. Evidence of intragenic recombination in G1 rotavirus VP7 genes. **J. Virol.**, v. 81, n.18, p. 10188-94, 2007.

PHAN, T. G.; NISHIMURA, S.; OKAME, M.; NGUYEN, T. A.; KHAMRIN, P.; OKITSU, S.; MANEEKARN, N.; USHIJIMA, H. Virus diversity and an outbreak of group C rotavirus among infants and children with diarrhea in Maizuru city, Japan during 2002-2003. **J. Med. Virol.**, v. 74, n. 1, p. 173-9, 2004.

PICKERING, L. K.; BARTLETT, A. V.; REVES, R. R.; MORROW, A. Assymptomatic excretion of rotavirus before and after rotavirus diarrhea in children in day care center. **J. Pediatr.**, v. 112, p. 361-5, 1988.

PIETRUCHINSKI, E.; BENATI, F.; LAURETTI, F.; KISIELIUS, J.; UEDA, M.; VOLOTÃO, E. M.; SOARES, C. C.; HOSHINO, Y.; LINHARES, R. E.; NOZAWA, C.; SANTOS, N. Rotavirus diarrhea in children and adults in a southern city of Brazil in 2003: distribution of G/P types and finding of a rare G12 strain. **J. Med. Virol.**, v. 78, p. 1241-9, 2006.

PIETSCH, C.; LIEBERT, U. G. Human infection with G12 rotaviruses, Germany. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 15, n. 9, p. 1512-5, 2009.

PODKOLZIN, A. T.; FENSKE, E. B.; ABRAMYCHEVA, N. Y.; SHIPULIN, G. A.; SAGALOVA, O. I.; MAZEPA, V. N.; IVANOVA, G. N.; SEMENA, A. V.; TAGIROVA, Z. G.; ALEKSEEVA, M. N.; MOLOCHNY, V. P.; PARASHAR, U. D.; VINJÉ, J.; MALEEV, V. V.; GLASS, R. I.; POKROVSKY, V. I. Hospital-based surveillance of rotavirus and other viral agents of diarrhea in children and adults in Russia, 2005-2007. **J. Infect. Dis.**, v. 1, p. S228-33, 2009.

POSADA, D.; CRANDALL, K. A. Modeltest: testing the model of DNA substitution. **Bioinformatics**, v. 14, n. 9, p. 817-8, 1998.

PRASAD, B. V.; BURNS, J. W.; MARIETTA, E.; ESTES, M. K.; CHIU, W. Localization of VP4 neutralization sites in rotavirus by three-dimensional cryo-electron microscopy. **Nature**, v. 343, p. 476-9, 1990.

PRASAD, B.V.; CHIU, W. Structure of rotavirus. **Curr. Top. Microbiol. Immunol.**, 185:9-29, 1994.

RAHMAN, M.; BANIK, S.; FARUQUE, A. S.; TANIGUCHI, K.; SACK, D. A.; VAN RANST, M.; AZIM, T. Detection and characterization of human group C rotaviruses in Bangladesh. **J. Clin. Microbiol.**, v. 43, p. 4460-5, 2005a.

RAHMAN, M.; MATTHIJNSSENS, J.; NAHAR, S.; PODDER, G.; SACK, D. A.; AZIM, T.; VAN RANST, M. Characterization of a novel P[25], G11 human group a rotavirus. **J. Clin. Microbiol.**, v. 43, p. 3208-12, 2005b.

RAMIG, R. F. Genetics of the rotaviruses. **Annu. Rev. Microbiol.**, v. 51, p. 225-55, 1997.

RAMIG, R. F. Pathogenesis of intestinal and systemic rotavirus infection. **J. Virol.**, v. 78, p. 10213-20, 2004.

RHEINGANS, R. D.; CONSTENLA, D.; ANTIL, L.; INNIS, B. L.; BREUER, T. Potential cost-effectiveness of vaccination for rotavirus gastroenteritis in eight Latin American and Caribbean countries. **Rev. Panam. Salud. Publica**, v. 21, p. 205-16, 2007.

