



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE MEDICINA**

LAÍZA LOBÃO ALVES

**CIRCULAÇÃO DOS GENÓTIPOS DE ROTAVÍRUS ANTES E
DEPOIS DA INTRODUÇÃO DA VACINA CONTRA ROTAVÍRUS NO
BRASIL: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

ARACAJU
2016

LAÍZA LOBÃO ALVES

**CIRCULAÇÃO DE GENÓTIPOS DE ROTAVÍRUS ANTES E DEPOIS DA
INTRODUÇÃO DA VACINA CONTRA ROTAVÍRUS NO BRASIL: UMA REVISÃO
SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Medicina da Universidade Federal de Sergipe, como pré-requisito obrigatório para obtenção do título de bacharel em Medicina. **Orientador:** Professor Doutor Ricardo Queiroz Gurgel

ARACAJU

2016

LAÍZA LOBÃO ALVES

**CIRCULAÇÃO DOS GENÓTIPOS DE ROTAVÍRUS ANTES E DEPOIS DA
INTRODUÇÃO DA VACINA CONTRA ROTAVÍRUS NO BRASIL: UMA REVISÃO
SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Departamento de Medicina da Universidade
Federal de Sergipe, como pré-requisito
obrigatório para obtenção do título de Bacharel
em Medicina.

Aprovado em: ____/____/____

Prof. Dr. Ricardo Queiroz Gurgel
(Orientador)

Prof. Dr.
1° Examinador

Prof. Dr.
2° Examinador

Dedico este trabalho aos meus pais e aos meus irmãos, fundamentais para que não me fizessem desistir diante das dificuldades.

Agradecimentos

A Deus, por me abençoar, guiar, proteger e iluminar meu caminho, me dando força, sabedoria, paciência e coragem para enfrentar os obstáculos.

Aos meus pais, Alcides e Leniluce, por não medirem esforços quando o assunto é saúde ou educação de seus filhos. Muito obrigada por tanto amor, proteção e abdicção! Não há palavras que possam expressar toda minha gratidão.

Aos meus irmãos, Hugo e Leilane, pelo apoio e companheirismo. Aos meus cunhados, Cleger e Marina, que torcem por mim. Ao meu sobrinho Vinícius, que deixou o mundo muito mais colorido com a sua chegada. A minha família, em especial a vovó Zelita, que sempre tem uma palavra de conforto e acredita em mim.

Ao meu namorado, Victor, companheiro, amigo e paciente em todos os momentos, sempre ao meu lado, torcendo pela minha felicidade.

Aos professores, preceptores, funcionários do HU, pois sem eles não seria possível chegar até aqui. Aos professores que incentivam e são exemplo na Medicina, muito obrigada pelos ensinamentos e por mostrar o lado humano, ético e belo da nossa profissão.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ricardo Gurgel, pelas experiências científicas na pesquisa do grupo do rotavírus, PIBIC e pela orientação na monografia.

A Victor Santos, fundamental para a elaboração deste trabalho. Obrigada pela gentileza em me ajudar, mesmo de longe.

Aos pacientes, por me permitir conhecer suas histórias, ajudar com minhas palavras e mãos, sentir suas dores/alegrias e, assim, lapidar meu conhecimento.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

1. REVISÃO DA LITERATURA	6
1.1. Histórico.....	6
1.2. Epidemiologia	6
1.3. Agente etiológico e classificação	7
1.4. Transmissão e replicação viral.....	8
1.5. Imunidade.....	9
1.6. Quadro clínico e tratamento da infecção por rotavírus	10
1.7. Vacinas contra o rotavírus	12
1.8. Introdução da vacina contra o rotavírus na América Latina	14
1.9. Genótipos no Brasil e no mundo antes e após a introdução da vacina	14
REFERÊNCIAS	17
2. NORMAS DE PUBLICAÇÃO	19
2.1. JOURNAL OF CLINICAL VIROLOGY	19
3. ARTIGO	39

1. REVISÃO DA LITERATURA

1.1. Histórico

Descoberto por Bishop em 1973, em Melbourne, Austrália, pela identificação de partículas virais em cortes histológicos de mucosa duodenal de crianças com diarreia aguda, através da microscopia eletrônica, a denominação rotavírus foi sugerida por Flewett, devido à semelhança morfológica desses vírus a uma roda (em latim *rota*). No Brasil, a primeira descrição de rotavírus em humanos ocorreu em 1976, a partir de material fecal proveniente de crianças admitidas em um hospital público de Belém, Estado do Pará (LINHARES et al., 1976).

1.2. Epidemiologia

O rotavírus é a principal causa de gastroenterocolite aguda com desidratação severa em crianças de tal forma que praticamente todas as crianças já tiveram pelo menos um episódio de infecção por rotavírus antes dos 5 anos de idade. A infecção por rotavírus é uma causa evitável de morte na infância; ainda responsável por aproximadamente um terço das 1,34 milhões de mortes por diarreia e 9 milhões de hospitalizações mundiais entre crianças de 59 meses ou menos em 2004. Estimativas globais mais recentes revelam que em 2011 o rotavírus causou 197.000 das 700.000 mortes por diarreia (ENWERONU-LARYEA et al., 2014).

Um estudo prospectivo realizado na Finlândia no final de 1970 foi o primeiro a identificar a alta carga de doença por rotavírus nas crianças. Este estudo mostrou que o rotavírus foi o agente causador mais comum (54%) em crianças hospitalizadas com gastroenterite aguda. A gastroenterite por rotavírus foi clinicamente mais grave do que a gastroenterite pediátrica devido a outras causas em termos de desidratação e da presença de acidose metabólica (VESIKARI et al., 2013).

Mais de 600.000 crianças com menos de 5 anos de idade morrem a cada ano devido a gastroenterite por rotavírus, sendo a maioria destas mortes em países em desenvolvimento. Nos países desenvolvidos, a infecção por rotavírus raramente resulta em morte, mas continua a ser uma das principais causas de internações por gastroenterite aguda em crianças (SORIANO-GABARRÓ et al., 2008).

Na Europa as mortes são raras, mas as gastroenterites agudas por rotavírus resultam em mais de 87.000 hospitalizações anualmente, o que demanda custos elevados de saúde, e são associadas com prejuízo para a vida diária e um alto nível de estresse (VESIKARI et al., 2013).

No Brasil, a realidade não difere da mundial. Dados do DATASUS referentes ao ano de 2006 revelam que ocorreram nesse período 2.236 óbitos por doenças diarreicas em menores de 5 anos. Esse contingente, por região de procedência, totalizou: 1.291 óbitos na região Nordeste; 363 na região Norte; 348 na Sudeste; 143 na Centro-Oeste; e 91 na região Sul. O estado com a maior cifra foi a Bahia, onde ocorreram 271 óbitos por doença diarreica nessa faixa etária, e o de menor número de casos de óbito foi o Amapá, com apenas três mortes (SALVADOR et al., 2011).

Em países desenvolvidos, assim como no Brasil, a importância da rotavirose deve-se, dentre outros fatores, aos seus danos à saúde, afetando o desenvolvimento infantil, aos custos gerados pela demanda por serviços médicos e às perdas de dias de trabalho e de escola, gastos com medicamentos, transportes etc. Em suma, trata-se de um agravo de grandes repercussões. Para se fazer frente a tal problemática de consequências alarmantes para a população brasileira e mundial, torna-se imperativo conhecer as particularidades desse mal (SALVADOR et al., 2011).

1.3. Agente etiológico e classificação

O rotavírus pertence ao gênero *rotavirus*, família *Reoviridae*. É um vírus não-envelopado, possuindo 11 segmentos de RNA de cadeia dupla, cada um deles codificador de uma ou duas proteínas virais estruturais (VP) ou não-estruturais (NSP). O genoma é encapsulado por três camadas concêntricas de proteína (VP1, VP2, VP3), o núcleo, a camada intermédia (VP6) e a camada exterior da cápside (VP7, VP4). A proteína da camada intermédia VP6 define oito grupos antigênicos (A-H), baseados na reatividade com anticorpos e análise filogenética (TAMIM et al., 2013).

A classificação é baseada em diferenças nas 2 cápsides externas de proteínas que são alvos de anticorpos neutralizantes – a glicoproteína VP7, que determina o tipo G, e a proteína VP4 sensível à protease, que determina o tipo P. Pelo menos 15 tipos diferentes de G e 14 tipos diferentes de P foram identificados em humanos (SORIANO-GABARRÓ et al., 2008). Há uma

notável diversidade: uma revisão recente com dados de 1996 a 2007 documentou aproximadamente 110.000 genótipos mundialmente (KHAWAJA et al., 2014).

Quatro tipos comuns de G predominam em todo o mundo (G1, G2, G3 e G4), com os dados disponíveis sugerindo que estes são os responsáveis por mais de 88% de todas as infecções por rotavírus. As infecções causadas por G9 também têm se tornado mais prevalentes nos últimos anos. A frequência relativa de diferentes tipos de rotavírus G varia geograficamente. Por exemplo, G1 é o tipo predominante nos Estados Unidos, Europa e Austrália, representando mais de 70% das infecções por rotavírus nesses locais, em comparação com apenas 30% das infecções na América do Sul e Ásia e 23% na África. O domínio do tipo G circulante também pode mudar ao longo do tempo dentro da mesma região (SORIANO-GABARRÓ et al., 2008).

Há sete grupos principais de rotavírus (A-G), porém, a maioria das infecções se associa ao rotavírus A, apesar de terem sido encontrados os grupos B e C em doença humana. Foram descritos genótipos distintos dos rotavírus do grupo A (antígenos dos capsídeos externos G e P), sendo G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] e G9P[8] os mais comumente identificados no Brasil e no mundo. Vários relatos demonstraram a importância deste patógeno como responsável pela hospitalização de crianças com gastroenterite aguda. No Brasil, dados epidemiológicos sugerem taxas de detecção variando de 12% a 42% (PEREIRA et al., 2013).

