

Gastroenterite por rotavírus do grupo A: era pós-vacinal, genótipos e transmissão zoonótica

Group A rotavirus gastroenteritis: post-vaccine era, genotypes and zoonotic transmission

Adriana Luchs¹, Maria do Carmo Sampaio Tavares Timenetsky¹

RESUMO

Este artigo fornece uma revisão sobre imunidade, diagnóstico e aspectos clínicos da doença causada por rotavírus. Também aponta as principais mudanças no perfil epidemiológico da doença diarreica e na diversidade genética das cepas circulantes de rotavírus do grupo A, após a introdução vacinal. O rotavírus do grupo A é o principal patógeno associado à gastroenterite em animais. Seu genoma RNA segmentado pode levar ao surgimento de cepas novas ou incomuns na população humana, por meio de transmissão entre espécies e eventos de rearranjo.

Descritores: Gastroenterite/epidemiologia; Diarreia; Vacinação; Técnicas de genotipagem

ABSTRACT

This article provides a review of immunity, diagnosis, and clinical aspects of rotavirus disease. It also informs about the changes in epidemiology of diarrheal disease and genetic diversity of circulating group A rotavirus strains following the introduction of vaccines. Group A rotavirus is the major pathogen causing gastroenteritis in animals. Its segmented RNA genome can lead to the emergence of new or unusual strains in human populations via interspecies transmission and/or reassortment events.

Keywords: Gastroenteritis/epidemiology; Diarrhea; Vaccination; Genotyping techniques

INTRODUÇÃO

A doença diarreica aguda (DDA) é uma síndrome causada por diferentes agentes etiológicos (bactérias, vírus e parasitas), cuja manifestação predominante é o aumento do número de evacuações, com fezes aquosas ou de pouca consistência.⁽¹⁾ A DDA, ou gastroenterite, é a doença mais comum em todo o mundo e a prin-

cipal causa de mortalidade entre crianças <5 anos de idade.⁽²⁾ A DDA afeta de maneira desproporcional as crianças que habitam países de baixa e média renda, as quais apresentam uma taxa de incidência maior, devido, principalmente, à má qualidade da água potável, ao saneamento inadequado e a fatores de risco nutricionais, como a amamentação subótima, e a deficiência de zinco e vitamina A.⁽³⁾ No Brasil, um país de dimensões continentais e com grande heterogeneidade socioeconômica, os dados do monitoramento das DDA entre os anos de 2000 e 2011 contabilizaram um total de 33.397.413 de casos notificados (<http://portal.saude.gov.br>). Atualizações sobre a mortalidade total em crianças <5 anos são publicadas todos os anos, sendo a estimativa mais recente datada de 2008. O número de mortes devido à DDA em crianças dessa faixa etária estimado para 2008 foi de 1.336.289 milhões, sendo o Brasil responsável por 3.543 mil mortes.⁽²⁾

A gastroenterite em crianças pode ser causada por uma gama de enteropatógenos; entretanto a DDA é mais comumente associada ao rotavírus. Este patógeno viral foi descrito há menos de 40 anos e, rapidamente, foi reconhecido como a principal causa de mortalidade e morbidade associada à diarreia.⁽⁴⁾ Virtualmente, toda criança no mundo, tanto nos países desenvolvidos quanto em desenvolvimento, será infectada por rotavírus nos primeiros 5 anos de vida.⁽⁵⁾ No mundo, a DDA causada por rotavírus é responsável por um terço de 1 milhão e 340 mil mortes e por 9 milhões de internações hospitalares entre crianças <5 anos.⁽²⁾

O rotavírus também configura como principal agente viral associado à gastroenterite em animais, sendo isolado em diversas espécies de mamíferos domésticos e selvagens,^(6,7) além das aves.⁽⁸⁾ Essas infecções geram

¹Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil.

Autor correspondente: Adriana Luchs – Avenida Dr. Arnaldo, 255 – Cerqueira César – CEP: 01246-902 – São Paulo, SP, Brasil – Tel.: (11) 3068-2909 – E-mail: driluchs@gmail.com

Data de submissão: 8/11/2015 – Data de aceite: 1/2/2016

DOI: 10.1590/S1679-45082016RB3582



perdas econômicas importantes entre criações de bovinos, suínos e equinos, por conta do custo com o tratamento e da perda de peso dos animais afetados. Ainda, evidências de transmissão interespecie e de rearranjos entre rotavírus humanos e animais vêm se acumulando na literatura. Algumas espécies em particular, como cães, gatos, porcos e bois, parecem contribuir de maneira mais incisiva e frequente para a diversidade genética encontrada em humanos.⁽⁹⁾

Diante dessas considerações, o presente artigo teve por objetivo apresentar uma visão geral sobre a imunidade protetora, diagnóstico, patogênese e aspectos clínicos da DDA causada por rotavírus. Buscou também atualizar as informações sobre as vacinas contra rotavírus disponíveis comercialmente, assim como apontar as principais mudanças no perfil epidemiológico da gastroenterite e na diversidade genética das cepas circulantes de rotavírus na era pós-vacinal. Por fim, pretendeu abordar a importante interação entre os rotavírus de origem humana e animal.

ESTRUTURA DOS ROTAVÍRUS

Os rotavírus pertencem ao gênero *Rotavirus* e à família *Reoviridae*. As partículas virais íntegras são esféricas, com aproximadamente 70 a 100nm de diâmetro, possuem capsídeo com simetria icosaédrica e sem envoltório. O capsídeo é formado por três camadas proteicas: capsídeo interno, intermediário e externo. O capsídeo interno, ou core, contém o genoma viral (Figura 1).^(1,10) O geno-

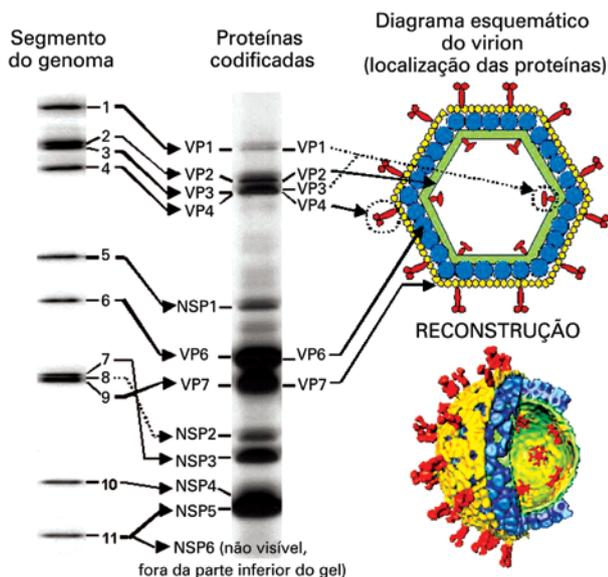
ma viral é constituído por 11 segmentos de RNA de fita dupla (RNAdf). Cada segmento codifica para uma proteína viral específica, sendo seis proteínas estruturais, denominadas *viral protein* (VP) – VP1, VP2, VP3, VP4, VP6 e VP7 e seis proteínas não estruturais denominadas *non structural protein* (NSP) – NSP1, NSP2, NSP3, NSP4, NSP5 e NSP6. Os segmentos dos rotavírus são monocistrômicos, com exceção do segmento 11, o qual codifica para duas proteínas (NSP5 e NSP6).^(1,10)

PATOGÊNESE

Os rotavírus tem tropismo pelas células apicais que recobrem as vilosidades do intestino delgado, local em que infecta os enterócitos maduros. Ao se propagar nos enterócitos, o rotavírus provoca a descamação dessas células. Com a destruição dos enterócitos, a migração das células da cripta para as vilosidades é acelerada, provocando a perda temporária da capacidade absorptiva do intestino e levando ao quadro de diarreia.^(1,11) Após a replicação citolítica dos rotavírus nos enterócitos maduros, as novas partículas virais liberadas também podem infectar as porções mais distais do intestino delgado e/ou serem excretadas pelas fezes.⁽¹²⁾ A proteína NSP4 exerce papel crucial no desenvolvimento do quadro diarreico, exibindo funções de enterotoxina.⁽¹⁾ Descobertas recentes sugerem que a infecção por rotavírus pode se disseminar pelo organismo hospedeiro e resultar em uma infecção sistêmica.⁽¹³⁾ Manifestações neurológicas associadas à infecção por rotavírus também são relatadas e ocorrem em aproximadamente 2 a 5% dos casos, variando de convulsões benignas a encefalite letal. No entanto, ainda não está claro se o rotavírus permanece ativo e replicando nos sítios extraintestinais ou se é apenas transferido passivamente pela corrente sanguínea.^(11,13) Esses dados juntos sugerem que a patogenia causada pelos rotavírus pode ser mais complexa do que é considerada atualmente.

