

Prêmio Adolfo Lutz: Melhor Pôster apresentado durante o VIII Encontro do Instituto Adolfo Lutz, 2009, na área Biologia Médica: Diversidade Genética VP7 Rotavírus G1 detectado no Estado de São Paulo

Rita de Cássia Compagnoli CARMONA¹, Mauricio REALPE², Adriana LUCHS¹, Simone Guadanucci MORILLO¹, Leonardo José RICHTZENHAIN³, Yasutaka HOSHINO³, Maria do Carmo Sampaio Tavares TIMENETSKY¹

¹Núcleo de Doenças Entéricas, Centro de Virologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil

²Rotavirus Vaccine Development Unit, Epidemiology Section, LID, NIAID, NIH, USA

³Universidade de São Paulo, SP, Brasil

Atualmente, estima-se a ocorrência aproximada de 600 mil mortes em crianças menores de 5 anos de idade devido à doença diarreica por rotavírus. Nos países em desenvolvimento, 1.205 crianças morrem diariamente devido à doença, sendo que 82% destas mortes são oriundas de países mais pobres¹. Devido ao impacto mundial da diarreia por rotavírus, inúmeros esforços têm sido realizados na elaboração de uma vacina eficaz no combate à doença. As vacinas desenvolvidas utilizam os sorotipos mais frequentes G1, G2, G3, G4 e P[8]. Em contrapartida, tem sido proposta a adição, a estas vacinas, de outros sorotipos considerados não usuais e que são importantes epidemiologicamente, de acordo com as diferentes regiões em que foram detectados^{2, 3}. Em março de 2006, o Brasil foi o primeiro país do mundo a introduzir a vacina contra rotavírus humano no Sistema Público de Saúde. A vacina é oral, atenuada, monovalente, sorotipo P[8]G1, denominada Rotarix[®] do Laboratório GlaxoSmithKline, Biológicos.

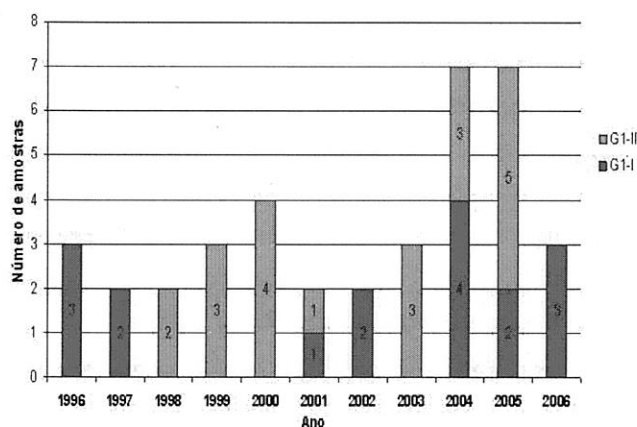
A monitoração contínua da diversidade genética das cepas de rotavírus na nossa população, antes e após

a introdução da vacina contra a doença diarreica, é de extrema importância para detectar possíveis novos rearranjos genéticos, sorotipos e, conseqüentemente, conhecer a evolução do vírus. O objetivo do presente estudo foi caracterizar em nível molecular os rotavírus detectados em pacientes com diarreia aguda no Estado de São Paulo, no período de 1996 a 2006.

Foi realizada seqüência do gene 9 (VP7) de 38 amostras de rotavírus P[8]G1, dentre 341 caracterizadas previamente por Transcrição Reversa-Reação em Cadeia pela Polimerase (RT-PCR). Foram analisadas duas cepas de rotavírus P[8]G1 por ano em 1997, 1998, 2001 e 2002; três cepas nos anos 1996, 1999 e 2003; quatro cepas em 2000; sete cepas em 2004 e 2005; e três em 2006. Os produtos do PCR dos genes 9 (VP7) dos rotavírus P[8]G1 foram purificados pelo método Wizard[®] SV Gel and PCR Clean-UP System kit (Promega Corporation, Madison, USA), conforme instruções do fabricante. A seqüência foi realizada utilizando-se o método Big Dye[™] Terminator Cycle Sequencing Kit (Perkin-Elmer-Applied Biosystems, Inc., Foster City, CA), em sequenciador automático Modelo