RIBEIRO, L. R.; GIUBERTI, R. S.; BARREIRA, D. M.; SAICK, K. W.; LEITE, J. P. G. MIAGOSTOVICH, M. P.; SPANO, L. C. Hospitalization due to norovirus and genotypes of rotavirus in pediatric patients, state of Espírito Santo. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 2, p. 201-6, 2008.

RICHARDSON, V.; HERNANDEZ-PICHARDO, J.; QUINTANAR-SOLARES, M.; ESPARZA-AGUILAR, M.; JOHNSON, B.; GOMEZ-ALTAMIRANO, C. M.; PARASHAR, U.; PATEL, M. Effect of rotavirus vaccination on death from childhood diarrhea in Mexico. **N. Engl. J. Med.**, v.62, n. 4, p. 299-305, 2010.

RODGER, S. M.; BISHOP, R. F.; HOLMES, I.H. Detection of a rotavirus-like agent associated with diarrhea in an infant. **J. Clin. Microbiol.**, v. 16, p. 724-6, 1982.

ROSA E SILVA M. L.; NAVECA, F. G.; PIRES DE CARVALHO, I. Epidemiological aspects of rotavirus infections in Minas Gerais, Brazil. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 5, n. 4, p. 215-22, 2001.

ROSA E SILVA, M. L.; PIRES DE CARVALHO, I.; GOUVEA, V. 1998-1999 rotavirus seasons in Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil: detection of an unusual G3P[4] epidemic strain. **J. Clin. Microbiol.**, v. 40, n. 8, 2837-42, 2002.

ROSSIGNOL, J. F.; KORBA, B. E.; KABIL, S. M. Nitazoxanide for treatment of severe rotavirus diarrhea: randomized double-blind placebo-controlled trial. **Lancet**, v. 368, p. 124-9, 2006.

RUBILAR-ABREU, E.; HEDLUND, K.O.; SVENSSON, L.; MITTELHOLZER, C. Serotype G9 rotavirus infections in adults in Sweden. **J. Clin. Microbiol.**, v. 43, p. 1374-6, 2005.

RUIZ-PALACIOS, G. M.; PERES-SCHAEEL, I.; VELÁSQUEZ, F. R.; ABATE, H.; BREUER, T.; CLEMENS, S. C.; CHEUVART, B.; ESPINOZA, F.; GILLARD, P.; INNIS, B. L.; CERVANTES, Y.; LINHARES, A. C.; LÓPEZ, P.; MACÍAS-PARRA, M.; ORTEGA-BARRÍA, E.; RICHARDSON, V.; RIVERA-MEDINA, D. M.; RIVERA, L.; SALINAS, B.; PAVÍA-RUZ, N.; SALMERÓN, J.; RÜTTIMANN, R.; TINOCO, J. C.; RUBIO, P.; NUÑEZ, E.; GUERRERO, M. L.; YARZÁBAL, J. P.; DAMASO, S.; TORNIEPORTH, N.; SÁEZ-LLORENS, X.; VERGARA, R.F.; VESIKARI, T.; BOUCKENOOGHE, A.; CLEMENS, R.; DE VOS, B.; O'RYAN, M. Safety and efficacy of an attenuated vaccine against severe rotavirus gastroenteritis. **N. Engl. J. Med.**, v. 354, p. 11-22, 2006.

SAIF, L. J.; JIANG, B. Nongroup A rotaviruses of humans and animals. In: **Rotaviruses**, edited by Ramig, R.F. Berlin: Springer-Verlag, 1994, p. 340-371.

SAITOH, Y.; MATSUNO, S.; MUKOYAMA, A. Exanthem subitum and rotavirus. **N. Engl. J. Med.**, v. 304, n. 14, p. 845, 1981.