GRUPOS DE ROTAVÍRUS

O gênero *Rotavirus* engloba vírus que infectam somente vertebrados (aves e mamíferos).⁽¹⁾ Os rotavírus possuem um antígeno comum, a proteína VP6, presente no capsídeo intermediário (Figura 1),⁽¹⁰⁾ denominado antígeno de grupo.⁽¹⁾ Os determinantes antigênicos de grupo conferidos pela VP6 permitem a classificação dos rotavírus em cinco espécies, também denominados grupos de rotavírus, a saber: Rotavírus A (RVA), Rotavírus B (RVB), Rotavírus C (RVC), Rotavírus D (RVD) e Rotavírus E (RVE) (<http://ictvonline.org>). Existem também três tentativas adicionais de espécies: Rotavírus F (RVF),



VP: proteína viral; NSP: proteína não-estrutural.

Fonte: Mossel E, Estes M, Ramig F. Coding assignments and virion locations of rotavirus proteins and 3D structure of the rotavirus particle [Internet]. [cited 2015 Nov 23]. Available from: http://www.reoviridae.org/dsma_virus_proteins/rotavirus%20figure.htm⁽¹⁰⁾

Figura 1. Representação esquemática da estrutura da partícula de rotavírus símio (SA11). Note a correspondência entre os segmentos de RNA de fita dupla (à esquerda), o diagrama esquemático (à direita, no alto) e a estrutura tridimensional do vírus por criomicroscopia (à direita, abaixo)

Rotavírus G (RVG) e Rotavírus H (RVH).^(1,14) Recentemente, um novo grupo de rotavírus, o Rotavírus I (RVI), foi descrito em cães.⁽¹⁵⁾

Rotavírus A, RVB, RVC e RVH estão associados à gastroenterites agudas em humanos e animais. O RVB foi detectado em humanos, bovinos, carneiros, suínos, cabras e ratos. O RVC infecta suínos, humanos, bovinos, cães e furões (*ferrets*).⁽¹⁾ O RVH (cepas J19, B219 e ADRV-N) foi primeiramente detectado em humanos na China e em Bangladesh e, mais recentemente, em suínos no Japão (cepa SKA-1) e no Brasil (cepas BR60, BR63 e BR59).^(16,17) Os RVD, RVE, RVF e RVG foram detectados somente em animais.^(1,14) RVD, RVF e RVG afetam exclusivamente aves.^(1,18) O RVE foi detectado somente em suínos.^(9,19)

ROTAVÍRUS DO GRUPO A

O RVA é o grupo que possui importância epidemiológica e impacto em saúde pública, tanto em humanos quanto em animais,^(1,9,14) configurando como ponto central da presente revisão.

Classificação dos rotavírus A

Um sistema binário de classificação foi estabelecido para RVA, baseado em reações imunológicas e na estrutura dos genes das proteínas VP7 e VP4, as quais, independentemente, estimulam a produção de anticorpos neutralizantes (Figura 1).^(1,10,14) Dessa forma, as cepas de RVA são classificadas em VP4 ou “genótipos P” (“P” refere-se à “sensível à protease” – *protease sensitive*) e VP7 ou “genótipos G” (“G” refere-se à glicoproteína – *glycoprotein*). Até o momento, 27 genótipos G e 37 genótipos P foram descritos em RVA provenientes de humanos e animais.^(14,20) Em 2008, um sistema de classificação baseado na análise nucleotídica do genoma completo foi proposto para o RVA, o qual atribui um genótipo específico para cada um dos 11 segmentos de RNAdf, sendo os genes VP7-VP4-VP6-VP1-VP2-VP3-NSP1-NSP2-NSP3-NSP4-NSP5/6 das cepas de RVA descritos utilizando as abreviações Gx-P[x]-Ix-Rx-Cx-Mx-Ax-Nx-Tx-Ex-Hx (“x” representa o número arábico iniciando-se a partir do 1), respectivamente.⁽¹⁴⁾ A análise da sequência completa do genoma do RVA aumentou significativamente a capacidade de reconhecer as relações genéticas entre as cepas humanas e animais.

Imunidade contra o rotavírus A

A infecção natural por RVA confere proteção clínica significativa durante uma eventual reinfecção. Estudos de coorte conduzidos no México e em Guiné-Bissau mos-

traram que episódios recorrentes de infecção por RVA são significativamente mais brandos que o primeiro, apresentando eficácia protetora contra uma segunda infecção de 77 e 70%, respectivamente.^(21,22) Entretanto, essa proteção pode ser de curta duração, incompleta ou idade-dependente.⁽¹⁾

Infecções primárias e secundárias causadas por RVA são capazes de promover a produção de anticorpos das classes IgG, IgM e IgA no soro, saliva e secreções intestinais. A VP6 é reconhecidamente a proteína mais imunogênica, estimulando a produção de IgA, principalmente, na mucosa do intestino delgado. As proteínas VP7 e VP4 estimulam a produção de anticorpos séricos neutralizantes, conferindo proteção genótipo-específico (homotípica) aos hospedeiros. Embora a resposta imunológica clássica dos RVA seja homotípica, existe também uma resposta heterotípica, reagindo de forma cruzada com os múltiplos genótipos. Reinfecções pelos mesmos genótipos G ou P também podem ocorrer, corroborando a hipótese de proteção incompleta dos RVA. A imunidade passiva que ocorre pela transferência de anticorpos através da placenta durante a gravidez e no período de aleitamento parece proteger os neonatos da infecção por RVA.^(1,23,24)

Manifestações clínicas dos rotavírus A

A infecção por RVA pode resultar em um quadro sintomático ou assintomático, dependendo tanto de fatores virais quanto do hospedeiro (por exemplo: idade ou *status* nutricional). O período de incubação estimado é de 48 horas. Os episódios de diarreia podem variar de um quadro leve, com diarreia líquida e duração limitada, a quadros graves, com febre, vômitos, desidratação, desequilíbrio eletrolítico, choque e morte.⁽²³⁾ A manifestação da doença geralmente se inicia com febre (>39°C) e vômito e, após 24 a 48 horas, diarreia aquosa. Os episódios de vômito têm duração <24 horas e os demais problemas gastrointestinais desaparecem em 3 a 7 dias.⁽²⁵⁾ A desidratação é uma complicação frequente, devido à gravidade da diarreia associada aos episódios de vômitos. A terapia de reidratação oral e/ou intravenosa para manutenção do equilíbrio osmótico e de eletrólitos permanecem como base no tratamento das infecções por RVA.⁽¹⁾

Crianças e adultos imunocomprometidos (imunodeficiência congênita ou transplantes de órgãos) infectados por RVA podem apresentar gastroenterite prolongada,⁽²⁵⁾ mas parece não haver diferença quanto à gravidade da doença diarreica entre crianças infectadas ou não com o vírus HIV, inclusive no Brasil.⁽²⁶⁾

Não existem antivirais específicos contra a infecção por RVA. Rossignol et al.⁽²⁷⁾ demonstraram que a ni-

tazoxanida (comercializado no Brasil como Annita[®]) pode desempenhar um papel importante no controle da gastroenterite viral em adultos, exibindo boa efetividade contra RVA. Kim et al.⁽²⁸⁾ evidenciaram que análogos da triacsin C podem agir como antivirais potentes no combate à infecção por RVA. Recentemente, plantas medicinais brasileiras foram testadas *in vitro*. Entre as espécies estudadas, *Byrsonima verbascifolia*, *Eugenia dysenterica*, *Hymenaea courbaril* e *Myracrodruon urundeuva* apresentaram atividade antiviral potencial contra infecção por RVA.⁽²⁹⁾