Quanto à sazonalidade do rotavírus no território nacional, esta se apresenta de forma variável: ocorre um aumento na incidência do patógeno nos meses mais frios ou no período de seca, entre maio e setembro, nos estados das regiões Central e Sudeste; no Norte e no Nordeste, a ocorrência de rotavírus se distribui por todo o ano (SALVADOR et al., 2011).

1.4. Transmissão e replicação viral

Dentre os mecanismos de transmissão do rotavírus, destaca-se a via fecal-oral. Estima-se que as fezes de crianças infectadas apresentam altas concentrações desse patógeno, excretados dois dias antes do início dos sinais e sintomas e até 21 dias após esse período. Pessoas infectadas por rotavírus excretam até um trilhão de partículas em um ml de fezes, e como a carga viral necessária para infectar o homem é muito baixa (dez partículas), as epidemias são muito comuns. Outras formas de transmissão citadas na literatura são: brinquedos e superfícies de ambientes como pré-escolas e escolas; água, alimentos e objetos

contaminados; e secreções respiratórias. Além disso, estudos trazem o rotavírus como uma importante causa de diarreia nosocomial. Portanto, vê-se que esse patógeno possui eficientes mecanismos de exposição universal, os quais ignoram diferenças culturais regionais e nacionais (SALVADOR et al., 2011). É importante frisar que este patógeno independe das melhorias em saneamento básico e procedimentos higiênicos. (MORILLO et al., 2010).

No estudo de Pereira et al., publicado em 2013, foi demonstrado que os genótipos encontrados nos pacientes refletiram os mesmos genótipos que circulam na comunidade, destacando a importância de medidas de controle de infecção hospitalar para impedir a propagação do agente patogênico no meio ambiente.

Após a vacinação, deve-se orientar quanto à manutenção de uma higiene pessoal adequada ao se manusear as fezes das crianças vacinadas, tendo em vista a eliminação de vírus vacinal por esse meio, sendo que a lavagem das mãos deve ser enfatizada como a forma mais eficaz de manter tal cuidado, especialmente após manuseio de fraldas (SALVADOR et al., 2011).

Quando o ser humano ingere o vírus, a proteína VP4 da superfície externa dos rotavírus é fracionada pelas enzimas pancreatina, tripsina ou elastase, em duas proteínas menores (VP5 e VP8), e após esse fenômeno o vírus adere às células do epitélio intestinal. Assim, o principal sítio de replicação viral é o intestino delgado, em particular o jejuno, nas células do topo das vilosidades intestinais. A lesão de tal epitélio desencadeia então o fenômeno de má absorção, devido, principalmente, à depressão transitória no nível das dissacaridases, resultando, por conseguinte, no caráter osmótico da diarreia (SALVADOR et al., 2011).

Outro ponto importante é que, ao infectar enterócitos maduros no intestino delgado, a replicação do rotavírus leva ao aumento do nível intracelular de Ca^{2+} , aumento da secreção de Cl^- e parada da síntese de proteína da célula hospedeira, resultando em diarreia aguda osmótica e secretória (DESSELBERGER et al., 2011).

1.5. Imunidade

As infecções sintomáticas e assintomáticas conferem graus semelhantes de proteção, destacando a importância das infecções assintomáticas de rotavírus para a epidemiologia e proteção contra o rotavírus. A frequência da infecção assintomática por rotavírus entre crianças observadas prospectivamente em centros de atendimento foi encontrada como 3-4 vezes mais

elevada do que a de infecções sintomáticas. A imunidade após infecção neonatal por rotavírus não confere proteção de reinfecção, mas em alguns casos, protege contra a clínica grave da doença (DESSELBERGER et al., 2011).

Chiba et al. apresentou a primeira evidência de que a proteção contra a gastroenterite aguda por rotavírus pode ser sorotipo específica e relacionada aos níveis de anticorpos do tipo neutralização específica (NT) contra o vírus homotípico. Um nível de anticorpos com a diluição $NT \geq 1/128$ confere proteção contra a doença pelo rotavírus. Dados de Velázquez et al. e de outros sugerem que a imunidade humoral contra o rotavírus está correlacionada com a proteção. As respostas homotípicas e heterotípicas dos anticorpos NT têm sido encontradas em crianças após a infecção primária por rotavírus, sugerindo a presença de reação cruzada com os epítomos do NT. Crianças com respostas heterotípicas tendem a ser mais velhas e levar anticorpos específicos de rotavírus pré-existentes (DESSELBERGER et al., 2011).

A primeira infecção por rotavírus (natural ou induzida por vacina) resulta em resposta imune de caráter predominantemente homotípico, mediada por anticorpos contra as proteínas VP7 e VP4. Nos processos infecciosos subsequentes (reinfecções), entretanto, o espectro de resposta ampliado assume caráter heterotípico ou de proteção cruzada (VELÁZQUEZ et al., 1996).

Os anticorpos maternos adquiridos via transplacentária podem conferir uma proteção fraca contra a doença do rotavírus durante os primeiros meses de vida. A amamentação pode fornecer uma proteção passiva para crianças, mas a importância deste mecanismo de proteção em seres humanos é controversa (DESSELBERGER et al., 2011)

1.6. Quadro clínico e tratamento da infecção por rotavírus

A rotavirose é uma síndrome caracterizada pelo aumento do número de evacuações, com fezes aquosas ou de pouca consistência, com frequência acompanhada de vômito, febre e dor abdominal, com duração de dois a 14 dias, sendo assim autolimitada e podendo apresentar-se das formas leves até as graves. O seu quadro clínico típico é diarreia e vômito acompanhados de febre, náusea, anorexia, câibras e mal-estar. A febre precede o início da diarreia em 30 a 50% das crianças; os vômitos ocorrem em mais de 80% das infecções; as fezes são aquosas, isotônicas e raramente contêm muco, sangue ou leucócitos em número elevado. Nos casos graves, pode haver desidratação e acidose (SALVADOR et al., 2011).

As crianças de ambos os sexos são suscetíveis a diarreia aguda por rotavírus. Embora alguns estudos não tenham observado uma diferença significativa entre a taxa de detecção de infecção por rotavírus e sexo das crianças hospitalizadas com síndrome diarreica aguda, outros descobriram que a incidência da infecção por estes vírus é ligeiramente maior no sexo masculino do que no feminino (MALDONALDO et al., 2010).

De acordo com relatórios prévios, as infecções pelo rotavírus do grupo A foram predominantes em crianças de 0 a 12 meses e as manifestações clínicas variaram em intensidade de acordo com a idade e imunidade do hospedeiro (PEREIRA et al., 2013). Em geral, as crianças se infectam nos primeiros anos de vida, sendo que os casos mais graves ocorrem principalmente até os dois anos de idade (SALVADOR et al., 2011).

Em um estudo, um total de 49,2% das crianças hospitalizadas teve desidratação moderada ou grave, o que corrobora a gravidade da infecção. No entanto, não foi encontrada nenhuma associação entre a gravidade da doença e genótipo, demonstrando que outros fatores (principalmente as condições clínicas anteriores) podem ser associados com a gravidade e a intensidade das infecções causadas pelo rotavírus do grupo A (PEREIRA et al., 2013).

Vale ressaltar a importância da associação do rotavírus do grupo A com as infecções hospitalares nas crianças. Há vários fatores, como idade, estado imunológico, doença de base, intervenções diagnósticas e terapêuticas, estação do ano e duração da hospitalização que podem influenciar a aquisição destas infecções. Além da morbidade, estas infecções têm um grande impacto econômico sobre os países desenvolvidos e em desenvolvimento (PEREIRA et al., 2013).

Curiosamente, a análise de sobrevivência mostrou que, em geral, episódios de diarreia tendem a ocorrer de três a quatro meses depois em crianças vacinadas do que em crianças não vacinadas. Isto pode ser considerado um efeito positivo, uma vez que a sintomatologia diarreica em crianças jovens tende a ser mais grave do que nos mais velhos. Esta observação precisa de mais investigação para avaliar se o atraso na ocorrência da diarreia pelo rotavírus do grupo A é um efeito direto da vacina ou devido a outros fatores, tais como um melhor acesso aos serviços gerais de saúde pelas crianças vacinadas (SANDRA et al., 2014).

A subnutrição é uma consequência da infecção por rotavírus, por isso, a OMS propõe que, quanto mais episódios de diarreia por ano a criança sofre, esta será mais desnutrida e terá mais atraso no crescimento. Além disso, o risco de morrer de um episódio de diarreia persistente

ou disenteria é muito mais elevado quando a criança está desnutrida (MALDONALDO et al., 2010).

Estudos epidemiológicos têm demonstrado uma clara correlação entre o período de circulação do rotavírus do grupo A e o aumento das admissões de pacientes pediátricos. Embora nenhuma terapia antiviral específica para o rotavírus esteja disponível, a identificação de pacientes infectados é importante para prevenir a transmissão nosocomial, compreender o impacto clínico destas infecções, orientar medidas terapêuticas que possam impedir o uso inadequado de antibióticos e indicar a necessidade de imunização específica (PEREIRA et al., 2013).

O tratamento da rotavirose é apenas de suporte e alicerça-se na hidratação, primeiramente por via oral, e na ocorrência de vômitos e diarreias graves, por via endovenosa, o que requer internação. O uso de antimicrobianos e de antidiarreico não é recomendado (SALVADOR et al., 2011).

1.7. Vacinas contra o rotavírus

Devido à alta taxa de morbidade-mortalidade associada à diarreia causada pelo rotavírus do grupo A, a necessidade de medidas urgentes, tais como o desenvolvimento de vacinas contra este vírus, com o objetivo principal de atenuar a gravidade da doença diarreica, tornou-se evidente (SANDRA et al., 2014). A vacinação é considerada a estratégia de saúde pública mais eficaz para prevenir a gastroenterite por rotavírus e reduzir a carga viral associada (SORIANO-GABARRÓ et al., 2008).