SALINAS, B.; GONZALEZ, R.; ESCALONA, M.; MATERAN, M.; SACAEL, I. P. Epidemiological and clinical characteristics of rotavirus disease during Five years of surveillance in Venezuela. **Pediatric. Infect. Dis. J.**, v. 23, p. S161-167, 2004.

SÁNCHEZ-FAUQUIER, A.; ROMAN, E.; COLOMINA, J.; WILHELMI, I.; GLASS, R. I.; JIANG, B. First detection of group C rotavirus in children with acute diarrhea in Spain.

Arch. Virol., v. 148, n. 2, p. 399-404, 2003.

SANGER, F.; NICKLEN, S.; COULSON, A. R. DNA Sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 74, p. 5463-7, 1977.

SANTOS, N.; VOLOTÃO, E. M.; SOARES, C. C.; ALBUQUERQUE, M. C. DA SILVA, F. M.; CHIZHIKOV, V.; HOSHINO, Y. VP7 gene polymorphism of serotype G9 rotavirus strains and its impact on G genotype determination by PCR. **Virus Res.**, v. 90, p. 1-14. Corrected and republished in: **Virus Res.**, v. 93, n. 1, 127-38, 2003.

SANTOS, N.; HONMA, S.; TIMENETSKY, M. DO. C.; LINHARES, A. C.; USHIJIMA, H.; ARMAH, G. E.; GENTSCH, J. R.; HOSHINO, Y. Development of a microtiter plate hybridization-based PCR-enzyme-linked immunosorbent assay for identification of clinically relevant human group A rotavirus G and P genotypes. **J. Clin. Microbiol.**, v. 46, p. 462-9, 2008.

SANTOS, N.; HOSHINO, Y. Global distribution of rotavirus serotypes/genotypes and its implication for the development and implementation of an effective rotavirus vaccine. **Rev. Med. Virol.**, v. 15, p. 29-56, 2005.

SANTOS, N.; LIMA, R. C.; PEREIRA, C. F.; GOUVEA, V. Detection of rotavirus types G8 and G10 among Brazilian children with diarrhea. **J. Clin. Microbiol.**, v. 36, p. 2727-9, 1998.

SANTOS, N.; VOLOTÃO, E. M.; SOARES, C. C.; ALBUQUERQUE, M. C. M.; SILVA, F. M.; CARVALHO, T. R. B.; PEREIRA, C. F. A.; CHIZHIKOV, V.; HOSHINO, Y. Rotavirus strains bearing genotype G9 or P[9] recovered from Brazilian children with diarrhea from 1997 to 1999. **J. Clin. Microbiol.**, v. 39, p. 1157-60, 2001.

SANTOS, N.; VOLOTÃO, E. M.; SOARES, C. C.; CAMPOS, G. S.; SARDI, S. I.; HOSHINO, Y. Predominance of rotavirus genotype G9 during the 1999, 2000 and 2002 seasons among hospitalized children in the city of Salvador, Bahia, Brazil: implications for future vaccine strategies. **J. Clin. Microbiol.**, v. 43, p. 4064-9, 2005.

SANTOS, N.; SOARES, C. C.; VOLOTÃO, E. M.; ALBUQUERQUE, M. C.; HOSHINO, Y. Surveillance of rotavirus strains in Rio de Janeiro, Brazil, from 1997 to 1999. **J. Clin. Microbiol.**, v. 41, n. 7, p. 3399-402, 2003.

SARTORI, A. M.; VALENTIM, J.; SOÁREZ, P. C.; NOVAES, H. M. Rotavirus morbidity and mortality in children in Brazil. **Rev. Panam. Salud. Publica**, v. 23, n. 2, p. 92-100, 2008.

SASTRY, N.; BURGARD, S. The prevalence of diarrheal disease among Brazilian children: Trends and differentials from 1986 to 1996. **Social Science and Medicine**, v. 60, p. 923–35, 2005.