Vacinas contra o rotavírus A

Em 1998, o *Advisory Committee on Immunization Practices* (ACIP) recomendou o uso da vacina RotaShield[®] (RRV-TV) (Wyeth Lederle Vaccines and Pediatrics, Marietta, Pensilvânia) em crianças nos Estados Unidos. Essa vacina é composta por 11 genes símios (RRV) associado aos genótipos G1, G2 e G4 (gene VP7) humanos. Nos ensaios clínicos realizados nos Estados Unidos, Finlândia e Venezuela, a RRV-TV se mostrou altamente eficaz, diminuindo significativamente a DDA causada por RVA em 80 a 100% dos casos. Entretanto, em 1999, essa vacina foi retirada do mercado americano por sua suposta associação com casos de intussuscepção. A intussuscepção ou invaginação intestinal é uma condição em que um segmento do intestino invagina-se no segmento imediatamente seguinte. A incidência real desse evento adverso é muito difícil de ser avaliada, sugerindo-se risco de 1 a cada 10 mil crianças vacinadas. Estudos posteriores indicaram que o risco de intussuscepção associado à vacinação com RotaShield[®] estava vinculado à administração da primeira dose em crianças ≥ 90 dias de idade. Crianças entre 3 e 9 meses de idade apresentam elevada suscetibilidade natural para a intussuscepção. Dessa forma, a RRV-TV continua licenciada nos Estados Unidos, embora seu uso tenha sido descontinuado.⁽³⁰⁾ Recentemente, a RotaShield[®] tem sido avaliada em ensaios clínicos conduzidos em países africanos (África do Sul e Gana), após modificações no esquema vacinal.⁽³¹⁾ A experiência com o uso da RotaShield[®], fez com que o *Global Advisory Committee on Vaccine Safety* (GACVS) orientasse a inclusão da avaliação de risco de intussuscepção no desenvolvimento de novas vacinas contra RVA.⁽³⁰⁾

Atualmente, existem duas vacinas licenciadas e recomendadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS), as quais se mostraram seguras e eficientes. A RotaTeq[®] (RV5) (Merck & Co. Inc., West Point, Pensilvânia) é uma vacina oral atenuada pentavalente que contém cinco genótipos virais humanos e bovinos, G1 a G4 + P[8], combinados por meio de rearranjos (*reassortants*). A RotaTeq[®]

deve ser administrada em três doses em crianças entre 1 a 8 meses de idade, sendo a primeira dose entre 6 a 12 semanas, a segunda entre 4 e 10 semanas após a primeira dose e, a terceira dose de 4 a 10 semanas após a segunda dose, mas essa última dose não pode ultrapassar as 32 semanas de idade da criança.⁽³²⁾

A Rotarix[®] (RIX₄₄₁₄) (GlaxoSmithKline Biologicals, Rixensart, Bélgica) é uma vacina oral atenuada monovalente, composta pela cepa G1P1A[8], que representa o genótipo humano mais comum de RVA. Duas doses de aplicação de Rotarix[®] são recomendadas, sendo a primeira aos 2 meses e a segunda aos 4 meses de idade.⁽³⁰⁾ No Brasil, a vacina Rotarix[®] foi incluída no Programa Nacional de Imunização em 2006. A RotaTeq[®] também está licenciada no país, mas disponível apenas na rede particular de vacinação.⁽³³⁾

Em 2000-2001, a China introduziu em seu Programa Nacional de Imunização a vacina oral LLR (cepa atenuada G10P[12]) derivada de um RVA isolado de cordeiro. No entanto, a eficácia dessa vacina não é conhecida, uma vez que não foi testada contra placebo nos testes clínicos da fase III.⁽³⁰⁾

Em 2014, uma nova vacina oral contra RVA, a Rotavac[®], foi lançada na Índia, sendo licenciada exclusivamente nesse país até o momento. A Rotavac[®], desenvolvida e fabricada na Índia, é uma vacina oral monovalente G9P[11] (11E6) derivada de uma cepa neonatal humana naturalmente atenuada e que contém segmento de bovinos (recombinante natural humano-bovino).⁽³⁴⁾

Diagnóstico dos rotavírus A

O método mais amplamente utilizado para o diagnóstico laboratorial é o ensaio imunoenzimático (EIA ou ELISA), o qual detecta o antígeno de grupo dos RVA (VP6) diretamente nas fezes. Os testes de aglutinação em látex são comumente utilizados em hospitais, devido ao seu baixo custo, simplicidade de uso e rapidez, mas apresentam sensibilidade e especificidade inferiores comparadas aos EIAs. A transcrição reversa seguida da reação em cadeia pela polimerase *nested/multiplex* (RT-PCR) possui a vantagem de realizar o diagnóstico e a tipagem molecular dos RVA simultaneamente. Métodos de sequenciamento genético, *microarray* e PCR em tempo real (RT-qPCR), bastante sensíveis e capazes de discriminar infecções mistas por RVA, também estão sendo desenvolvidos e empregados com sucesso no diagnóstico dos RVA.⁽³⁵⁻³⁷⁾

Epidemiologia dos rotavírus A nas eras pré e pós-vacinal em humanos

A infecção por RVA é ubíqua, afetando humanos e animais de todas as idades. Cerca de 95% das crianças em

todo o mundo sofrem infecção por RVA entre 3 e 5 anos de idade. Rotavírus A é a causa mais comum de diarreia em crianças <3 anos ao redor do mundo, atingindo pico de incidência entre crianças nas idades de 4 a 36 meses, as quais são mais suscetíveis a hospitalizações, principalmente devido à desidratação; com significativo impacto econômico.

Rotavírus A é a principal causa de morbidade e mortalidade relacionada à diarreia na América Latina e Caribe, onde se estima que ocorra 8.000 mortes em crianças <5 anos anualmente.⁽³⁸⁾ As infecções sintomáticas acometem principalmente crianças na faixa etária de 6 meses a 2 anos de idade. O RVA é um dos principais patógenos envolvidos em surtos de diarreia nosocomial em creches e pré-escolas.^(39,40) Infecções em neonatos são frequentemente assintomáticas, provavelmente devido à transferência passiva de anticorpos maternos. Quando infecções sintomáticas ocorrem em neonatos, geralmente estão associadas a cepas não usuais de RVA.⁽⁴¹⁾ Adultos infectados por RVA também são geralmente assintomáticos ou apresentam infecções subclínicas, devido à presença de anticorpos neutralizantes previamente adquiridos durante infecções naturais primárias e/ou secundárias. Quando o RVA acomete jovens e adultos, geralmente está associado a surtos esporádicos em ambientes fechados, como escolas, escritórios ou hospitais. O RVA também pode infectar os pais de crianças doentes, imunocomprometidos, idosos e viajantes.^(23,41)

Uma característica fundamental na epidemiologia dos RVA é seu padrão marcadamente sazonal. Em climas temperados, a infecção por RVA ocorre nos meses mais frios e secos do ano (outono e inverno) e, em climas tropicais, as taxas tendem a ser igualmente distribuídas ao longo do ano. No Brasil, a sazonalidade do RVA é variável, com aumento de incidência entre os meses de maio a setembro (período mais frio e seco) nos Estados das Regiões Central, Sul e Sudeste. Nas Regiões Norte e Nordeste do país, a ocorrência de RVA se distribui de maneira uniforme durante o ano todo.⁽⁴¹⁻⁴³⁾

A vigilância epidemiológica do RVA é realizada no Brasil desde a década de 1980.^(39,44) Após a implantação da vacina contra RVA, os sistemas de vigilância foram intensificados no país e no mundo, a fim de documentarem a efetividade dos programas de imunização vigentes. Mudanças na epidemiologia da doença causada por RVA são esperadas na era pós-vacinal.^(40,45) A tendência do RVA em infectar crianças mais velhas (entre 6 e 10 anos de idade) após a implementação da vacina foi relatada nos Estados Unidos e no Brasil. Sugere-se proteção indireta das crianças não vacinadas, conferida pela redução da transmissão de RVA na comunidade (“imunidade de rebanho”), resultando em uma coorte de sus-

cetíveis composta por crianças mais velhas, as quais não foram expostas à infecção natural por RVA nos anos anteriores. Tal fenômeno não tinha sido observado nos ensaios clínicos das vacinas atualmente licenciadas no mercado. No entanto, ainda não é possível prever se a transmissão de RVA deve persistir nesses grupos etários mais velhos, mesmo se a cobertura vacinal em crianças mais novas aumentar. Estudos pós-implantação vacinal também identificaram alterações em relação à sazonalidade das infecções causadas por RVA, com os Estados Unidos, a Bélgica e o Brasil mostraram atraso de 1 a 2 meses no início da sazonalidade da infecção por RVA após implantação da vacina.^(33,46,47) Os benefícios indiretos e/ou prejuízos causados pela vacinação contra RVA ainda precisam ser melhor explorados.