Em 2006, foram disponibilizadas duas vacinas orais vivas atenuadas contra o rotavírus: RotaTeq™ fabricada pela Merck e Co, é uma vacina recombinante bovina e humana, que possui os genótipos humanos G1, G2, G3, G4 e P [8] e Rotarix™ fabricado pela GlaxoSmithKline Biologicals, é uma vacina monovalente humana de cultura celular adaptada, que contém a cepa RIX4414 do sorotipo A G1P[8] (TAMIM et al., 2013). Ambas são recomendadas pela OMS e têm sido usadas em diferentes países, que vêm apresentando uma redução significativa da hospitalização e mortalidade devido à gastroenterite pelo rotavírus.

O Brasil foi um dos primeiros países a introduzir a vacinação universal contra o rotavírus do grupo A com o Rotarix®, que tem sido distribuído gratuitamente por meio do sistema de saúde público desde março de 2006. A cobertura da vacina, em todo o país, em 2006 e 2007,

foi de 60% e 75%, respectivamente. No entanto, as regiões Sul e Sudeste tiveram a mais alta cobertura da vacina, e foi possível observar a maior taxa de redução das hospitalizações de crianças por idade (PEREIRA et al., 2013).

Os novos dados indicam eficácia significativa da vacina, com uma redução de 22% na mortalidade por gastroenterite e uma diminuição de 59% na hospitalização entre as crianças menores de cinco anos de idade nos anos pós-vacinais. Dados recentes do Brasil demonstraram uma diminuição na detecção do rotavírus do grupo A após a introdução da vacina, bem como uma importante redução da hospitalização de crianças com gastroenterite aguda causada por rotavírus (SANDRA et al., 2014)

O Ministério da Saúde preconiza o esquema vacinal correspondente a duas doses, administradas aos dois e quatro meses de idade. A primeira dose pode ser administrada a partir de 1 mês e 15 dias até 3 meses e 15 dias. A segunda dose pode ser administrada a partir de 3 meses e 15 dias até 7 meses e 29 dias (BRASIL, 2014). Este esquema foi considerado imunogênico em lactentes previamente soronegativos, havendo tendência de soroconversão com concentrações virais elevadas. A segunda dose da vacina, por sua vez, aumentou significativamente as taxas de soropositividade (SALVADOR et al., 2011).

A vacina oral de rotavírus humano (VORH) deverá ser adiada nos seguintes casos: na presença de doenças agudas febris graves ou de diarreia que necessita de hospitalização. A vacina é contraindicada caso o paciente tenha imunodeficiência congênita ou adquirida, faça uso de corticosteroides em doses imunossupressoras, seja portador de doença gastrointestinal crônica, malformação congênita do trato digestivo, história prévia de intussuscepção ou histórico de reação alérgica grave a um dos componentes da vacina, em dose anterior até duas horas após a aplicação desta. A vacina para rotavírus pode ser aplicada simultaneamente com as outras vacinas do calendário, exceto com a vacina antimeningocócica conjugada tipo C, para a qual não há experiência suficiente para uma recomendação. No caso da pólio oral, se não for utilizada no mesmo dia, deve-se respeitar intervalo de 15 dias (BRASIL, 2014).

No estudo de Vesikari et al., publicado em 2013, foi demonstrado que nos 3 primeiros anos seguidos de vigilância da vacinação universal contra o rotavírus na Finlândia, houve uma redução dramática das hospitalizações por gastroenterite pelo rotavírus em crianças elegíveis para a vacina. Os resultados expressam uma elevada estimativa da eficácia da vacina universal contra o rotavírus na população alvo e isto foi confirmado pelo impacto da vacinação sobre a

incidência da gastroenterite por rotavírus nos períodos pré e pós-vacinação. Este aspecto foi ratificado por Bucardo et al., no estudo publicado em 2014, que afirmou que uma grande redução da gastroenterite grave pelo rotavírus foi observada em países com alta cobertura vacinal, mas uma análise abrangente de vários ensaios clínicos indica que a eficácia da vacina tende a ser menor em países com alta mortalidade por rotavírus.

1.8. Introdução da vacina contra o rotavírus na América Latina

A partir de 2006, 14 países e um território da América Latina introduziram a vacina contra o rotavírus em seus programas nacionais de imunização. A vacina Rotarix® foi introduzida no Brasil (2006), Equador (2007), El Salvador (2006), Panamá (2006), México (2007), Venezuela (2006), Honduras (2009), Paraguai (2010) e Guatemala (2009). Já a Rotateq® foi introduzida na Nicarágua (2006), Ilhas Cayman (2009) e Guiana (2010) (LINHARES et al, 2011).

Em 2009, a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomendou a todos os países a introdução da vacinação contra o rotavírus no programa nacional expandido de imunização para controlar a doença grave por rotavírus. A OMS também recomenda que os países realizem estudos de vigilância local antes da introdução de novas vacinas (ENWERONU-LARYEA et al., 2014).

1.9. Genótipos no Brasil e no mundo antes e após a introdução da vacina

A introdução da vacina contra o rotavírus do grupo A no programa de imunização nacional contribuiu para uma redução significativa na frequência desta infecção na população pediátrica. No entanto, este agente patogênico pode ser associado com doença grave, e a supervisão de sua variabilidade genotípica é fundamental para monitorar o surgimento de novas cepas circulantes em humanos. A variação dos genótipos G e P observada em diferentes anos evidencia os mecanismos utilizados pelo rotavírus para escapar da pressão da seleção imunológica e assim manter o patógeno na natureza (PEREIRA et al., 2013).

A análise de combinações de genótipos G e P demonstrou que o genótipo G1P[8] foi predominante em 2001 e 2003, semelhante a achados anteriores. O genótipo G3P[8] foi identificado em apenas uma amostra em 2003. Em relação ao genótipo G4P[8], a sua ocorrência foi detectada em 2001 como o segundo genótipo mais frequente e prevaleceu em 2002;

resultados semelhantes foram relatados no Paraguai. Segundo alguns relatos, o G9P[8] está agora circulando de forma mais ampla. O G2P[4] ressurgiu desde 2006 e alguns relatos no Brasil mostraram continuidade da detecção deste genótipo até 2008. Estes resultados demonstram a capacidade de variação do rotavírus do grupo A e apontam a necessidade de vigilância constante dos genótipos circulantes (PEREIRA et al., 2013).

Após a introdução da vacinação universal no Brasil, foi observado o surgimento dos genótipos G2P[4] e G9P[8]. O impacto destas infecções deve ser monitorizado de modo a avaliar a eficácia das vacinas disponíveis atualmente. Foi relatada a predominância do genótipo G2P[4] em outros países que usam a vacina Rotarix™. Ainda não está claro se isto é devido à pressão seletiva ou mudança epidemiológica. No entanto, um aumento da frequência de G2P[4] pode ser observado em períodos anteriores à implantação da vacina e também em países sem imunização para o rotavírus e, portanto, a sua circulação foi associada ao ressurgimento natural deste genótipo (PEREIRA et al., 2013).

Relatos na literatura têm discutido os efeitos potenciais da vacinação contra o rotavírus na diversidade genotípica - especificamente, se a alta cobertura (> 90%) de RV5 permitiria que estirpes atípicas de rotavírus se tornassem mais prevalentes (KHAWAJA et al., 2014).

Em estudos anteriores com crianças de diferentes partes do Brasil, foi observada uma predominância do G2P[4] quando em comparação com outros genótipos. Pesquisas recentes têm descrito a expansão do G9, que se tornou o genótipo mais frequente em várias partes do mundo, incluindo o Brasil, com frequências flutuantes, como esperado para qualquer sorotipo do rotavírus. Em relação ao G1P[8], estudos têm sugerido que o declínio aparente na estirpe da vacina implica uma alta probabilidade de que, no futuro, haja transmissão de sorotipos diferentes daqueles presentes na vacina dos indivíduos vacinados para os contatos não vacinados (SANDRA et al., 2014).

Os tipos incomuns de rotavírus são mais propensos a surgir nos países em desenvolvimento. Em algumas partes da Índia, por exemplo, G12 é agora o tipo de rotavírus mais comum após G1 e G2. Tem sido sugerido que a maior diversidade de tipos de rotavírus circulantes nos países em desenvolvimento pode ser o resultado de diferenças em condições sanitárias, de clima e exposição mais frequente de indivíduos para cepas de rotavírus animais nestas regiões em comparação com os países desenvolvidos (SORIANO-GABARRÓ et al., 2008).

Além das variações regionais na prevalência dos genótipos, a distribuição do tipo de rotavírus também varia ao longo do tempo. Os dados disponíveis mostram que a distribuição do tipo de rotavírus mudou na Europa nos últimos anos. Entre 1989 e 2004, o G1 foi responsável por 69% dos casos de gastroenterite por rotavírus (GERV) na Europa, seguido de G4 (15,4%) e G2 (10,7%), com apenas 1,3% de casos de GERV causados por G9. Em contraste, mais dados recentes mostram que G1 representou apenas 32,8% e 40,3% dos casos de GERV durante as temporadas de rotavírus 2004-2005 e 2005-2006, respectivamente, com a contabilidade de G9 para 38,8% e 31,2% dos casos ao longo destes 2 períodos de tempo. O potencial impacto da Rotarix™ se mantém elevado, apesar desta mudança no padrão de distribuição do tipo de rotavírus ao longo do tempo (95,5% para a temporada 2004-2005 e 92,6% para a temporada 2005-2006 em comparação com 94,5% com base nos dados anteriores do tipo de distribuição do rotavírus). Tais variações temporais e geográficas nos tipos de rotavírus circulantes destacam a necessidade das vacinas contra o rotavírus proporcionarem uma proteção ampla, heterotípica e ser otimamente eficaz (SORIANO-GABARRÓ et al., 2008).

As técnicas moleculares e de sequenciamento têm atualmente identificados 27 genótipos de rotavírus do grupo A tipo G e 35 genótipos P com várias combinações em seres humanos e animais. A natureza segmentada do genoma do rotavírus permite a ocorrência de recombinações, o que contribui significativamente para a diversidade genética de cepas do rotavírus do grupo A, surgimento de genótipo novo e combinações inusitadas. Os genótipos humanos do rotavírus do grupo A mais prevalentes são G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8], G9P[8] e G9P[6] e, mais recentemente, surgiram G12P[8] e G12P[6]. Devido ao rearranjo e transmissão entre espécies, vários outros genótipos, tais como G5, G6, G8, G10 e G11, na maioria das vezes de origem animal, também têm sido esporadicamente recuperados a partir de pacientes humanos em várias regiões geográficas (TAMIM et al., 2013).