SCHNAGL, R. D.; BONIFACE, K.; CARDWELL, P.; MCCARTHY, D.; ONDRACEK, C.; COULSON, B.; ERLICH, J.; MOREY, F. Incidence of group C human rotavirus in central Australia and sequence variation of the VP7 and VP4 genes. **J. Clin. Microbiol.**, v. 42, p. 2127-33, 2004.

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE. Centro de Vigilância Epidemiológica Prof. “Alexandre Vranjac”. **Investigação de surtos. Normas e Instruções. Manual da Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por água e alimentos**, 2008. Disponível em: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/hidri_surto.htm>. Acesso em 04 de abr 2010.

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE. Centro de Vigilância Epidemiológica Prof. “Alexandre Franjac”, **Informe Técnico. Rotavírus**, 2009. Disponível em: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/hidri_rotavirus.htm>. Acesso em 03 de mar 2010.

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE, Centro de Vigilância Epidemiológica Prof. “Alexandre Franjac”, Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DTHA), 2010. **Dados estatísticos. Surto de doenças transmitidas por alimentos notificados ao CVE.** Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/hidri_estat.html. Acesso em: 03 de março 2010.

SHAW, A. L.; ROTHNAGEL, R.; CHEN, D.; RAMIG, R.F.; CHIU, W. Three-Dimensional Visualization of the Rotavirus Hemagglutinin Structure. **Cell**, v. 74, p. 693-701, 1993.

SMIRNOV, Y. A.; KAPITULETS, S. P.; AMITINA, N. N.; GINEVSKAYA, V. A.; KAVERIN, N. V. Effect of UV-irradiation on rotavirus. **Acta. Virol.**, v. 35, p.1-6, 1991.

SNELLING, T. L.; SCHULTZ, R.; GRAHAM, J.; ROSEBY, R.; BARNES, G. L.;

ANDREWS, R. M.; CARAPETIS, J. R. Rotavirus and the indigenous children of the Australian outback: monovalent vaccine effective in a high-burden setting. **Clin. Infect. Dis.**, v. 49, n. 3, p. 428-31, 2009.

SOUZA, D. F.; KISIELIUS, J. J.; UEDA, M.; GABBAY, Y.B.; CARMONA, R. C.; TIMENETSKY, M. DO C. S. T.; MASCARENHAS, J. D.; TAKIMOTO, S.; TANAKA, H. An outbreak of group C rotavirus gastroenteritis among adults living in Valentim Gentil, São Paulo State, Brazil. **J. Diarrhoeal Dis. Res.**, v. 16, p. 59-65, 1998. Erratum in: **J. Diarrhoeal Dis. Res.**, v. 16, n. 3, 1998.

SOUZA, M. B.; RACZ, M. L.; LEITE, J. P. G.; SOARES, C. M.; MARTINS, R. M.; MUNFORD, V.; CARDOSO, D. D. Molecular and serological characterization of group A rotavirus isolates obtained from hospitalized children in Goiânia, Brazil, 1998-2000. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 22, p. 441-3, 2003.

SOUZA, E. C.; MARTINEZ, M. B.; TADDEI, C. R.; MUKAI, L.; GILIO, A. E.; RACZ, M. L.; SILVA, L.; EJZENBERG, B.; OKAY, Y. Etiologic profile of acute diarrhea in children in São Paulo. **J. Pediatr.**, v. 78, n. 1, p. 31-8, 2002.

STEELE, A. D.; PEENZE, I.; DE BEER, M. C.; PAGER, C. T.; YEATS, J.; POTGIETER, N.; RAMSAROOP, U.; PAGE, N. A.; MITCHELL, J. O.; GEYER, A.; BOS, P.; ALEXANDER, J. J. Anticipating rotavirus vaccines: epidemiology and surveillance of rotavirus in South Africa. **Vaccine**, v. 2, p. 354-60, 2003.