Distribuição das cepas dos rotavírus A nas eras pré e pós-vacinal em humanos

A diferenciação das cepas de RVA determinada pela combinação dos tipos G e P é amplamente utilizada em estudos epidemiológicos,⁽¹⁾ sendo os genótipos peculiarmente distribuídos entre as várias espécies animais.^(6,9) Devido à característica segmentada do genoma dos RVA, os genes que codificam para VP7 e VP4 podem, em teoria, segregar-se de forma independente, acarretando em uma grande diversidade de cepas. As combinações G1P[8], G2P[4], G3P[8] e G4P[8] são consideradas, historicamente, como as mais prevalentes em humanos em todo o mundo (Tabela 1).⁽¹⁴⁾ No entanto, no decorrer dos últimos 10 anos, cepas G9 foram frequentemente detectadas e, geralmente, associadas a P[8]. Dessa forma, atualmente, G9P[8] é considerado o quinto genóti-

Tabela 1. Resumo da distribuição das cepas de rotavírus A que comumente infectam humanos e animais

Animal	Genótipo G	Genótipo P
Humanos	G1; G2; G3; G4; 9	P[4]; P[8]
Equinos	G3; G14	P[12]
Bovinos	G6; G8; G10	P[1]; P[5]; P[11]
Suínos	G9	P[23]
Ovinos	G3; G6; G10	P[1]; P[11]; P[14]
Caprinos	G6	P[5]
Caninos	G3	P[3]; P[5]
Felinos	G3	P[3]; P[9]
Leporídeos (coelho)	G3	P[14]; P[22]
Aves	G6; G7; G10; G22; G23	P[37]
Procionídeos (guaxinim)	G8	P[9]
Quirópteros (morcego)	G3; G25	P[3]; P[6]
Ursídeos (panda gigante)	G1	P[7]
Suínos selvagens (javalis)	G4; G9	P[6]; P[13]; P[23]
Artiodactilos (vicunha e girafa)	G8; G10	P[11]; P[14]

po mais prevalente em humanos (Tabela 1).^(14,45,48,49) Recentemente, G12P[8] foi reconhecido como um genótipo emergente e parece se expandir globalmente, inclusive no Brasil.^(50,51)

Nos países desenvolvidos, as cepas G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] e G9P[8] (mais comuns mundialmente) são detectadas em aproximadamente 100% das infecções causadas por RVA. Nos países em desenvolvimento, além das cepas comumente detectadas, combinações incomuns de RVA também são identificadas, exibindo ampla variação de uma região para outra. Um programa de vigilância conduzido pela OMS em 2010 evidenciou que as cepas incomuns mais predominantes eram G12P[8] e G12P[6] no sudeste asiático; G2P[6], G3P[6] e G1P[6] na África Subsariana; G1P[4] e G2P[8] no Pacífico Oeste; e G9P[4] nas Américas.^(48,52)

Diversos estudos indicam que a predominância dos genótipos de RVA na população humana varia com o tempo. Uma determinada cepa dominante por 1 ou 2 anos pode ser substituída por outra cepa emergente.^(49,53) Outras cepas podem ser periódica ou localmente importantes, como o G5P[8] no Brasil durante a década de 1980, e o G8 na África.^(48,54) A base epidemiológica da ciclagem genotípica observada nos RVA ainda não está clara. Acredita-se que a troca sazonal de cepas de RVA possa ser um mecanismo utilizado pelo vírus para escapar da imunidade de grupo adquirida de infecções anteriores e, dessa forma, persistir na população humana.⁽⁵³⁾

A partir de 2007, observou-se, no Brasil, um aumento na detecção de G2P[4]. Alguns autores sugeriram que essa prevalência estaria associada à pressão vacinal, e que a introdução de uma vacina monovalente G1P[8] poderia ter criado condições para que a cepa G2P[4] adquirisse vantagens sobre as demais (que compartilham o genótipo P[8]) na competição pela infecção de hospedeiros suscetíveis.^(33,55) No entanto, outros genótipos comuns (G1P[8], G3P[8] ou G9P[8]) continuaram a circular marginalmente ao longo do tempo,⁽³³⁾ como também foi observado na vigilância das cepas de RVA na Austrália.⁽⁵⁶⁾ A emergência de G2P[4] a partir de 2007 foi igualmente relatada em países que introduziram a vacina pentavalente Rotateq[®] em seus calendários vacinais, como Austrália e Nicarágua,^(56,57) e em populações não vacinadas (como portugueses, argentinos e paraguaios).⁽⁵⁸⁾

A periodicidade temporal na circulação de genótipos de RVA é fato documentado. No Brasil, G2P[4] apresenta um padrão cíclico de ~10 anos,⁽⁴⁹⁾ o qual deve ser considerado uma explicação alternativa para o aumento na detecção de G2P[4] após 2007.⁽⁴⁰⁾ O monitoramento de cepas de RVA circulando em adultos foi conduzido no Brasil, visando esclarecer a suposta pressão vacinal sobre a população pediátrica. Nesse estudo, uma

alta prevalência de G2P[4] também foi observada, sugerindo que essa emergência provavelmente segue uma tendência mundial ditada pelas flutuações oscilatórias dos genótipos de RVA e, aparentemente, não está relacionada à vacinação.⁽⁵⁹⁾

Na tentativa de entender melhor a mudança na distribuição de cepas RVA após a introdução Rotarix[®] no Brasil, foram realizadas diversas análises de séries temporais dos genótipos detectados entre 2006 e 2014. Com esta abordagem, foram observadas alterações temporais importantes no país. A circulação predominante e sustentada de cepas G2P[4] foi observada ao longo de anos consecutivos após a introdução da Rotarix[®] (2006 a 2010), mas sua detecção diminuiu gradualmente a partir de 2011. Como esperado, devidos às altas taxas de cobertura vacinal no país, as cepas G1P[8] foram detectadas em baixa prevalência. A frequência de detecção das cepas G9P[8] diminuiu abruptamente nos 2 anos seguintes após a introdução da Rotarix[®], ressurgindo como o genótipo dominante em 2011 e, em seguida, diminuindo novamente de modo rápido em 2012. Em contraste, a G3P[8], raramente detectado nas Regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil por 3 anos consecutivos (2006 a 2008), elevou progressivamente sua taxa de detecção ao longo de 2009, 2010 e 2011, atingindo pico de prevalência em 2012 e 2013. G12P[8] foi detectada pela primeira vez, com baixa prevalência, durante as temporadas de 2008 e 2009. Entre 2011 e 2012, as cepas G12P[8] exibiram um aumento gradual de circulação. Em 2013, a detecção de G12P[8] diminuiu drasticamente, para, de repente, reemergir como o genótipo mais prevalente em 2014.^(33,51,60-62) De modo geral, esses estudos demonstram rápida mudança no padrão de distribuição dos genótipos de RVA prevalentes em circulação no Brasil após a introdução vacinal, reforçando que a vigilância contínua dos genótipos de RVA é fundamental para se avaliarem o impacto e o sucesso da vacinação.