REFERÊNCIAS

BOURDETT-STANZIOLA, L.; JIMÉNEZ C.; ORTEGA-BARRIA, E. Diversity of human rotavirus G and P genotypes in Panama, Costa Rica and the Dominican Republic. **Am J Trop Med Hyg.**, v. 79, p.921-924, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Manual de Normas e Procedimentos para Vacinação**. Brasília: Ministério da Saúde- 2014. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_procedimentos_vacinacao.pdf Acesso em: 15/08/2016

BUCARDO, F. Predominance of norovirus and sapovirus in Nicaragua after implementation of universal rotavirus vaccination. **Plos One**, v. 9, Maio 2014.

DESSELBERGER, U. Immune responses to rotavirus infection and vaccination and associated correlates of protection. **The Journal of Infectious Diseases**. v. 203, p. 188-195, Jan. 2011.

ENWERONU-LARYEA, C. C. Decline in severe diarrhea hospitalizations after the introduction of rotavirus vaccination in Ghana: a prevalence study. **BMC Infectious Diseases**, v. 14, n. 14, p. 1471-2334, 2014.

KHAWAJA, S. Hospital-based surveillance and analysis of genotype variation in Nicaragua after the introduction of the pentavalent rotavirus vaccine. **Pediatric Infectious Diseases Journal**, v. 33, p. e25-e28, 2014.

LINHARES, A.C., JUAN, A.S., CIAPPONI, A., BARDACH, A.E., GLUJOVSKY, D., ARUJ, P.K., MAZZONI, A., RODRIGUEZ, J.A.B, REARTE, A., LANZIERI, T.M., ORTEGA-BARRIA, E., COLINDRES, R. Burden and typing of rotavirus group A in Latin America and the Caribbean: systematic review and meta-analyses. **Rev. Med. Virol.** v.21, p. 89-109, 2011.

MALDONALDO, A. Características clínicas y epidemiológicas de la infección por rotavirus en niños de Cumaná, Venezuela. **Investigación Clínica**. v. 51, n. 4, p. 519-529, 2010.

MORILLO, S. G.; LUCHS, A.; CILLI, A. Caracterização dos genótipos de rotavírus em creches: era pré e pós vacinação contra o rotavírus na cidade do Rio de Janeiro. **J Pediatría**, v. 86, n. 2, p. 155-158, março-abril 2010.

PEREIRA, L. A. Caracterização molecular dos genótipos do rotavírus em pacientes imunossuprimidos e não imunossuprimidos. **Jornal de Pediatría**, Rio de Janeiro, v. 89, n. 3, p. 278-285, 2013.

RIBAS, M. A.; NAGASHIMA, S.; CALZADO, A. Emergence of G9 as a predominant genotype of human rotaviruses in Cuba. **J Med Virol.** v. 83, p. 738-744, 2011.

SALVADOR, P.T.C.O; ALMEIDA, T.J.; ALVES, K.Y.A.; DANTAS, C.N. A rotavirose e a vacina oral de rotavírus humano no cenário Brasileiro: revisão integrativa da literatura. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 2, p. 567-574, Fev. 2011.

SANDRA, C. A. Detecção de rotavírus em crianças com gastroenterite aguda em Porto Velho, Rondônia, Brasil. **Arch Virol**, v. 159, p. 1139-1142, 2014.

SILVA, M. L. Prevalência de rotavírus em crianças atendidas na rede pública de saúde do Estado de Pernambuco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Pernambuco, v. 43, n. 5, p. 548-551, Set-Out. 2010.

SORIANO-GABARRÓ, M. Potential impact of Rotarix according to rotavirus type distribution. **The Pediatric Infectious Disease Journal**. v. 27, n. 1, 27: S28-S32, Jan. 2008.

TAMIM, S. Epidemiology and phylogenetic analysis of VP7 and VP4 genes of rotaviruses circulating in Rawalpindi, Pakistan during 2010. **Infection, Genetics and Evolution**. v. 14, p. 161-168, 2013.

VELÁZQUEZ F.R.; MATSON, D.O.; CALVA, J.J.; MORROW, A.L.; CARTER-CAMPBELL, S.; GLASS, R.I.; ESTES, M.K.; PICKERING, L.K., RUIZ-PALACIOS, G.M. Rotavirus infection in infants as protection against subsequent infections. **N Engl J Med**, vol. 335, n. 14, p. 1022-102, oct, 1996.

VESIKARI, T. Impact and effectiveness of RotaTeq® vaccine based on 3 years of surveillance following introduction of a rotavirus immunization program in Finland. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 32, p. 1365-1373, 2013.

2. NORMAS DE PUBLICAÇÃO

2.1. JOURNAL OF CLINICAL VIROLOGY

Your Paper Your Way

We now differentiate between the requirements for new and revised submissions. You may choose to submit your manuscript as a single Word or PDF file to be used in the refereeing process. Only when your paper is at the revision stage, will you be requested to put your paper in to a 'correct format' for acceptance and provide the items required for the publication of your article.

To find out more, please visit the Preparation section below.

Manuscripts that cover subjects well studied in the literature that do not make an obviously fresh point or those which primarily confirm previous findings but in a different geographical area, are likely to be rejected unless there are novel clinical implications or they cover a hot new topic (eg a new virus).

If you are unsure as to the suitability of your article for publication in the JCV, please send the Editors-in-Chief a copy of your Abstract by E-mail, to jcv@elsevier.com. They will then advise you on whether or not your work would be appropriate for publication.

Article Types

Articles of the following types are accepted by the Editors. Please note that the Journal of Clinical Virology no longer accepts submissions of case reports or VIROQAS. Please follow [link](#) for detailed information on requirements for all article types.

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the

journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print

Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)

Supplemental files (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- Relevant declarations of interest have been made
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our [Support Center](#).

Ethics in publishing

Please see our information pages on [Ethics in publishing](#) and [Ethical guidelines for journal](#)

publication.

Human and animal rights

If the work involves the use of human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans; Uniform Requirements for manuscripts submitted to Biomedical journals. Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed.

All animal experiments should comply with the ARRIVE guidelines and should be carried out in accordance with the U.K. Animals (Scientific Procedures) Act, 1986 and associated guidelines, EU Directive 2010/63/EU for animal experiments, or the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978) and the authors should clearly indicate in the manuscript that such guidelines have been followed.

Conflict of Interest

The Editors of the Journal of Clinical Virology require that submissions contain a Conflict of Interest Declaration. Upon submission you will be required to complete and upload this form (word version or pdf version) to declare funding, conflict of interest and to indicate whether ethical approval was sought. This information **must also be inserted into your manuscript** under the acknowledgements section with the headings below. If you have no declaration to make please insert the following statements into your manuscript:

Funding: None

Competing interests: None declared

Ethical approval: Not required

The signatures of all authors must be on the declaration form

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' section of our ethics policy for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service [CrossCheck](#).

Contributors

Each author is required to declare his or her individual contribution to the article: all authors must have materially participated in the research and/or article preparation, so roles for all authors should be described. The statement that all authors have approved the final article should be true and included in the disclosure.

Authorship

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted.

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or

rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Article transfer service

This journal is part of our Article Transfer Service. This means that if the Editor feels your article is more suitable in one of our other participating journals, then you may be asked to consider transferring the article to one of those. If you agree, your article will be transferred automatically on your behalf with no need to reformat. Please note that your article will be reviewed again by the new journal. [More information](#).

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see [more information](#) on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. [Permission](#) of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has [preprinted forms](#) for use by authors in these cases.

For open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' ([more information](#)). Permitted third party reuse of open access articles is determined by the author's choice of [user license](#).

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. [More information](#).

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can [share your research](#) published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some funding bodies will reimburse the author for the Open Access Publication Fee. Details of [existing agreements](#) are available online.

After acceptance, open access papers will be published under a noncommercial license. For authors requiring a commercial CC BY license, you can apply after your manuscript is accepted for publication.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

Open access

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse.

- An open access publication fee is payable by authors or on their behalf, e.g. by their research funder or institution.

Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our universal access programs.
- No open access publication fee payable by authors.

Regardless of how you choose to publish your article, the journal will apply the same peer review criteria and acceptance standards.

For open access articles, permitted third party (re)use is defined by the following Creative Commons user licenses:

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)

For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

The open access publication fee for this journal is **USD 3000**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <https://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

Green open access

Authors can share their research in a variety of different ways and Elsevier has a number of green open access options available. We recommend authors see our green open access page for further information. Authors can also self-archive their manuscripts immediately and enable public access from their institution's repository after an embargo period. This is the version that has been accepted for publication and which typically includes author-incorporated changes suggested during submission, peer review and in editor-author communications. Embargo period: For subscription articles, an appropriate amount of time is needed for journals to deliver value to subscribing customers before an article becomes freely available to the public. This is the embargo period and it begins from the date the article is

formally published online in its final and fully citable form.

This journal has an embargo period of 12 months.

Elsevier Publishing Campus

The Elsevier Publishing Campus (www.publishingcampus.com) is an online platform offering free lectures, interactive training and professional advice to support you in publishing your research. The College of Skills training offers modules on how to prepare, write and structure your article and explains how editors will look at your paper when it is submitted for publication. Use these resources, and more, to ensure that your submission will be the best that you can make it.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the [English Language Editing service](#) available from Elsevier's WebShop.

Informed consent and patient details

Studies on patients or volunteers require ethics committee approval and informed consent, which should be documented in the paper. Appropriate consents, permissions and releases must be obtained where an author wishes to include case details or other personal information or images of patients and any other individuals in an Elsevier publication. Written consents must be retained by the author and copies of the consents or evidence that such consents have been obtained must be provided to Elsevier on request. For more information, please review the [Elsevier Policy on the Use of Images or Personal Information of Patients or other Individuals](#). Unless you have written permission from the patient (or, where applicable, the next of kin), the personal details of any patient included in any part of the article and in any supplementary materials (including all illustrations and videos) must be removed before submission.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Submit your article

Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/jcv>.