STEWIEN, K. E.; MEHNERT, D. U.; HARSI, C. M.; STEWIEN, E. T. D. M.; CANDEIAS, J. M. G.; TANAKA, K. Serotype and electrophoretotypes of human rotavirus detected in the city of São Luís (MA), Brazil. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 27, p. 1355-61, 1994.

STEYER, A.; POLJSK-PRIJATELJ, M.; BUFON, T.; SEDMAK, M.; VIDMAR, L.; MIJOVSKI, J. Z.; MARIN, J. First detection of group C rotavirus in patients with gastroenteritis in Slovenia. **J. Med. Virol.**, v. 78, p. 1250-5, 2006.

STUMOLLER, F.; AZEREDO, R. S.; LACERDA, M. D.; BARTH, O. M.; PEREIRA, H. G.; HOFFER, E.; SCHATZMAYR, H. G. An outbreak of gastroenteritis caused by both rotavirus and *Shigella sonnei* in private school in Rio de Janeiro. **J. Hygl.**, v. 88, p. 285 - 93, 1982.

SVENSSON, L.; SHESHBERADARAN, H.; VENE, S.; NORRBY, E.; GRANDIEN, M.;

WADELL, G. Serum antibody responses to individual viral polypeptides in human rotavirus infections. **J. Gen. Virol.**, v. 68, p. 643-51, 1987.

SZAJEWSKA, H.; DZIECHCIARZ, P. Gastrointestinal infections in the pediatric population. **Curr. Opin. Gastroenterol.**, v. 26, p. 36-44, 2010.

SZUCS, G.; KENDE, M.; UJ, M. Atypical human rotaviruses in Hungary. **Ann. Inst. Pasteur Virol.**, v. 138, p. 391-5, 1987.

TABASSUM, S.; SHEARS, P.; HART, C. A. Genomic characterization of rotavirus strains obtained from hospitalized children with diarrhoea in Bangladesh. **J. Med. Virol.**, v. 43, p. 50-6, 1994.

TANIGUCHI, K.; URASAWA, S. **Diversity in rotavirus genomes.** In: Seminars in Virology, v. 6, p. 123-31, 1995.

TANIGUCHI, K.; NISHIKAWA, K.; URASAWA, T.; URASAWA, S.; MIDTHUN, K.; KAPIKIAN, A. Z.; GORZIGLIA, M. Complete nucleotide sequence of the gene encoding VP4 of a human rotavirus strain (strain K8) which has unique VP4 neutralization epitopes. **J. Virol.**, v. 63, p. 4101 - 6, 1989.

TANIGUCHI, K. T.; URASAWA, T.; KOBAYASHI, N.; GORZIGLIA, M.; URASAWA, S. Nucleotide sequence of VP4 and VP7 genes of human rotaviruses with subgroup I and long RNA pattern: Implication for new G serotype specificity. **J. Virol.**, v. 64, p. 5640-4, 1990.

TATTE, V. S.; GENTSCH, J. R.; CHITAMBAR, S. D. Characterization of group A rotavirus infections in adolescents and adults from Pune, India: 1993-1996 and 2004-2007. **J. Med. Virol.**, v. 82, p. 519-27, 2010.

TEIXEIRA, J. M.; CAMARA, G. N.; PIMENTEL, P. F.; FERREIRA, M. N.; FERREIRA, M. S.; ALFIERI, A. A.; GENTSCH, J. R.; LEITE, J. P. Human group C rotavirus in children with diarrhea in the Federal District. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 31, p. 1397-403, 1998.

TERAN, C. G.; TERAN-ESCALERA, C. N.; VILLARROEL, P. Nitazoxanide vs. probiotics for the treatment of acute rotavirus diarrhea in children: a randomized, single-blind, controlled trial in Bolivian children. **Int. J. Infect. Dis.**, v. 13, n. 4, p. 518-23, 2009.

