

ROTAVÍRUS, UMA AMEAÇA À VIDA DAS CRIANÇAS NOS PAÍSES EM VIAS DE DESENVOLVIMENTO

CLAUDIA ISTRATE (C. ISTRATE) *
JOÃO MÁRIO BRÁS PIEDADE (J. PIEDADE) * / **
RICARDO MANUEL SOARES PARREIRA (R. PARREIRA) * / **
AIDA MARIA DA CONCEIÇÃO ESTEVES SIMÕES (A. ESTEVES) * / **

* Grupo de Virologia, Unidade de Ensino e Investigação de Microbiologia Médica, Instituto de Higiene e Medicina Tropical (IHMT), Universidade Nova de Lisboa. Rua da Junqueira, 100, 1349-008 Lisboa, Portugal. Telefone: 213652600. *E-mail*: claudia.istrate@ihmt.unl.pt (C. Istrate).

** Unidade de Parasitologia e Microbiologia Médicas (UPMM) / IHMT.

A nível mundial, a infeção por rotavírus (RV) é a principal causa de gastroenterite aguda grave em crianças com idade inferior a 5 anos, sendo responsável por aproximadamente dois milhões de hospitalizações e meio milhão de mortes anuais nesta faixa etária, metade das quais ocorre na África subsaariana (Tate *et al.*, 2011).

Os RV são membros da família *Reoviridae* e o seu genoma consiste em 11 segmentos de ARN de cadeia dupla. A partícula viral, de simetria icosaédrica, estrutura-se em três camadas proteicas concêntricas. A mais interna (*core*) encerra o genoma viral, a média compreende a proteína viral (VP, do inglês *viral protein*) 6, cujas características antigénicas definem sete grupos (A-G), e a mais externa consiste em duas proteínas indutoras de anticorpos neutralizantes, VP4 e VP7, que definem, respetivamente, os serotipos P e G. VP4 e VP7 são codificadas por segmentos genómicos distintos, com segregação independente, conduzindo à dupla notação G/P na classificação das estirpes virais. Atualmente, no entanto, está cada vez mais generalizada a tipagem genética em detrimento da serotipagem. Para RV humanos do grupo A (onde se inclui a grande maioria dos RV humanos), estão descritos 12 genótipos G e 15 genótipos P que, por coinfeção e redistribuição de segmentos, podem originar, teoricamente, quase duas centenas de combinações (Matthijssens *et al.*, 2011). Para além da redistribuição de segmentos, a acumulação de mutações pontuais e a transmissão zoonótica de estirpes de origem animal constituem mecanismos associados à enorme diversidade genética dos RV. Os estudos de vigilância epidemiológica efetuados até hoje descrevem cinco estirpes virais (G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] e G9P[8]) como responsáveis por 75% das infeções humanas a nível mundial (Bányai *et al.*, 2012). No entanto, a epidemiologia da infeção por RV caracteriza-se por flutuações temporais e geográficas da diversidade das estirpes

circulantes. Em África, esta é particularmente acentuada, tendo sido recentemente identificadas 24 combinações G/P (em que as cinco estirpes virais atrás citadas constituem apenas 36,5% das analisadas), 16% de estirpes não tipáveis, 12% de infeções mistas e 14% de estirpes de origem animal (Todd *et al.*, 2010).

Dada a ubiquidade dos RV e a sua resistência às condições ambientais, a vacinação é considerada como a medida mais promissora para reduzir a morbidade e a mortalidade associadas. Atualmente, existem duas vacinas orais atenuadas licenciadas e a sua inclusão nos programas de vacinação nacionais é recomendada a nível mundial pela OMS. Rotarix® (*GlaxoSmithKline Biologicals*) é uma vacina monovalente derivada de uma estirpe G1P[8] humana. RotaTeq® (*Merck*) é uma vacina pentavalente que contém cinco genótipos humanos (G1, G2, G3, G4 e P[8]) redistribuídos num vírus de origem bovina. A eficácia destas vacinas revelou-se elevada nos países industrializados e mais reduzida nos ensaios realizados em países africanos (Madhi *et al.*, 2010; Sow *et al.*, 2012). Este resultado poderá dever-se, entre outras coisas, à multiplicidade e à constelação de genótipos circulantes, frequentemente distintos dos incluídos nas vacinas, e evidencia a necessidade de conhecer a epidemiologia molecular dos RV circulantes antes e durante a implementação da vacina de modo a avaliar fatores determinantes da sua eficácia. Por outro lado, a vigilância pós-vacinação permitirá documentar potenciais eventos associados à vacina, tais como alteração da prevalência de estirpes, surgimento de mutantes de escape imunitário ou geração de recombinantes entre estirpes selvagens e vacinais.