NEW SUBMISSIONS

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts your files to a single PDF file, which is used in the peer-review process.

As part of the Your Paper Your Way service, you may choose to submit your manuscript as a single file to be used in the refereeing process. This can be a PDF file or a Word document, in any format or lay-out that can be used by referees to evaluate your manuscript. It should contain high enough quality figures for refereeing. If you prefer to do so, you may still provide all or some of the source files at the initial submission. Please note that individual figure files larger than 10 MB must be uploaded separately.

References

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage.

Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct.

Formatting requirements

There are no strict formatting requirements but all manuscripts must contain the essential elements needed to convey your manuscript, for example Abstract, Keywords, Introduction, Materials and Methods, Results, Conclusions, Artwork and Tables with Captions.

If your article includes any Videos and/or other Supplementary material, this should be included in your initial submission for peer review purposes.

Divide the article into clearly defined sections.

Please ensure your paper includes page numbers, consecutive line numbering and is double spaced - this is an essential peer review requirement.

Figures and tables embedded in text

Please ensure the figures and the tables included in the single file are placed next to the relevant text in the manuscript, rather than at the bottom or the top of the file.

REVISED SUBMISSIONS

Use of word processing software

Regardless of the file format of the original submission, at revision you must provide us with an editable file of the entire article. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the [Guide to Publishing with Elsevier](#)). See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Article structure

Please see [link](#) for a guide to formatting your paper.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). You can view [example Highlights](#) on our information site.

This is only applicable for Full length articles, Short Communications and Reviews.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Preferred fonts: Arial (or Helvetica), Times New Roman (or Times), Symbol, Courier.

- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Indicate per figure if it is a single, 1.5 or 2-column fitting image.
- For Word submissions only, you may still provide figures and their captions, and tables within a single file at the revision stage.
- Please note that individual figure files larger than 10 MB must be provided in separate source files.

A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalized, please 'save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings. Embed the font or save the text as 'graphics'.

TIFF (or JPG): Color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPG): Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low.
- Supply files that are too low in resolution.
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color**

reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. Please indicate your preference for color: in print or online only. Further information on the preparation of electronic artwork.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules.

References

Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is encouraged.

A DOI can be used to cite and link to electronic articles where an article is in-press and full citation details are not yet known, but the article is available online. A DOI is guaranteed

never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <http://dx.doi.org/10.1029/2001JB000884i>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley and Zotero, as well as EndNote. Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide.

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/journal-of-clinical-virology>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley

plug-ins for Microsoft Word or LibreOffice.

Reference formatting

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

Reference style

Text: Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given.

Example: '..... as demonstrated [3,6]. Barnaby and Jones [8] obtained a different result'

List: Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text.

Examples:

Reference to a journal publication:

[1] J. van der Geer, J.A.J. Hanraads, R.A. Lupton, The art of writing a scientific article, *J. Sci. Commun.* 163 (2010) 51–59.

Reference to a book:

[2] W. Strunk Jr., E.B. White, *The Elements of Style*, fourth ed., Longman, New York, 2000.

Reference to a chapter in an edited book:

[3] G.R. Mettam, L.B. Adams, How to prepare an electronic version of your article, in: B.S. Jones, R.Z. Smith (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*, E-Publishing Inc., New York, 2009, pp. 281–304.

Reference to a website:

[4] Cancer Research UK, Cancer statistics reports for the UK.

<http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/>, 2003 (accessed

13.03.03).

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the [List of Title Word Abbreviations](#).

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including [ScienceDirect](#). Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our [video instruction pages](#). Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Supplementary material

Supplementary material can support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Please note that such items are published online exactly as they are submitted; there is no typesetting involved (supplementary data supplied as an Excel file or as a PowerPoint slide will appear as such online). Please submit the material together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. If you wish to make any changes to supplementary data during any stage of the process,

then please make sure to provide an updated file, and do not annotate any corrections on a previous version. Please also make sure to switch off the 'Track Changes' option in any Microsoft Office files as these will appear in the published supplementary file(s). For more detailed instructions please visit our [artwork instruction pages](#).

AudioSlides

The journal encourages authors to create an AudioSlides presentation with their published article. AudioSlides are brief, webinar-style presentations that are shown next to the online article on ScienceDirect. This gives authors the opportunity to summarize their research in their own words and to help readers understand what the paper is about. [More information and examples are available](#). Authors of this journal will automatically receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after acceptance of their paper.

Virtual Microscope

The journal encourages authors to supplement in-article microscopic images with corresponding high resolution versions for use with the Virtual Microscope viewer. The Virtual Microscope is a web based viewer that enables users to view microscopic images at the highest level of detail and provides features such as zoom and pan. This feature for the first time gives authors the opportunity to share true high resolution microscopic images with their readers. [More information and examples](#). Authors of this journal will receive an invitation e-mail to create microscope images for use with the Virtual Microscope when their manuscript is first reviewed. If you opt to use the feature, please contact virtualmicroscope@elsevier.com for instructions on how to prepare and upload the required high resolution images.

Online proof correction

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by

allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors. If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized [Share Link](#) providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's [Webshop](#). Corresponding authors who have published their article open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also [check the status of your submitted article](#) or find out [when your accepted article will be published](#).

ARTIGO

Circulação dos genótipos de rotavírus antes e depois da introdução da vacina no Brasil

Laíza Lobão Alves, MD (2); Victor S. Santos, MSc (1); Ricardo Queiroz Gurgel, PhD (1) (2)

(1) Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, Sergipe, Brasil. (2) Departamento de Medicina, Universidade Federal Sergipe, Aracaju, Sergipe, Brasil.

Autor correspondente

Ricardo Q Gurgel

Universidade Federal de Sergipe.

Rua Cláudio Batista s/n – Aracaju – Sergipe – Brasil. Zip código: 49060-108.

E-mail: ricardoqgurgel@gmail.com

Conflitos de interesse: Os autores não têm conflitos de interesse a declarar.

Financiamento: O suporte financeiro para este estudo foi recebido de ligações Edital MCTI/CNPq N° 14/2013 (#471747/2013-0) e Edital MEC/MCTI/CAPES/CNPQ/FAPS - PVE 2014 (#400723/2014-0).

RESUMO

Objetivo: O presente artigo tem como objetivo descrever a circulação dos genótipos de rotavírus antes e depois da introdução da vacina contra o rotavírus no Brasil.

Métodos: Foi realizada uma revisão sistemática para identificar estudos publicados entre janeiro de 2006 e dezembro de 2015 em português, espanhol e inglês. Houve a extração de dados, avaliação do risco de viés e de estudo de qualidade, verificação da prevalência da diarreia pelo rotavírus e da distribuição genotípica.

Resultados: Um total de 1.436 publicações foram identificadas (1.157 antes e 279 depois da introdução da vacina). Após triagem de títulos e resumos, 158 artigos tiveram seus textos totalmente avaliados para elegibilidade e, destes, 86 (58 antes e 28 após a vacinação) que relatavam os genótipos dos rotavírus foram incluídos. No geral, 6.884 (15,2%) de 45.305 crianças testadas foram rotavírus positivas. O rotavírus foi detectado em 3.364 (22,4%) de 15.033 amostras de fezes antes da introdução da vacina (1986-2006) e 3.520 (11,6%) de 30.275 coletadas após a introdução da vacina (> 2006 a 2015, $p < 0,001$).

Interpretação: O presente estudo confirma a taxa atual de crianças com diarreia aguda por infecção pelo rotavírus e destaca a diversidade de cepas de rotavírus circulando no Brasil, com predomínio de G2P[4] após a introdução da vacina monovalente. Os genótipos de rotavírus variam ao longo do tempo e de região para região. É necessário que haja manutenção da vigilância do rotavírus para avaliação permanente da eficácia das vacinas contra o rotavírus e controle contínuo do surgimento de novas cepas de rotavírus e/ou linhagens. Poderemos distinguir então se estas variações no genótipo dos rotavírus ocorrem como resultado de uma flutuação natural do genótipo ou devido à introdução da vacina.

ABSTRACT

Objective: This article aims to describe the circulation of rotavirus genotypes before and after the introduction of rotavirus vaccine in Brazil.

Methods: A systematic review was conducted to identify studies published between January 2006 and December 2015 in Portuguese, Spanish and English. There was data extraction, assessment of risk of bias and quality study, check the prevalence of diarrhea by rotavirus and genotypic distribution.

Results: A total of 1,436 publications were identified (1,157 before and 279 after the introduction of the vaccine). After screening titles and abstracts, 158 articles had their texts fully assessed for eligibility and, of these, 86 (58 before and 28 after vaccination) reported that the genotypes of rotavirus have been included. Overall, 6,884 (15.2%) of 45,305 children tested were rotavirus positive. Rotavirus was detected in 3,364 (22.4%) of 15,033 stool samples before the introduction of the vaccine (1986-2006) and 3,520 (11.6%) of 30,275 collected after the introduction of the vaccine (> 2006-2015, $p < 0.001$).

Interpretation: This study confirms the current rate of children with acute diarrhea from rotavirus infection and highlights the diversity of rotavirus strains circulating in Brazil, with a predominance of G2P[4] after the introduction of monovalent vaccine. The rotavirus genotypes vary over time and by region. There must be rotavirus surveillance of maintenance for ongoing evaluation of the effectiveness of rotavirus vaccines and continuous control of the emergence of new strains of rotavirus and/or lines. So, we may distinguish if these variations in the genotype of the rotavirus occur as a result of natural fluctuations of the genotype or due to the introduction of the vaccine.

INTRODUÇÃO

O rotavírus é a principal causa de diarreia aguda com desidratação grave em crianças e tão frequente que, praticamente todas as crianças já tiveram pelo menos um episódio de infecção por rotavírus antes dos 5 anos de idade. A infecção por rotavírus é uma causa evitável de morte na infância; ainda responsável por aproximadamente um terço das 1,34 milhões de mortes por diarreia e 9 milhões de hospitalizações mundiais entre crianças de 59 meses ou menos em 2004. Estimativas globais mais recentes revelam que em 2011 o rotavírus causou 197.000 das 700.000 mortes por diarreia (ENWERONU-LARYEA et al., 2014).