THOMAS, E. E.; ROSCOE, D. L.; BOOK, L.; BONE, B.; BROWNW, L.; MAH, V. The utility of latex agglutination assays in the diagnosis of pediatric viral gastroenteritis. **Am. J. Clin. Pathol.**, v. 101, p. 742-6, 1994.

THOMPSON, J. D.; GIBSON, T. J.; PLEWNIAK, F.; JEANMOUGIN, F.; HIGGINS, D. G. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. **Nucleic Acids Res.**, v. 25, n. 24, p. 4876-82, 1997.

TIAN, P.; HU, Y.; SCHILLING, W. P; LINDSAY, D. A.; EIDEN, J.; ESTES, M. K. The nonstructural glycoprotein of rotavirus affects intracellular calcium levels. **J. Virol.**, v. 68, p. 251-7, 1994.

TIMENETSKY, M. C. S.; GOUVEA, N.; SANTOS, N.; ALGE, M. E.; KISIELLIUS, J.J.; CARMONA, R. C. C. Outbreak of severe gastroenteritis in adults and children associated with type G2 rotavirus. **J. Diarrhoeal Dis. Res.**, v. 14, p. 71-4, 1996.

TIMENETSKY, M. C. S.; SANTOS, N.; GOUVEA, N. Survey of rotavirus G and P types associates with human gastroenteritis in São Paulo, Brazil, from 1986 to 1992. **J. Clin. Microbiol.**, v. 32, p. 2622 - 4, 1994.

TIMENETSKY, M. C. S. T.; GOUVEA, V.; SANTOS, N.; CARMONA, R. C. C.; HOSHINO, Y. A novel human rotavirus serotype with dual G5/G11 specificity. **J. Gen. Virol.**, v. 78, p. 1373-8, 1997.

TIMENETSKY, M. C. S. T.; KISIELLIUS, J. J.; GRISI, S. J. F. E.; ESCOBAR, A. M. U.; UEDA, M.; TANAKA, H. Rotavírus, Adenovírus, Astrovírus, Calicivírus e "Small Round Virus Particles" em fezes de crianças, com e sem diarreia aguda no período de 1987 a 1988, na Grande São Paulo. **Rev. Inst. Med. Trop.**, v. 35, p. 275-80, 1993.

TOPKAYA, A. E.; AKSUNGAR, B.; ÖZAKKAFL, F.; ÇAPAN, N. Examination of rotavirus and enteric adenovirus in children with acute gastroenteritis. **Türk. Mikrobiyol. Cem. Derg.**, v. 36, n. 4, p. 210-3, 2006.

TRINH, Q. D.; NGUYEN, T. A.; PHAN, T. G.; KHAMRIN, P.; YAN, H.; HOANG, P. L.; MANEEKARN, N.; LI, Y.; YAGYU, F.; OKITSU, S.; USHIJIMA, H. Sequence analysis of the VP7 gene of human rotavirus G1 isolated in Japan, China, Thailand, and Vietnam in the context of changing distribution of rotavirus G-types. **J. Med. Virol.**, v. 79, n. 7, p. 1009-16, 2007.

USHIJIMA, H.; HONMA, H.; MUKOYAMA, A.; SHINOSAKI, T.; FUJITA, Y.; KOBAYASHI, M.; OHSETO, M.; MORIKAWA; KITAMURA, T. Detection of group C rotaviruses in Tokyo. **J. Med. Virol.**, v. 27, p. 299-303, 1989.

VELÁZQUEZ, F. R.; MATSON, D. O.; CALVA, J. J.; GUERRERO, L.; MORROW, A. L.; CARTEL-CAMPBELL, S.; GLASS, R. I.; ESTES, M. K.; PICKERING, L. K.; RUIZPALACIOS, M. R. Rotavirus infection in infants as protection against subsequent infections. **N. Engl. J. Med.**, v. 335, p. 1022-8, 1996.