De entre os países africanos de língua oficial portuguesa (PALOP), Angola e São Tomé e Príncipe (STP) são dois territórios para os quais se desconhece o peso relativo dos RV como agentes

etiológicos de diarreia aguda em crianças, assim como as características dos vírus circulantes.

Entre agosto de 2011 e junho de 2012, numa parceria com o Instituto Marquês de Valle Flôr e financiamento da Fundação Calouste Gulbenkian, foram colhidas, em São Tomé e Príncipe, 244 amostras fecais de crianças, menores de 5 anos, com diarreia aguda. A aplicação de um teste rápido (*CerTest Biotec*, Espanha) revelou 36% (n=88) de prevalência de infecção por RV. Através de um ensaio de RT-PCR *hemi-nested multiplex* (Iturriza-Gómara *et al.*, 2004), foi determinado o genótipo de VP7 e VP4 para 71 das 84 amostras com ARN viral, tendo-se identificado oito combinações G/P diferentes, sendo a mais prevalente a G8P[6] (58%). A presença de produtos de amplificação correspondentes a mais de um genótipo, para VP4 ou VP7, observada em 19% dos casos, sugere existência de infecções mistas ou de mutações que permitam emparelhamento inespecífico de *primers*. Relativamente à epidemiologia da infecção por RV em São Tomé e Príncipe, os dados até agora obtidos permitem-nos observar: i) elevada prevalência de infecção; ii) predominância dos genótipos G8 (64%) e P[6] (68%), maioritariamente na combinação G8P[6], já descrita para o continente africano, mas com prevalências muito mais baixas (Bányai *et al.*, 2012; Todd *et al.*, 2010); iii) existência de estirpes de RV não genotipadas ou com genotipagem incompleta (total de 16%), podendo representar novos RV humanos, por exemplo, devido a transmissões zoonóticas, comparável ao anteriormente encontrado noutros países africanos (Todd *et al.*, 2010; Bányai *et al.*, 2012); iv) circulação de apenas uma das cinco estirpes globalmente mais prevalentes, G1P[8], a qual está

presente em ambas as vacinas disponíveis, e que representa 8,3% das estirpes estudadas; v) apenas 13% dos indivíduos estão infetados por vírus com genótipos cobertos pelas vacinas disponíveis atualmente, pelo que a sua implementação permitirá testar outros mecanismos de resposta imunitária protetora para além da produção de anticorpos neutralizantes específicos dos serotipos G e P.

Angola é um dos países que receberá apoio da *Global Alliance for Vaccines and Immunisation* para a vacinação contra RV (<http://www.gavalliance.org/support/nvs/rotaviruses/>). No sentido de estabelecer o padrão epidemiológico dos RV em Angola antes da implementação da vacina, em junho de 2012, com colaboração do Instituto Nacional de Saúde Pública de Angola, foram colhidas 255 amostras fecais de crianças, da província do Huambo, com diarreia aguda. A prevalência da infecção por RV encontrada foi de 40%, encontrando-se a decorrer a caracterização genética das estirpes virais.

Os dados obtidos nestes projetos permitirão avaliar o peso relativo da infecção por RV nos casos de diarreia aguda infantil, poderão contribuir para uma escolha mais informada da vacina a introduzir e servirão como linha de base a estudos de vigilância epidemiológica a realizar no contexto da vacinação.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação Calouste Gulbenkian e ao Instituto Marquês Valle de Flôr pelo apoio financeiro e logístico (respetivamente), que têm tornado possível a realização do trabalho apresentado.