A emergência do genótipo G12P[8] como uma cepa epidemiologicamente importante em todo o mundo gera novas preocupações no desenvolvimento e no monitoramento das vacinas contra RVA, em relação à capacidade de induzir proteção heterotípica contra estas cepas G12. Os ensaios de eficácia das duas vacinas contra RVA licenciadas (Rotarix[®] e RotaTeq[®]) incidiram sobre os genótipos G mais prevalentes (G1, G2, G3, G4 e G9), e os dados sobre suas eficácias contra G12 são muito limitadas.⁽⁶³⁾ A presença da proteína VP4 P[8] nas cepas G12 sugere que ambas as vacinas possam atuar de forma eficiente contra a emergência de cepas G12P[8].⁽⁶⁴⁾

Diante dessas considerações, laboratórios sentinelas em todo o mundo monitoram a circulação das cepas de RVA após a introdução vacinal, visando detectar tipos

G(s) e P(s) raros ou incomuns não incluídos nas vacinas comercializadas e/ou vacinas candidatas.⁽⁴⁰⁾ Apesar da possibilidade do surgimento de novas cepas de RVA, a vacinação com Rotarix® e/ou RotaTeq® demonstrou reduzir significativamente a incidência de doença diarreica causada por RVA, a qual mantém-se abaixo dos níveis observados no período pré-vacinal.⁽⁶⁴⁾

Distribuição das cepas dos rotavírus A em animais

Existe uma grande variedade de cepas de RVA circulante nos animais. Os genótipos G3, G5, G10, G14 e P[12] são comumente encontrados em equinos.^(9,65) Os RVA que infectam bovinos estão relacionados aos genótipos G1, G6-G8, G10, G11, G15, G18 e G21, e P[1], P[5], P[11], P[14], P[17], P[21] e P[29]; sendo G6, G8 e G10 associados a P[5], P[11] e P[1] – os mais prevalentes.^(6,9,66) G6 é frequentemente detectado em gado de corte e G10, em rebanho leiteiro.⁽⁶⁷⁾ De modo muito interessante, da mesma forma que ocorre em humanos, também foram observadas variações cíclicas nos genótipos detectados em bovinos no Japão: G10 (1995), G8 (1996) e G6 (1997) (Tabela 1).⁽⁶⁸⁾

Inúmeros genótipos já foram descritos em suínos: G1-G6, G8-G12, P[1], P[5-8], P[11], P[13], P[19], P[21-27] e P[32].⁽⁶⁹⁾ As cepas de RVA isoladas em cordeiros pertencem aos genótipos G1, G3, G5, G6, G8, G9 e G10, sendo que os genótipos G3, G6 e G10 encontram-se comumente associados aos tipos P pertencentes a P[1], P[11] e P[14].⁽⁶⁾ Em caprinos, o genótipo mais comum é o G6P[5],⁽⁶⁾ mas outras cepas também já foram descritas: G3P[3] na Coreia do Sul, G6P[14] na África do Sul e G6P[1] na Itália (Tabela 1).⁽⁷⁰⁾

Em animais domésticos, o genótipo G3 é o mais prevalente, sendo mais comumente associado a P[3] e P[5] em cães, e a P[3] e P[9] em gatos.^(6,71) Ainda, G3 também é frequentemente detectado em coelhos, embora associado a P[22] e P[14].⁽⁷²⁾ Existem informações limitadas quanto aos genótipos circulantes em aves, e estudos reportam a detecção de G7, G23, G22, G6, G10 e P[37].^(8,20) Entretanto, o RVA detectado em aves parece ser geneticamente heterogêneo, quando comparado ao de mamíferos (Tabela 1).⁽²⁰⁾

Os genótipos de RVA que circulam em animais selvagens são praticamente desconhecidos. Existem relatos de detecção de G3P[9] em guaxinins (*Nyctereutes larvata*) e ocelotes mascarados (*Paguma larvata*) no Japão;⁽⁷⁾ G25P[6] em morcegos da fruta (*Eidolon helvum*) no Quênia;⁽⁷³⁾ G8P[14] em vicunhas (*Vicugna vicugna*) na Argentina;⁽⁶⁶⁾ G1P[7] em um panda gigante na China;⁽⁷⁴⁾ G3P[3] em morcego-de-ferradura (*Rhinolophus hipposideros*) na China;⁽⁷⁵⁾ G9P[23], G4P[23], G9P[13] e

G4P[6] em javalis (*Sus scrofa*) no Japão⁽⁷⁶⁾ e G10P[11] em uma girafa do zoológico de Dublin, Irlanda.⁽⁷⁷⁾ No entanto, ainda não é possível concluir se esses animais são comumente infectados por esses genótipos, ou se são resultantes de transmissões interespecie e/ou rearranjos gênicos (Tabela 1).

Transmissão dos rotavírus A

Infecções por RVA são adquiridas principalmente por via fecal-oral, incluindo fômites e contato pessoa a pessoa ou com objetos contaminados. A transmissão de RVA pelo consumo de água ou alimentos contaminados também é relatada, mas ocorre de forma mais rara. Embora os RVA tenham sido detectados em amostras de urina e no trato respiratório superior, acredita-se que esses fluidos corporais não estão comumente associados a sua transmissão.⁽¹⁾

Transmissão interespecie e potencial zoonótico dos rotavírus A

A habilidade de transmissão do RVA entre espécies de mamíferos é evidenciada desde a década de 1980.⁽⁶⁾ Castrucci et al.⁽⁷⁸⁾ demonstraram que bezerras eram suscetíveis à infecção de RVA de coelhos, os quais, por sua vez, também se infectaram com RVA bovino. Bezerras são igualmente suscetíveis à infecção por RVA de origem símia, porcina ou leporídea.⁽⁷⁸⁾ A excreção de RVA de origem bovina já foi detectada em cães e gatos, e a transmissão de RVA de mamíferos para aves também já foi documentada.^(79,80)

O advento da biologia molecular permitiu identificar cepas de RVA de origem animal, infectando humanos em diferentes partes do mundo, inclusive no Brasil.⁽⁸¹⁾ O sequenciamento do genoma completo de cepas de RVA humanas pertencentes ao genótipo G3P[3] (Ro1845 e HCR 3A) revelou que ambas as cepas estão intimamente relacionadas tanto com RVA de origem canina (CU-1; K9 e A79-10) quanto felina (Cat97).⁽⁷¹⁾ RVA de equinos parece exibir uma relação genética íntima com RVA derivados de humanos e suínos.⁽⁸²⁾ Cepas de RVA G3 (comum em gatos, cães, porcos e cavalos), G5 (comum em porcos e cavalos), G6, G8 e G10 (comum em gado) e G9 (comum em porcos e cordeiros) foram identificadas em populações humanas em diferentes partes do mundo. Genótipos G4, G5, G6 e G8 de origem porcina foram encontrados circulando em humanos, bezerras e camelos.^(6,9) Esses dados sugerem que os suínos talvez configurem como principal reservatório de RVA e fonte geradora de cepas emergentes, tanto em humanos quanto em outros animais.⁽⁹⁾ Com essas consi-

derações, os RVA devem ser tomados como potenciais patógenos zoonóticos.

O principal meio de transmissão zoonótica é o contato íntimo entre humanos e animais. O risco de transmissão zoonótica também está presente na contaminação de reservatórios de água ou alimentos por excrementos de animais infectados.^(6,9) Entretanto, existe uma limitação muito importante no estudo das zoonoses causadas por RVA: a falta de vínculo epidemiológico entre casos humanos e animais. Dessa forma, o estudo do evento zoonótico de uma cepa particular de RVA é constatado apenas com base em evidências filogenéticas e dados disponíveis sobre a frequência de detecção de um genótipo específico em um hospedeiro particular.⁽⁸¹⁾

Diversidade genética e evolução dos rotavírus A

Os RVA se diversificam e evoluem por meio de dois mecanismos principais. O primeiro mecanismo é a acumulação de mutações pontuais, as quais dão origem às linhagens genéticas e levam ao surgimento de mutantes capazes de escapar de anticorpos previamente existentes. O segundo mecanismo é o *shift* gênico, ocorrendo troca de material genético por meio de rearranjos (*reassortants*) dos segmentos genéticos durante a infecção de uma única célula por dois ou mais tipos diferentes de RVA.^(1,83)