VENDE, P.; TARAPOREWALA, Z. F.; PATTON, J. T. RNA-binding activity of the rotavirus phosphoprotein NSP5 includes affinity for double-stranded RNA. **J. Virol.**, v. 76, p. 5291-9, 2002.

VESIKARI, T.; ISOLAURI, E.; D'HONDT, E.; DELEM, A.; ANDRÉ, F. E.; ZISSIS, G. Protection of infants against rotavirus diarrhoea by RIT 4237 attenuated bovine rotavirus strain vaccine. **Lancet**, v. 1, p. 977-81, 1984.

VESIKARI, T.; JOENSUU, J. Review of rotavirus vaccine trials in Finland. **J. Infect. Dis.**, v. 174, n. 1, p. S81-7, 1996.

VESIKARI, T.; MATSON, D. O.; DENNEHY, P.; VAN DAMME, P.; SANTOSHAM M, RODRIGUES, Z.; DALLAS, M.J.; HEYSE, J.F.; GOVEIA, M. G.; BLACK, S.B.; SHINEFIELD, H. R.; CHRISTIE, C. D. C.; YLITALO, S.; ITZLER, R. F.; COIA, M. L.; ONORAT, M. T.; ADEYI, B. A.; MARSHALL, G. S.; GOTHEFORS, L.; CAMPENS, D.; KARVONEN, A.; WATT, J. P.; O'BRIEN, K.L.; DINUBILE, M. J.; CLARK, H. F.; BOSLEGO, J. W.; OFFIT, P. A.; HEATON, P. M. Safety and efficacy of a pentavalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine. **N. Engl. J. Med.**, v. 354, p. 23-33, 2006.

VOLOTÃO, E. M.; SOARES, C. C.; MARANHÃO, A. G.; ROCHA, L. N.; HOSHINO, Y.; SANTOS, N. Rotavirus surveillance in the city of Rio de Janeiro-Brazil during 2000-2004: detection of unusual strains with G8P[4] or G10P[9] specificities. **J Med Virol.**,v. 78, p. 263-72, 2006.

WALKER, C. L. F.; FONTAINE, O.; YUNG, M. W.; BLACK, R. E. Zinc and low osmolarity oral rehydration salts for diarrhoea: a renewed call to action. **Bull. W.H.O.**, v. 87, p. 780-6, doi: 10.2471/BLT.08.058990, 2009.

WANG, Y. H.; KOBAYASHI, N.; ZHOU, D. J.; YANG, Z. Q.; ZHOU, X.; PENG, J. S.; ZHU, Z. R.; ZHAO, D. F.; LIU, M. Q.; GONG, J. Molecular epidemiologic analysis of

group A rotaviruses in adults and children with Wuhan city, China, 2000–2006. **Arch. Virol.**, v. 152, p. 669-85, 2007.

WANG, J.; JIANG, X.; MADORE, H. P.; GRAY, J.; DESSELBERGER, V.; ANDO, T.; SETO, Y.; OISHI, I.; LEW, J.F.; GREEN, K. Y.; ESTES, M. K. Sequence diversity of small round structured viruses in the norwalk virus group. **J. Virol.**, v. 68, p. 5982-90, 1994.

WARD, R. L.; NAKAGOMI, O.; KNOWLTON, D. R.; MCNEAL, M. M.; NAKAGOMI, T.; CLEMENS, J. D.; SACK, D. A.; SCHIFF, G. M. Evidence for natural reassortants of human rotaviruses belonging to different genogroups. **J. Virol.**, v. 64, p. 3219-25, 1990.

WARD, R.L. Mechanisms of protection against rotavirus in humans and mice. **J. Infect. Dis.**, v. 174, p. S51-8, 1996.

WARD, R.L. Mechanisms of protection against rotavirus in humans and mice. **J. Infect. Dis.**, Chicago, v. 174, p. S51-S58, 1996.

WELCH, S. K., CRAWFORD, S. E., ESTES, M. K. Rotavirus SA11 genome segment 11 protein is a nonstructural phosphoprotein. **J. Virol.**, v. 63, p. 3974-82, 1989.