Os rotavírus pertencem à família de vírus *Reoviridae*. O vírus rotavírus consiste de RNA de cadeia dupla cercado por uma cápside de proteína de camada tripla. Os rotavírus são classificados em tipos com base em diferenças nas 2 cápsides externas de proteínas que são alvos de anticorpos neutralizantes – a glicoproteína VP7, que determina o tipo G, e a proteína VP4 sensível à protease, que determina o tipo P (SORIANO-GABARRÓ et al., 2008). Há sete grupos principais de rotavírus (A-G), porém, a maioria das infecções se associa ao rotavírus A, apesar de terem sido encontrados os grupos B e C em doença humana. Foram descritos genótipos distintos do RVA (antígeno dos capsídeos externos G e P), sendo G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] e G9P[8] os mais comumente identificados no Brasil e no mundo. (PEREIRA et al., 2013)

Em 2006, foram disponibilizadas duas vacinas contra o rotavírus: uma monovalente (RV1; Rotarix®, GlaxoSmithKline Biologicals Inc.) e uma pentavalente (RV5; Rota Teq®, Merck & Co., Inc.). Ambas são recomendadas pela OMS e têm sido usadas em diferentes países, que vêm apresentando uma redução significativa da hospitalização e mortalidade devido à gastroenterite pelo rotavírus. O Brasil foi um dos primeiros países a introduzir a vacinação universal contra o RVA com o Rotarix® (GlaxoSmithKline Biologicals, Inc.), que tem sido

distribuído gratuitamente por meio do sistema de saúde público desde março de 2006 (PEREIRA et al., 2013).

A enorme diversidade de rotavírus observada em todo o mundo é gerada através de alguns mecanismos: a variação genética contínua através de mutações pontuais sequenciais, rearranjo genético, rearranjo genômico ou transmissão direta de cepas de animais em um hospedeiro humano (MEDICI et al., 2014). A distribuição do tipo de rotavírus tem variação regional e temporal, o que pode ser modificado com o uso da vacina.

Foi realizada uma revisão sistemática e meta-análise para descrever a circulação de genótipos dos rotavírus relatados antes e depois da introdução da vacina e o possível impacto do programa de imunização sobre a variação genética viral.

MÉTODOS

Nós utilizamos a estratégia de busca de uma revisão sistemática descrevendo a distribuição de genótipos do rotavírus antes da introdução da vacina (1986-2006) e realizando a coleta expandida de dados para incluir todas as publicações a partir de 2006. Usamos MEDLINE, Literatura Latino-Americana e a do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), a Biblioteca Científica Eletrônica Online (SciELO), a Biblioteca Cochrane e os bancos de dados da biblioteca da Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) para identificar estudos que relatam os genótipos do rotavírus no Brasil de 2006 a 2015. As publicações foram identificadas usando os termos "Brasil", "rotavírus" e termos relacionados. Dois revisores independentes fizeram a triagem dos títulos e dos resumos de relevância e selecionaram artigos originais que incluíam crianças com menos de 5 anos de idade com sintomas de gastroenterite aguda que relataram dados sobre os genótipos do rotavírus ou continham informações epidemiológicas. Todas as referências citadas nestes artigos foram pesquisadas para identificar outras publicações, mas nenhuma foi identificada. Foram excluídas publicações de revisões ou

opiniões sem dados originais; aquelas que não relataram o número de pacientes com gastroenterite ou rotavírus-positivo, ou porcentagens que não permitiram calcular as frequências. Também foram excluídos os estudos de diarreia persistente (maior que 2 semanas de duração), infecções nosocomiais, rotavírus B ou C, ou limitado a surtos.

Os dados foram extraídos usando tabelas pré-definidas, que foram guiadas por 10 trabalhos iniciais. As informações extraídas incluíam o desenho do estudo, o tamanho da amostra, o número de amostras positivas de rotavírus, as características dos participantes (hospitalizados / ambulatoriais / da comunidade), os métodos do laboratório, a região, o ano, a prevalência, os genótipos / sorotipos identificados e a frequência. As amostras de fezes com rotavírus e a co-infecção com outros patógenos foram consideradas rotavírus positivas. Nem todos os estudos relataram todas as variáveis e os percentuais foram calculados utilizando o número de estudos que relataram uma determinada variável como denominador.

A proporção de genótipos de rotavírus circulantes foi analisada por tempo (≤ 1995 , $> 1995-2000$, $> 2000-2006$, $> 2006-2010$ e $> 2010-2015$) e por região. O Brasil é dividido em cinco regiões que compreendem o Norte (N) com um clima equatorial quente e úmido, baixa densidade populacional e pobres indicadores de saúde; o Nordeste (NE) com um clima semi-árido/tropical, invernos quentes e chuvosos, saúde e condições sanitárias consideradas as piores do país; a região Centro-Oeste (CO) com clima tropical, verões quentes e chuvosos, inverno frio e seco; o Sul (S) e o Sudeste (SE), que têm clima subtropical e tropical úmido, as estações chuvosas e quentes de Novembro a Janeiro, invernos brandos a frios e secos de Maio a Agosto e os melhores indicadores sociais do país.

RESULTADOS

Um total de 1.436 publicações foram identificadas (1.157 antes e 279 depois da introdução da vacina). Após triagem de títulos e resumos, 158 artigos tiveram seus textos totalmente avaliados

para elegibilidade e, destes, 86 (58 antes e 28 após a vacinação) que relatavam os genótipos dos rotavírus foram incluídos. Sessenta e seis (76,7%) dos 86 estudos foram transversais, cinco (5,8%) coorte, cinco (5,8%) caso-controle, quatro (4,6%) de série de casos, dois (2,3%) ensaios clínicos e quatro (4,6%) não informaram o desenho do estudo. Cinquenta e cinco estudos foram baseados em hospital, treze em comunidades, oito em clínicas ambulatoriais e dez não relataram o local.

No geral, 6.884 (15,2%) de 45.305 crianças testadas foram rotavírus positivas. O rotavírus foi detectado em 3.364 (22,4%) de 15.033 amostras de fezes antes da introdução da vacina (1986-2006) e 3.520 (11,6%) de 30.275 coletadas após a introdução da vacina (> 2006 a 2015, $p < 0,001$). A menor proporção de amostras positivas de rotavírus relatada por qualquer estudo foi de 3,1% e a maior de 40%.

A distribuição dos genótipos do rotavírus pelo tempo e pela região está descrita na tabela 1. O genótipo G1P[8] foi relatado durante todos os períodos de estudo, antes e após a introdução da vacina e em todas as regiões. O genótipo G5P[8] foi relatado em todas as regiões antes de 1995 e desapareceu a partir de 2000. O genótipo G9 com P[8], P[6] ou P[4] foi relatado entre >1995-2000 pelas regiões Sudeste e Centro-Oeste e por todas as regiões após 2001. G4 com P[6] e P[8] foram relatados em todas as regiões antes de 1995 e, em seguida, pelo Sudeste entre 1996-2000 e nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste após 2001. O genótipo G12P[8] foi relatado apenas no Sul, entre 2001-2006 e nas regiões Norte e Nordeste, entre 2007-2015. O genótipo G2P[4] foi relatado em 4 das 5 regiões antes da introdução da vacina e em todas as regiões após a introdução da vacina.

A tabela 2 descreve a frequência e distribuição das combinações de genótipos ao longo dos períodos do estudo e a figura 1 mostra como estas combinações variaram ao longo do tempo. No geral, as combinações mais frequentes de genótipos foram G2P[4] (53%), G1P[8] (20%) e G9P[8] (10%), mas a sua distribuição variou no período de estudo. Antes da vacinação, o

G1P[8] foi a cepa mais frequente (de 43% de todos os rotavírus), enquanto G9P[8] e G2P[4] representavam 22% e 7% das estirpes, respectivamente. G1P[8] foi o genótipo mais frequente antes da vacinação, diminuiu para 8% de 2007 a 2010 e aumentou para 23% após 2011. G9P[8] aumentou antes da introdução da vacina de 0% antes de 1995 para 9% e 32% entre 1996- 2000 e 2001-2006, respectivamente, e diminuiu após a introdução da vacina com apenas 6% das cepas em 2007-2010 e 1% entre >2010 e 2015. G2P[4] diminuiu de 19% antes de 1995 para 12% e 1% em 1996-2000 e 2001-2006, respectivamente; aumentou para 74% entre 2007 e 2010 e diminuiu para 45% a partir de 2010.

A figura 2 mostra a porcentagem de cepas de rotavírus homotípicas, heterotípicas e parcialmente heterotípicas antes e depois da introdução da vacina. As homotípicas para G1P[8] representaram 46% de todas as cepas antes de 1995, 12% das cepas relatadas entre 1996 e 2000 e 55% para as relatadas entre 2001 e 2006. Após a introdução da vacina, as cepas homotípicas representaram 8% dos casos ocorridos entre 2007 e 2010 e 23% dos casos depois de 2011 ($p<0,001$). As cepas parcialmente heterotípicas representaram 27% das cepas de antes de 1995, 51% das cepas entre 1996 e 2000 e 41% entre 2001-2006. Após a introdução da vacina, a proporção de linhagens parcialmente heterotípicas caiu a 10% e 16% em 2007-2010 e 2011-2015, respectivamente. As cepas totalmente heterotípicas representaram 25% das cepas de antes de 1995, 38% em 1996-2000 e de 3% em 2001-2006. Após a introdução da vacina, as cepas totalmente heterotípicas representaram 83% ($p<0,001$) das cepas em 2007-2010 e 59% ($p<0,001$) após 2011.