Rearranjos entre RVA de origem animal e humana podem ocorrer, gerando vírus quiméricos contendo segmentos genômicos de ambos. Acredita-se que, quando o RVA atravessa a barreira interespecie, o mesmo não é capaz de infectar e de se disseminar de forma eficiente no novo hospedeiro. No entanto, ao adquirir segmentos humanos, tais vírus quiméricos aumentariam suas chances de se difundir de forma eficiente entre a população humana. Dessa forma, a transmissão zoonótica e o rearranjo de segmentos gênicos entre RVA de origem humana e animal contribuem efetivamente para o aumento da diversidade de cepas que infectam humanos.⁽⁸¹⁾ Um fator crucial para a geração de RVA rearranjados é a alta frequência de coinfeção. Nos países em desenvolvimento, a taxa de coinfeção é maior (cerca de 20%) que nos países desenvolvidos (cerca de 5%). Isso também pode explicar porque a frequência de detecção de cepas atípicas é maior nos países em desenvolvimento.⁽⁴⁸⁾

Indícios de que tipos G e/ou P incomuns podem se tornar epidemiologicamente importantes vêm se acumulando ao redor do mundo.⁽⁸⁴⁾ É difícil, porém, prever quais cepas devem conseguir se disseminar, a fim de se tornarem globalmente comuns. A cepa G9P[8] representa um exemplo recente dessa disseminação, pois foi previamente considerada rara e, atualmente, assume uma posição dominante entre as cepas circulantes no mundo.⁽⁴⁸⁾ Recentemente, relatos evidenciam um aumento na

frequência de detecção do genótipo G12, indicando que esta será, provavelmente, a próxima cepa a se tornar globalmente dominante.^(48,50) Evidências filogenéticas indicam que essas duas cepas em particular, G9 e G12, provavelmente tiveram origem suína e passaram a infectar humanos a partir de rearranjos gênicos.⁽⁹⁾

CONCLUSÃO

O rotavírus do grupo A é o principal agente etiológico causador de doença diarreica aguda em crianças em todo o mundo. No entanto, uma significativa redução nos casos de doença diarreica aguda associada ao rotavírus do grupo A foi observada após a introdução vacinal, inclusive no Brasil. Atualmente, faz-se importante ampliar o monitoramento da doença diarreica aguda associada a outros patógenos (virais ou não) em crianças <5 anos. A era pós-vacinal gerou um novo cenário epidemiológico em relação às infecções causadas pelo rotavírus do grupo A, sendo a vigilância continuada dos genótipos crucial para a identificação de cepas emergentes, assim como para a avaliação da eficácia vacinal em diferentes localidades do globo. Existem robustas interações entre os rotavírus do grupo A de origem animal e humana, mas estudos zoonóticos são limitados, pela escassa disponibilidade de sequências genômicas de rotavírus do grupo A de origem animal. A vigilância simultânea das infecções por rotavírus do grupo A em animais (incluindo os selvagens) e humanos, e o acúmulo de sequências nucleotídicas provenientes de cepas animais são vitais para a compreensão da ecologia, da epidemiologia e da evolução desses vírus.

REFERÊNCIAS

1. Estes MK, Kapikian AZ. Rotaviruses. In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Straus SE, editors. Fields virology. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. p. 1917-74.
2. Black RE, Cousens S, Johnson HL, Lawn JE, Rudan I, Bassani DG, Jha P, Campbell H, Walker CF, Cibulskis R, Eisele T, Liu L, Mathers C; Child Health Epidemiology Reference Group of WHO and UNICEF. Global, regional, and national causes of child mortality in 2008: a systematic analysis. *Lancet*. 2010;375(9730):1969-87.
3. Lamberti LM, Fischer Walker CL, Noiman A, Victora C, Black RE. Breastfeeding and the risk for diarrhea morbidity and mortality. *BMC Public Health*. 2011;11 Suppl 3:S15. Review.
4. Kang G. Rotavirus vaccines. *Indian J Med Microbiol*. 2006;24(4):252-7. Review.
5. Lanzieri TM, Linhares AC, Costa I, Kolhe DA, Cunha MH, Ortega-Barria E, et al. Impact of rotavirus vaccination on childhood deaths from diarrhea in Brazil. *Int J Infect Dis*. 2011;15(3):e206-10.
6. Dhama K, Chauhan RS, Mahendran M, Malik SV. Rotavirus diarrhea in bovines and other domestic animals. *Vet Res Commun*. 2009;33(1):1-23. Review.
7. Abe M, Yamasaki A, Ito N, Mizoguchi T, Asano M, Okano T, et al. Molecular characterization of rotaviruses in a Japanese raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) and a masked palm civet (*Paguma larvata*) in Japan. *Vet Microbiol*. 2010;146(3-4):253-9.