WIDDOWSON, M. A.; MELTZER, M. I.; ZHANG, X.; BRESEE, J. S.; PARASHAR, U. D.; GLASS, R. I. Cost-effectiveness and potential impact of rotavirus vaccination in the United States. **Pediatrics**, v. 119, n. 4, p. 684-97, 2007.

WIDDOWSON, M. A.; VAN DOOMUN, G. J.; VAN DER POEL, W. H.; BOER, A. S.; MAHDI, U.; KOOPMANS, M. Emerging group A rotavirus and nosocomial outbreak of diarrhoea. **Lancet**, v. 356, n. 9236, p. 1161-2, 2000.

WILHELMI, I.; COLOMINA, J.; MARTÍN-RODRIGO, D.; ROMAN, E.; SÁNCHEZ-FAUQUIER, A. New immunochromatographic method for rapid detection of rotaviruses in stool samples compared with standard enzyme immunoassay and latex agglutination techniques. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 20, n. 10, p. 741-3, 2001.

WILHELMI, I.; ROMAN, E.; SANCHEZ-FANQUIER, A. Viruses causing gastroenteritis. **Clin. Microbiol. Infection.**, v.9, n.4, p.247-262, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Oral rehydration salts (ORS): a new reduced osmolarity formulation. Disponível em: <http://www.who.int/child-adolescenthealth/New_Publications/NEWS/Statement.htm>. Acesso em 11 de nov 2009

WU, B.; MAHONY, J. B.; SIMON, G.; CHERNESKY, M. A. - Sensitive solid-phase immune electron microscopy double-antibody technique with gold-immunoglobulin G complexes for detecting rotavirus in cell culture and feces. **J. Clin. Microbiol.**, v. 28, P. 864-8, 1990.

YEAGER, M., BERRIMAN, J. A.; BAKER, T. S.; BELLAMY, A.R. Threedimensional structure of the rotavirus haemagglutinin VP4 by cryo-electron microscopy and difference map analysis. **Embo J.**, v. 13, p. 1011-8, 1994.

YEE, E. L.; JIANG, B.; KENDALL, R. S.; HUMPHREY, C.; GLASS, R. I. Group C rotavirus in a pediatric kidney transplant patient with diarrhea. **J. Clin. Virol.**, v. 36, n. 4, p. 306-8, 2006.

YOLKEN, R. H.; BARBOUR, B.; WYATT, R. G.; KALICA, A. R.; KAPIKIAN, A. Z.; CHANOCK, R. M. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for identification of rotaviruses from different animal species. **Science**, v. 201, p. 259-2, 1978.

YOLKEN, R. H.; WYATT, R. G.; KALICA, A. R.; KIM, H. W.; BRANDT, C. D.; PARROT, R. H.; KAPIKIAN, A. Z.; CHANOCK, R. M. Use of a free viral immunofluorescence assay to detect human reovirus-like agent in human stools. **Infect. Immun.**, v. 16, p. 467-70, 1977.

YOSHINAGA, M.; PH, T. G.; NGUYEN, T. A.; YAN, H.; YAGYU, F.; OKITSU, S.; MÜLLER, W. E.; USHIJIMA, H. Changing distribution of group A rotavirus G-types and genetic analysis of G9 circulating in Japan. **Arch. Virol.**, v. 151, n. 1, p. 183-92, 2006.

ZAHN, M.; MARSHALL, G. S. Clinical and epidemiological aspects of rotavirus infection. **Pediatr. Ann.**, v. 35, p. 23-8, 2006.

ZHENG, B.J. ; MA, G. Z.; TAM, J. S. L.; LO, S. K. F.; HON, M.; LAM, B. C. C.; YEUNG, C.Y. The effects of maternal antibodies on neonatal rotavirus infection. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 10, n. 11, p. 865-8, 1991.