DISCUSSÃO

A caracterização dos antígenos neutralizantes VP7 e VP4 é importante para monitorar quais são as cepas mais prevalentes, assim como identificar quaisquer mudanças na circulação das cepas de rotavírus e assim subsidiar interpretações a respeito da efetividade das vacinas contra

rotavírus sob um genótipo específico. Embora tenha se passado 10 anos da introdução da vacina monovalente no Brasil, este é o primeiro estudo para avaliar a circulação das cepas de rotavírus que inclui ambos os períodos pré e pós introdução da vacina. Os resultados desta revisão sistemática encontraram significantes mudanças em relação a cepas de rotavírus ao longo de 30 anos, sendo que foi evidenciado no período pós vacina uma maior prevalência dos genótipos completamente heterotípicos à vacina monovalente, com predominância da cepa G2P[4].

Assim como em outras regiões do mundo, a distribuição dos genótipos de rotavírus antes da vacina variava com o tempo e os dados mostram que uma determinada cepa que era mais frequente em um período era substituída por outra em período subsequente. No entanto, de modo geral, os genótipos encontrados no Brasil antes da introdução da vacina Rotarix® se assemelhavam com os genótipos que circulavam em todo o mundo. De acordo com Santos et al., os genótipos de rotavírus mais frequentes no mundo antes da introdução da vacina eram 4 tipos de G (G1, G2, G3 e G4) em conjunto com P[8] ou P[4], representando cerca de 88% das cepas.

O nosso estudo demonstrou que, após a introdução da vacina, houve redução das cepas homotípicas para G1P[8] (46% antes de 1995, 12% entre 1996-2000, 55% entre 2001-2006, 8% entre 2007-2010, 23% entre 2011-2015) e das parcialmente heterotípicas (27% antes de 1995, 51% entre 1996-2000, 41% entre 2001-2006, 10% entre 2007-2010, 16% entre 2011-2015), mas aumento das cepas totalmente heterotípicas (25% antes de 1995, 38% entre 1996-2000, 3% entre 2001-2006, 83% entre 2007-2010, 59% entre 2011-2015). Nossos resultados confirmam, então, o aumento incomum de cepas de rotavírus totalmente heterotípicas após a introdução da vacina, especialmente G2P[4]. Embora a proporção de cepas completamente heterotípicas tenham representado apenas 3% das cepas em 2001-2006, estirpes heterotípicas aumentaram para 83% após a introdução da vacina, com uma alta proporção de estudos relatando G2P[4] como o genótipo principal detectado. Genótipos heterotípicos continuaram a

predominar nos últimos cinco anos do estudo. A proporção de G2P[4] diminuiu de 2009 para 2012, embora tenha continuado a ser a principal cepa identificada, mas outras heterotípicas surgiram, sugerindo que a vacina monovalente tem favorecido a sua seleção em uma população altamente vacinada. Soriano-Gabarró et al. sugerem que a maior diversidade de tipos de rotavírus circulantes em países em desenvolvimento pode ser o resultado de diferenças em condições sanitárias, de clima e exposição mais frequente de indivíduos para cepas de rotavírus animais destas regiões em comparação com os países desenvolvidos.

Alterações similares foram observadas em países que adotam a vacina Rotarix®, como a Bélgica, Áustria e Austrália e uma ampla revisão de estudos publicados entre 2007 e 2012, relatou uma predominância de cepas heterotípicas, principalmente em países que usam a vacina monovalente, destacando a importância de um maior acompanhamento. Na Austrália, por exemplo, que introduziu ambas as vacinas a pentavalente (RV5) e a monovalente (RV1) no seu Programa Nacional de Imunização, mas em regiões diferentes, reportou que a região RV1 teve comparativamente uma maior frequência do G2P[4], enquanto que a região RV5 teve um aumento da frequência de G1P[8] e G3P[8].

O genótipo recentemente emergente G12P[8] surgiu no período entre 2001-2006 apenas na região Sul e entre 2007-2015 nas regiões Norte e Nordeste. Teve uma prevalência de 1% entre 2007-2010 e 2011-2015. Segundo o estudo de Sánchez-Fauquier et al., este genótipo apareceu pela primeira vez na Espanha durante 2008 e tinha uma prevalência de 5,1% em 2011. Este resultado é consistente também com o que foi encontrado em outro estudo espanhol recente, que informou que o G12 foi o tipo predominante de G durante 2011 no País Basco, comunidade autônoma do norte da Espanha.

O potencial impacto da Rotarix® mantém-se elevado com uma redução de 73% nos casos de hospitalização, apesar da mudança no padrão de distribuição do tipo de rotavírus ao longo do tempo. Tais variações temporais e geográficas nos tipos de rotavírus circulantes destacam a

necessidade de vacinas contra o rotavírus para proporcionar uma proteção ampla, heterotípica e ser otimamente eficaz.

É de suma importância que as características genéticas dos rotavírus humanos sejam investigadas para que possamos reunir informações sobre os mecanismos pelos quais algumas cepas de rotavírus podem surgir em populações humanas. Sendo assim, é necessário que haja manutenção da vigilância do rotavírus para avaliação permanente da eficácia das vacinas contra o rotavírus e controle contínuo do surgimento de novas cepas de rotavírus e/ou linhagens. Poderemos distinguir então se estas variações no genótipo dos rotavírus ocorrem como resultado de uma flutuação natural do genótipo ou devido à introdução da vacina.

REFERÊNCIAS

ENWERONU-LARYEA, C. C. Decline in severe diarrhea hospitalizations after the introduction of rotavirus vaccination in Ghana: a prevalence study. **BMC Infectious Diseases**, v. 14, n. 14, p. 1471-2334, 2014.

KHAWAJA, S. Hospital-based surveillance and analysis of genotype variation in Nicaragua after the introduction of the pentavalent rotavirus vaccine. **Pediatric Infectious Diseases Journal**, v. 33, p. e25-e28, 2014.

KIM, J.-S.; KIM, H. S.; HYUN, J.; KIM, H.-S.; SONG, W.; LEE, K. M.; SHIN, S.-H. Analysis of rotavirus genotypes in Korea during 2013: An increase in the G2P[4] genotype after the introduction of rotavirus vaccines. **Vaccine**, Coreia, v. 32, p. 6396-6402, 2014.

MEDICI, M. C.; TUMMOLO, F.; GUERRA, P.; ARCANGELETTI, M. C.; CHEZZI, C.; CONTO, F.; CALDERARO, A. Evidence of VP7 and VP4 intra-lineage diversification in G4P[8] Italian human rotaviruses. **Springer**, Itália, v. 48, p. 361-365, 2014.

MORILLO, S. G.; LUCHS, A.; CILLI, A. Caracterização dos genótipos de rotavírus em creches: era pré e pós vacinação contra o rotavírus na cidade do Rio de Janeiro. **J Pediatría**, v. 86, n. 2, p. 155-158, março-abril 2010.

PEREIRA, L. A. Caracterização molecular dos genótipos do rotavírus em pacientes imunossuprimidos e não imunossuprimidos. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 89, n. 3, p. 278-285, 2013.

SÁNCHEZ-FAUQUIER, A.; GONZÁLEZ-GALÁN, V.; ARROYO, S.; CABORNERO, A.; RUIZ-BURRUECOS, A.; WILHELMI-DE CAL, I. Monitoring of children with acute gastroenteritis in Madrid, Spain, during 2010–2011: Rotavirus genotype distribution after the vaccines introduction. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 32, p. 280-284, n. 5, 2014.

SANTOS, N. S. O.; HOSHINO, Y. Global distribution of rotavirus serotypes/genotypes and its implication for the development and implementation of an effective rotavirus vaccine, **Medical Virology**, Estados Unidos, v. 15, p. 29-56, 2005.

SANTOS, V. S.; MARQUES, D. P.; MARTINS-FILHO, P. R. S.; CUEVAS, L. E.; GURGEL, R. Q. Effectiveness of rotavirus vaccines against rotavirus infection and hospitalization in Latin America: systematic review and meta-analysis, **Infectious Diseases of Poverty**, v. 5, p. 1-12, 2016.

SILVA, M. L. Prevalência de rotavírus em crianças atendidas na rede pública de saúde do Estado de Pernambuco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Pernambuco, v. 43, n. 5, p. 548-551, Set-Out. 2010.

SORIANO-GABARRÓ, M. Potential impact of Rotarix according to rotavirus type distribution. **The Pediatric Infectious Disease Journal**. v. 27, n. 1, 27: S28-S32, Jan. 2008.