8. Silva LC, Sanches AA, Gregori F, Brandão PE, Alfieri AA, Headley SA, et al. First description of group A rotavirus from fecal samples of ostriches (*Struthio camelus*). *Res Vet Sci*. 2012;93(2):1066-9.
9. Martella V, Bányai K, Matthijnssens J, Buonavoglia C, Ciarlet M. Zoonotic aspects of rotaviruses. *Vet Microbiol*. 2010;140(3-4):246-55. Review.
10. Mossel E, Estes M, Ramig F. Coding assignments and virion locations of rotavirus proteins and 3D structure of the rotavirus particle [Internet]. [cited 2015 Nov 23]. Available from: http://www.reoviridae.org/dsrna_virus_proteins/rotavirus%20figure.htm
11. Ramig RF. Pathogenesis of intestinal and systemic rotavirus infection. *J Virol*. 2004;78(19):10213-20. Review.
12. Desselberger U. Rotavirus infections: guidelines for treatment and prevention. *Drugs*. 1999;58(3):447-52. Review.
13. Medici MC, Abelli LA, Guerra P, Dodi I, Dettori G, Chezzi C. Case report: detection of rotavirus RNA in the cerebrospinal fluid of a child with rotavirus gastroenteritis and meningism. *J Med Virol*. 2011;83(9):1637-40.
14. Matthijnssens J, Ciarlet M, McDonald SM, Attoui H, Bányai K, Brister JR, et al. Uniformity of rotavirus strain nomenclature proposed by the Rotavirus Classification Working Group (RCWG). *Arch Virol*. 2011;156(8):1397-413.
15. Mihalov-Kovács E, Gellért Á, Marton S, Farkas SL, Fehér E, Oldal M, et al. Candidate new rotavirus species in sheltered dogs, Hungary. *Emerg Infect Dis*. 2015;21(4):660-3.
16. Nagashima S, Kobayashi N, Ishino M, Alam MM, Ahmed MU, Paul SK, et al. Whole genomic characterization of a human rotavirus strain B219 belonging to a novel group of the genus Rotavirus. *J Med Virol*. 2008;80(11):2023-33.
17. Molinari BL, Lorenzetti E, Otonel RA, Alfieri AF, Alfieri AA. Species H rotavirus detected in piglets with diarrhea, Brazil, 2012. *Emerg Infect Dis*. 2014;20(6):1019-22.
18. Johne R, Otto P, Roth B, Löhren U, Belnap D, Reetz J, et al. Sequence analysis of the VP6-encoding genome segment of avian group F and G rotaviruses. *Virology*. 2011;412(2):384-91.
19. Steele AD, Geyer A, Gerdes GH. Rotavirus infections. In: Coetzer JA, Tustin RC, editors. *Infectious diseases of livestock*. 2nd ed. Southern Africa: Oxford University Press; 2004. p. 1256-64.
20. Trojnar E, Sachsenröder J, Twardziok S, Reetz J, Otto PH, Johne R. Identification of an avian group A rotavirus containing a novel VP4 gene with a close relationship to those of mammalian rotavirus. *J Gen Virol*. 2013;94(Pt 1):136-42.
21. Velázquez FR, Matson DO, Calva JJ, Guerrero L, Morrow AL, Carter-Campbell S, et al. Rotavirus infections in infants as protection against subsequent infections. *N Engl J Med*. 1996;335(14):1022-8.
22. Fischer TK, Valentiner-Branth P, Steinsland H, Perch M, Santos G, Aaby P, et al. Protective immunity after natural rotavirus infection: a community cohort study of newborn children in Guinea-Bissau, west Africa. *J Infect Dis*. 2002;186(5):593-7.
23. Leung AK, Kellner JD, Davies HD. Rotavirus gastroenteritis. *Adv Ther*. 2005;22(5):476-87. Review.
24. Offit PA, Shaw RD, Greenberg HB. Passive protection against rotavirus-induced diarrhea by monoclonal antibodies to surface proteins Vp3 and Vp7. *J Virol*. 1986;58(2):700-3.
25. Cortese MM, Parashar UD; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention of rotavirus gastroenteritis among infants and children: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep*. 2009;58(RR-2):1-25. Erratum in: *MMWR Recomm Rep*. 2010;59(33):1074.
26. Morillo SG, Luchs A, Cilli A, Carmona RC, Neme SN, Timenetsky MC. Rotavirus genotype G4P[8] and enteric adenovirus in HIV-positive patients with and without diarrhoea in São Paulo State, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2010;104(2):165-7.
27. Rossignol JF, El-Gohary YM. Nitazoxanide in the treatment of viral gastroenteritis: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006;24(10):1423-30.
28. Kim Y, George D, Prior AM, Prasain K, Hao S, Le DD, et al. Novel triacsin C analogs as potential antivirals against rotavirus infections. *Eur J Med Chem*. 2012;50:311-8.
29. Cecílio AB, de Faria DB, Oliveira Pde C, Caldas S, de Oliveira DA, Sobral ME, et al. Screening of Brazilian medicinal plants for antiviral activity against rotavirus. *J Ethnopharmacol*. 2012;141(3):975-81.
30. Dennehy PH. Rotavirus vaccines: an overview. *Clin Microbiol Rev*. 2008;21(1):198-208. Review.
31. Armah GE, Kapikian AZ, Vesikari T, Cunliffe N, Jacobson RM, Burlington DB, et al. Efficacy, immunogenicity, and safety of two doses of a tetravalent rotavirus vaccine RRV-TV in Ghana with the first dose administered during the neonatal period. *J Infect Dis*. 2013;208(3):423-31.
32. Matthijnssens J, Joelsson DB, Warakomski DJ, Zhou T, Mathis PK, van Maanen MH, et al. Molecular and biological characterization of the 5 human-bovine rotavirus (WC3)-based reassortant strains of the pentavalent rotavirus vaccine, RotaTeq. *Virology*. 2010;403(2):111-27.
33. Luchs A, Cilli A, Morillo SG, Carmona Rde C, Timenetsky Mdo C. Rotavirus genotypes circulating in Brazil, 2007-2012: implications for the vaccine program. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2015;57(4):305-13.
34. Bhandari N, Rongsen-Chandola T, Bavdekar A, John J, Antony K, Taneja S, Goyal N, Kawade A, Kang G, Rathore SS, Juvekar S, Muliylil J, Arya A, Shaikh H, Abraham V, Vрати S, Proschan M, Kohberger R, Thiry G, Glass R, Greenberg HB, Curlin G, Mohan K, Harshvardhan GV, Prasad S, Rao TS, Boslego J, Bhan MK; India Rotavirus Vaccine Group. Efficacy of a monovalent human-bovine (116E) rotavirus vaccine in Indian infants: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2014;383(9935):2136-43.
35. Kabayiza JC, Andersson ME, Nilsson S, Bergström T, Muhirwa G, Lindh M. Real-time PCR identification of agents causing diarrhea in Rwandan children less than 5 years of age. *Pediatr Infect Dis J*. 2014;33(10):1037-42.
36. Santos N, Honma S, Timenetsky Mdo C, Linhares AC, Ushijima H, Armah GE, et al. 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*. 2008;46(2):462-9.
37. Honma S, Chizhikov V, Santos N, Tatsumi M, Timenetsky Mdo C, Linhares AC, et al. 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*. 2007;45(8):2641-8.
38. Tate JE, Burton AH, Boschi-Pinto C, Steele AD, Duque J, Parashar UD; WHO-coordinated Global Rotavirus Surveillance Network. 2008 estimate of worldwide rotavirus-associated mortality in children younger than 5 years before the introduction of universal rotavirus vaccination programmes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2012;12(2):136-41. Review.
39. Timenetsky MC, Gouvea V, Santos N, Alge ME, Kisiellius JJ, Carmona RC. Outbreak of severe gastroenteritis in adults and children associated with type G2 rotavirus. Study Group on Diarrhea of the Instituto Adolfo Lutz. *J Diarrhoeal Dis Res*. 1996;14(2):71-4.
40. Morillo SG, Luchs A, Cilli A, Costa FF, Carmona Rde C, Timenetsky Mdo C. Characterization of rotavirus strains from day care centers: pre- and post-rotavirus vaccine era. *J Pediatr (Rio J)*. 2010;86(2):155-8.
41. Parashar UD, Bresee JS, Gentsch JR, Glass RI. Rotavirus. *Emerg Infect Dis*. 1998;4(4):561-70. Review.
42. Levy K, Hubbard AE, Eisenberg JN. Seasonality of rotavirus disease in the tropics: a systematic review and meta-analysis. *Int J Epidemiol*. 2009;38(6):1487-96. Review.
43. Luchs A, Morillo SG, Ribeiro CD, Cilli A, Calux SJ, Carmona Rde C, et al. Rotavirus G2P[4] and G2P[4]+[6] infections during norovirus gastroenteritis outbreak: summer season 2010, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2013;46(2):227-30.
44. de Castro L, Rodrigues Ddos P, Flauzino R, Moura M, Leite JP. An outbreak of diarrhoea associated with rotavirus serotype 1 in a day care nursery in Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1994;89(1):5-9.
45. Patel MM, Steele D, Gentsch JR, Wecker J, Glass RI, Parashar UD. Real-world impact of rotavirus vaccination. *Pediatr Infect Dis J*. 2011;30(1 Suppl):S1-5. Review.
46. Desai R, Curns AT, Steiner CA, Tate JE, Patel MM, Parashar UD. All-cause gastroenteritis and rotavirus-coded hospitalizations among US children, 2000-2009. *Clin Infect Dis*. 2012;55(4):e28-34.