ABI Prism 3730, Applied Biosystems Inc. Foram sequenciados 1062 pares de bases do gene 9 (VP7) de cada amostra de rotavírus selecionada, utilizando os *primers* Beg9 - End9⁴. As sequências de aminoácidos determinadas foram comparadas entre si e com as cepas padrões de rotavírus depositadas no *GenBank*. A árvore filogenética mostrou que os genes VP7 das 38 cepas analisadas neste estudo foram agrupados em duas linhagens distintas G1-I (17/38, 44,7%) e G1 da linhagem-II (21/38, 55,3%), comparados com as cepas G1 de referência (Wa). As cepas G1-I foram detectadas em 1996-1997, 2001-2002 e 2004-2006, enquanto as cepas G1-II foram identificadas entre 1998 e 2001 e de 2003 a 2005 (Fig. 1).

Figura 1. Distribuição temporal das linhagens G1 de rotavírus no Estado de São Paulo, entre 1996 e 2006



A caracterização molecular dos rotavírus, realizada no presente estudo, também permitiu conhecer a diversidade de genótipos circulantes no Estado de São Paulo. O genótipo G1 foi o mais prevalente durante o estudo, seguido do G9, G2, G3, G4 e G12. Foi possível observar a emergência do genótipo G9, a partir do ano 2000, e sua prevalência nos anos de 2002, 2004 e 2005. Em 2006, o genótipo G2 foi predominante entre os tipos G rotavírus, coincidindo com a introdução da vacina contra rotavírus. Em 2004, foi detectado pela primeira vez o genótipo G12 no Estado de São Paulo.

A análise da sequência indicou que, no Estado de São Paulo, houve a cocirculação de cepas G1 pertencentes a duas linhagens distintas, em 2001, 2004 e 2005. As cepas G1 apresentaram um alto grau de similaridade dentro de cada linhagem e compartilhada modificações específicas de aminoácidos. Destaca-se que a cepa G1-II não foi detectada após a introdução da vacina Rotarix[®] - G1-II. Análises preliminares sugerem que a vacina Rotarix[®] foi eficiente contra G1-vírus, G1-I e II. No entanto, análises adicionais são necessárias para confirmar estas observações iniciais. A vigilância contínua das gastroenterites por rotavírus e a caracterização de cepas são necessárias para determinar a variação genética e antigênica do vírus na população. Estes dados servem de subsídios na elaboração de estratégias específicas de controle da doença e acompanhamento de futuras campanhas de imunização contra rotavírus, voltados à nossa realidade. Cabe ressaltar que este é o primeiro relato da classificação dos rotavírus genótipo G1 em linhagens no Estado de São Paulo.

Este trabalho também foi premiado pela Sociedade Americana de Virologia, na categoria *Latin American Virology Scholar Awards - 2009*.

REFERÊNCIAS

1. Parashar UD, Gibson CJ, Bresee JS, Glass RI. Rotavirus and severe childhood diarrhea. *Emerg Infect Dis.* 2006; 12 (2):304-6
2. Hoshino Y, Kapikian AZ. Rotavirus serotypes: classification and importance in epidemiology, immunity, and vaccine development. *J Health Popul Nutr.* 2000; 18(1):5-14.
3. Carmona RC, Timenetsky MC, Morillo SG, Richtzenhain LJ. Human rotavirus serotype G9, São Paulo, Brazil, 1996-2003. *Emerg Infect Dis.* 2006; 12 (6): 963-68.
4. Gouvea V, Glass RI, Woods P, Taniguchi K, Clark HF, Forrester B et al. Polymerase Chain Reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens. *J Clin Microbiol.* 1990; 28(2): 276-82.