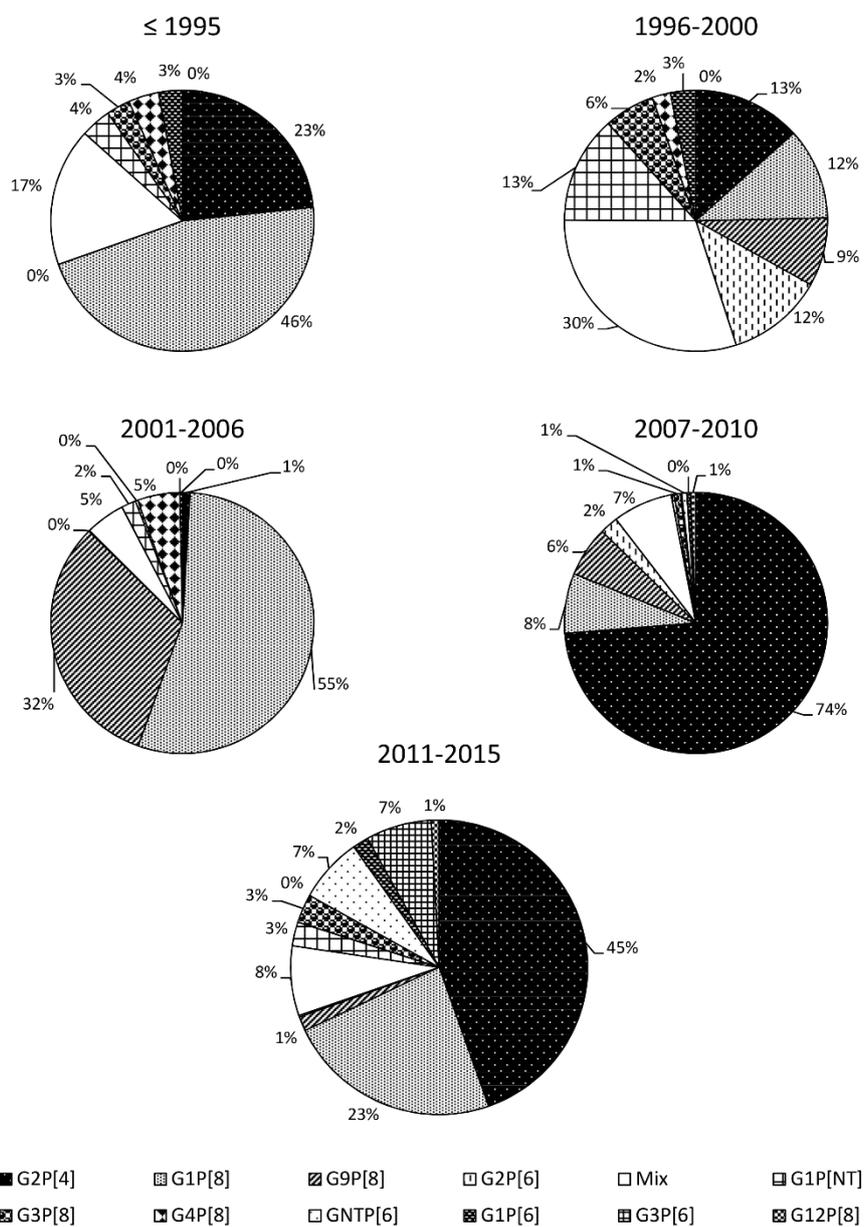


Figura 1. Combinações de genótipos ao longo do tempo.

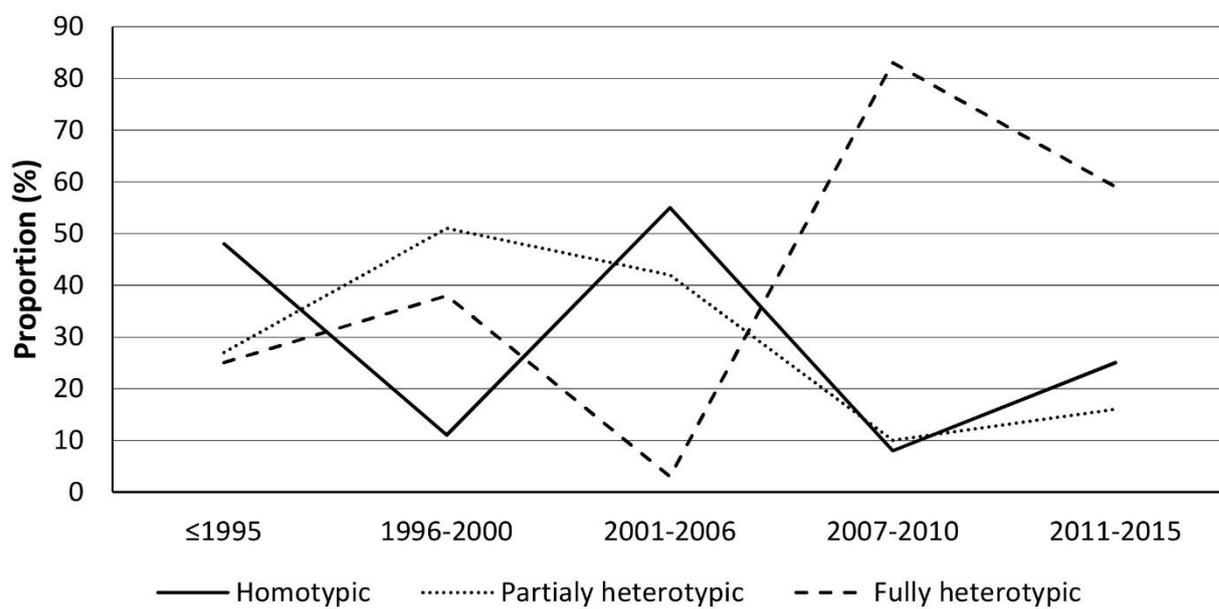


Figura 2. Proporção de genótipos de acordo com o tempo

Tabela 1. Distribuição de genótipos de rotavírus pelo tempo e pela região, Brasil 1990-2015.

Region/Year	≤ 1995	>1995 – 2000	>2000-2006	>2006-2010	>2010-2015*
North	G1 with P[4], P[6], P[8]	G1 with P[8] G2 with P[6]		G1 with P[4], P[6], P[8]	G1 with P[4], P[6], P[8]
	G2 with P[4], P[8]			G2 with P[4], P[6], P[8]	G2 with P[4], P[6], P[8]
	G4 with P[6]			G3 with P[6], P[8]	G3 with P[4], P[8]
	G5 with P[8], P[6]			G9 with P[4], P[6], P[8]	G9 with P[8]
			G12 with P[4], P[6]	G12 with P[6], P[8]	
Northeast	G1 with P[8]		G1 with P[8] G2 with P[4] G8 with P[6] G9 with P[8]	G1 with P[4], P[6], P[8]	G1 with P[4], P[6], P[8]
	G2 with P[4]			G2 with P[1], P[4], P[6], P[8]	G2 with P[1], P[4], P[6], P[8]
	G3 with P[8]			G3 with P[6], P[8]	G3 with P[6], P[8]
	G4 with P[8]			G8 with P[1], P[4], P[6]	G9 with P[8]
	G5 with P[8]			G9 with P[4], P[8]	G12 with P[4], P[6], P[8]
			G12 with P[4], P[8]		
Southeast	G1 with P[1], P[2], P[3], P[6], P[8]	G1 with P[8], P[9], P[6]	G1 with P[4], P[6], P[8]	G1 with P[4], P[8]	G1 with P[4], P[8]
	G2 with P[2], P[4]	G2 with P[4], P[6], P[8]	G2 with P[4], P[8]	G2 with P[4], P[6], P[8]	G2 with P[4], P[6], P[8]
	G3 with P[1], P[3], P[6], P[8]	G3 with P[4], P[6], P[8], P[9]	G3 with P[8]	G3 with P[4], P[6], P[8]	G3 with P[4], P[6], P[8]
	G4 with P[1], P[8]	G4 with P[6], P[8]	G4 with P[8], P[9]	G4 with P[8]	G4 with P[8]
	G5 with P[8]	G5 with P[8]	G8 with P[4]	G5 with PNT	G9 with P[8]
		G9 with P[4], P[8]	G9 with P[4], P[6]	G9 with P[4], P[6], P[8]	G12 with P[6], P[8]
		G10 with P[4]	G10 with PNT		
West Central	G1 with P[8]	G1 with P[8]	G1 with P[6], P[8] G4 with P[8] G9 with P[8]	G1 with P[4], P[8]	G1 with P[4], P[6], P[8]
	G3 with P[8]	G1 with P[6]		G2 with P[4]	G2 with P[4], P[6], P[8]
	G4 with P[8]	G2 with P[6], P[8]		G3 with P[4], P[8]	G3 with P[4], P[8]
	G5 with P[8]	G9 with P[6], P[8]		G4 with P[8]	G4 with P[8]
		G10 with P[8]		G8 with P[8]	G8 with P[8]
			G9 with P[8]		
South	G1 with P[8]		G1 with P[8] G9 with P[8] G12 with P[9]	G1 with P[8]	G1 with P[8]
	G2 with P[4]			G2 with P[4]	
	G4 with P[8]				
	G5 with P[8]				

Tabela 2. Frequência e distribuição das combinações de genótipos ao longo do período do estudo, Brasil 1990-2015.

G/P combination	≤ 1995	>1995-2000	> 2000-2006	>2006-2010	>2010-2015*	Total
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
P[4]G2	56 (23)	47 (13)	9 (1)	2464 (71)	256 (96)	2832 (53)
P[8]G1	111 (46)	40 (11)	524 (54)	248 (10)	134 (50)	1057 (20)
P[8]G9	0 (0)	30 (8)	307 (32)	208 (6)	9 (3)	554 (10)
P[6]G2	0 (0)	42 (12)	1 (0)	75 (2)	1 (0)	119 (2)
P[NT]G1	9 (4)	47 (13)	17 (2)	12 (1)	15 (6)	100 (2)
P[8]G3	7 (3)	22 (6)	3 (0)	26 (1)	18 (7)	76 (1)
P[8]G4	9 (9)	8 (2)	50 (5)	5 (0)	0 (0)	72 (1)
P[6]GNT	0 (0)	0 (0)	0 (0)	21 (2)	41 (15)	62 (1)
P[NT]GNT	0 (0)	0 (0)	0 (0)	62 (2)	0 (0)	62 (1)
P[6]G1	7 (3)	11 (3)	3 (0)	14 (1)	10 (4)	45 (1)
P[6]G3	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	41 (15)	42 (1)
P[4]G1	8 (3)	0 (0)	9 (1)	16 (1)	3 (1)	36 (1)
P[NT]G2	1 (0)	8 (2)	4 (0)	23 (1)	0 (0)	36 (1)
P[8]G2	7 (3)	21 (6)	0 (0)	5 (0)	0 (0)	33 (1)
P[8]G5	16 (7)	8 (2)	6 (1)	0 (0)	0 (0)	30 (1)
P[6]G12	0 (0)	0 (0)	0 (0)	22 (1)	5 (2)	27 (1)
P[4]G9	0 (0)	4 (1)	5 (1)	14 (1)	0 (0)	23 (0)
P[4]G3	0 (0)	18 (5)	2 (0)	1 (0)	0 (0)	21 (0)
P[NT]G9	0 (0)	7 (2)	9 (1)	5 (0)	0 (0)	21 (0)
P[4]G8	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	12 (4)	13 (0)
P[6]G9	0 (0)	9 (3)	1 (0)	3 (0)	0 (0)	13 (0)
Mixed/others	9 (3)	38 (5)	11 (1)	30 (1)	22 (8)	110 (2)
Total	240 (100)	360 (100)	961 (100)	3823 (100)	567 (100)	5384 (100)