47. Braeckman T, Van Herck K, Raes M, Vergison A, Sabbe M, Van Damme P. Rotavirus vaccines in Belgium: policy and impact. *Pediatr Infect Dis J*. 2011; 30(1 Suppl):S21-4.
48. Patton JT. Rotavirus diversity and evolution in the post-vaccine world. *Discov Med*. 2012;13(68):85-97. Review.
49. Carmona RC, Timenetsky Mdo C, Morillo SG, Richtzenhain LJ. Human rotavirus serotype G9, São Paulo, Brazil, 1996-2003. *Emerg Infect Dis*. 2006; 12(6):963-8.
50. Rahman M, Matthijnssens J, Yang X, Delbeke T, Arijs I, Taniguchi K, et al. Evolutionary history and global spread of the emerging g12 human rotaviruses. *J Virol*. 2007;81(5):2382-90.
51. Luchs A, Cilli A, Morillo SG, de Souza Gregório D, Farias de Souza KA, Vieira HR, et al. Detection of the emerging rotavirus G12P[8] genotype at high frequency in Brazil 2014: Successive replacement of predominant strains vaccine introduction. *Acta Trop*. 2016;156:87-94.
52. World Health Organization (WHO). Global rotavirus information and surveillance bulletin. Reporting period: January through December 2010 [Internet]. WHO. 2011;4:2011. [cited 2016 Jan 28]. Available from: http://www.who.int/immunization/sage/3_Final_RV_bulletin_Jan_Dec_2010_Data_nov11.pdf
53. Parra GI. Seasonal shifts of group A rotavirus strains as a possible mechanism of persistence in the human population. *J Med Virol*. 2009;81(3):568-71.
54. Cunliffe NA, Gondwe JS, Graham SM, Thindwa BD, Dove W, Broadhead RL, et al. Rotavirus strain diversity in Blantyre, Malawi, from 1997 to 1999. *J Clin Microbiol*. 2001;39(3):836-43.
55. Nakagomi T, Cuevas LE, Gurgel RG, Elrokhsi SH, Belkhir YA, Abugalia M, et al. Apparent extinction of non-G2 rotavirus strains from circulation in Recife, Brazil, after the introduction of rotavirus vaccine. *Arch Virol*. 2008;153(3):591-3.
56. Kirkwood CD, Boniface K, Bishop RF, Barnes GL. Australian Rotavirus Surveillance Program: annual report, 2009/2010. *Commun Dis Intell Q Rep*. 2010;34(4):427-34.
57. Patel M, Pedreira C, De Oliveira LH, Tate J, Orozco M, Mercado J, et al. Association between pentavalent rotavirus vaccine and severe rotavirus diarrhea among children in Nicaragua. *JAMA*. 2009;301(21):2243-51.
58. Esteban LE, Rota RP, Gentsch JR, Jiang B, Esona M, Glass RI, et al. 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*. 2010; 82(6):1083-93.
59. Luchs A, Cilli A, Morillo SG, de Cassia Compagnoli Carmona R, do Carmo Sampaio Tavares Timenetsky M. Rotavirus in adults, Brazil, 2004-2011: G2P[4] dominance and potential impact on vaccination. *Braz J Infect Dis*. 2014;18(1):53-9.
60. Martínez M, Amarilla AA, Galeano ME, Aquino VH, Fariña N, Russomando G, et al. Predominance of rotavirus G2P[4] and emergence of G12P[9] strains in Asunción, Paraguay, 2006-2007. *Arch Virol*. 2010;155(4):525-33.
61. Carvalho-Costa FA, Volotão Ede M, de Assis RM, Fialho AM, de Andrade Jda S, Rocha LN, et al. Laboratory-based rotavirus surveillance during the introduction of a vaccination program, Brazil, 2005-2009. *Pediatr Infect Dis J*. 2011;30(1 Suppl):S35-41.
62. Dulgheroff AC, Figueiredo EF, Moreira LP, Moreira KC, Moura LM, Gouvêa VS, et al. Distribution of rotavirus genotypes after vaccine introduction in the Triângulo Mineiro region of Brazil: 4-Year follow-up study. *J Clin Virol*. 2012; 55(1):67-71.
63. Caillère N, Vilain P, Brottet E, Kaplon J, Ambert-Balay K, Polycarpe D, et al. A major outbreak of gastroenteritis in Réunion Island in 2012: first identification of G12 rotavirus on the Island. *Euro Surveill*. 2013;18(19):20476. Erratum in: *Euro Surveill*. 2013;18(23):pii/20501.
64. Pitzer VE, Patel MM, Lopman BA, Viboud C, Parashar UD, Grenfell BT. Modeling rotavirus strain dynamics in developed countries to understand the potential impact of vaccination on genotype distributions. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(48):19353-8.
65. Matthijnssens J, Miño S, Papp H, Potgieter C, Novo L, Heylen E, et al. Complete molecular genome analyses of equine rotavirus A strains from different continents reveal several novel genotypes and a largely conserved genotype constellation. *J Gen Virol*. 2012;93(Pt 4):866-75.
66. Badaracco A, Matthijnssens J, Romero S, Heylen E, Zeller M, Garaicoechea L, et al. Discovery and molecular characterization of a group A rotavirus strain detected in an Argentinean vicuña (*Vicugna vicugna*). *Vet Microbiol*. 2013; 161(3-4):247-54.
67. Varshney B, Jagannath MR, Vethanayagam RR, Kodhandaraman S, Jagannath HV, Gowda K, et al. Prevalence of, and antigenic variation in, serotype G10 rotaviruses and detection of serotype G3 strains in diarrheal calves: implications for the origin of G10P11 or P11 type reassortant asymptomatic strains in newborn children in India. *Arch Virol*. 2002;147(1):143-65.
68. Fukai K, Maeda Y, Fujimoto K, Itou T, Sakai T. Changes in the prevalence of rotavirus G and P types in diarrheic calves from the Kagoshima prefecture in Japan. *Vet Microbiol*. 2002;86(4):343-9.
69. Miyazaki A, Kuga K, Suzuki T, Kohmoto M, Katsuda K, Tsunemitsu H. Genetic diversity of group A rotaviruses associated with repeated outbreaks of diarrhea in a farrow-to-finish farm: identification of a porcine rotavirus strain bearing a novel VP7 genotype, G26. *Vet Res*. 2011;42:112.
70. Ghosh S, Alam MM, Ahmed MU, Talukdar RI, Paul SK, Kobayashi N. Complete genome constellation of a caprine group A rotavirus strain reveals common evolution with ruminant and human rotavirus strains. *J Gen Virol*. 2010; 91(Pt 9):2367-73.
71. Tsugawa T, Hoshino Y. Whole genome sequence and phylogenetic analyses reveal human rotavirus G3P[3] strains Ro1845 and HCR3A are examples of direct virion transmission of canine/feline rotaviruses to humans. *Virology*. 2008;380(2):344-53.
72. Martella V, Ciarlet M, Lavazza A, Camarda A, Lorusso E, Terio V, et al. Lapine rotaviruses of the genotype P[22] are widespread in Italian rabbitries. *Vet Microbiol*. 2005;111(1-2):117-24.
73. Esona MD, Mijatovic-Rustempasic S, Conrardy C, Tong S, Kuzmin IV, Agwanda B, et al. Reassortant group A rotavirus from straw-colored fruit bat (*Eidolon helvum*). *Emerg Infect Dis*. 2010;16(12):1844-52.
74. Guo L, Yan Q, Yang S, Wang C, Chen S, Yang X, et al. Full Genome Sequence of Giant Panda Rotavirus Strain CH-1. *Genome Announc*. 2013;1(1). pii: e00241-12.
75. He B, Yang F, Yang W, Zhang Y, Feng Y, Zhou J, et al. Characterization of a novel G3P[3] rotavirus isolated from a lesser horseshoe bat: a distant relative of feline/canine rotaviruses. *J Virol*. 2013;87(22):12357-66.
76. Okadera K, Abe M, Ito N, Morikawa S, Yamasaki A, Masatani T, et al. Evidence of natural transmission of group A rotavirus between domestic pigs and wild boars (*Sus scrofa*) in Japan. *Infect Gen Evol*. 2013;20:54-60.
77. O'Shea H, Mulherin E, Matthijnssens J, McCusker MP, Collins PJ, Cashman O, et al. Complete genomic sequence analyses of the first group A giraffe rotavirus reveals close evolutionary relationship with rotavirus infecting other members of the Artiodactyla. *Vet Microbiol*. 2014;170(1-2):151-6.
78. Castrucci G, Frigeri F, Ferrari M, Cilli V, Aldrovandi V, Caleffi F, et al. Comparative study of rotavirus strains of bovine and rabbit origin. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 1984;7(3-4):171-8.
79. Schwers A, Hoyois P, Chappuis G, Dagenais L, Pastoret PP. Propagation of bovine rotavirus by cats and dogs. *Ann Rech Vet*. 1982;13(4):303-8.
80. Wani SA, Bhat MA, Ishaq SM, Ashrafi MA, Buchh AS, Haq M. Detection of a mammalian-like group A rotavirus in diarrhoeic chicken. *Vet Microbiol*. 2003;94(1):13-8.
81. Luchs A, Cilli A, Morillo SG, Carmona Rde C, Timenetsky Mdo C. Rare G3P[3] rotavirus strain detected in Brazil: possible human-canine interspecies transmission. *J Clin Virol*. 2012;54(1):89-92.
82. Ciarlet M, I a P, Conner ME, Liprandi F. Antigenic and molecular analyses reveal that the equine rotavirus strain H-1 is closely related to porcine, but not equine, rotaviruses: interspecies transmission from pigs to horses? *Virus Genes*. 2001;22(1):5-20.
83. Iturriza-Gómara M, Isherwood B, Desselberger U, Gray J. Reassortment in vivo: driving force for diversity of human rotavirus strains isolated in the United Kingdom between 1995 and 1999. *J Virol*. 2001;75(8):3696-705.
84. Dóro R, László B, Martella V, Leshem E, Gentsch J, Parashar U, et al. Review of global rotavirus strain prevalence data from six years post vaccine licensure surveillance: Is there evidence of strain selection from vaccine pressure? *Infect Genet Evol*. 2014;28:446-61. Review.