
ROTAVÍRUS A

E SUA PROFILAXIA VACINAL

Paulo Sérgio Sucasas da Costa, ¹ Divina das Dôres de Paula Cardoso ² e Sandra Josefina Ferraz Ellero Grisi ³

RESUMO

Objetivo: revisar os aspectos microbiológicos, epidemiológicos, clínicos e de prevenção da gastroenterite por rotavírus. *Metodologia:* foram consultadas as publicações mais relevantes dos últimos 30 anos em periódicos especializados nacionais e internacionais (banco de dados: Medline e Lilacs). *Conclusões:* os rotavírus constituem a principal causa de diarreia severa na infância, tanto em países desenvolvidos como naqueles em desenvolvimento. O efetivo controle da doença será alcançado com uma vacina eficaz, para uso em larga escala, e que assegure a proteção contra os episódios diarreicos mais severos, particularmente nos dois primeiros anos de vida. Após a suspensão do uso da vacina tetravalente de origem símio-humana, novas candidatas têm surgido como perspectiva profilática. A contínua vigilância das amostras de rotavírus circulantes é fundamental para o desenvolvimento de uma vacina segura e eficaz.

DESCRITORES: Rotavírus. Vacinas. Diarreia.

ESTRUTURA E CLASSIFICAÇÃO DOS ROTAVÍRUS

Os rotavírus são vírus icosaédricos de aspecto radiado e constituem um gênero distinto da família *Reoviridae* (96). Têm partícula viral íntegra com diâmetro em torno de 70 nm e apresentam diversidade antigênica e genômica, o que permite diferenciá-los em sete grupos, denominados de A a G (39). Estruturalmente as partículas virais são compostas por três camadas protéicas (Figura 1): o capsídeo externo, o capsídeo interno e o core, que contém o genoma viral com 11 segmentos

1 Departamento de Pediatria e Puericultura, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Goiás (UFG).

2 Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, UFG.

3 Instituto da Criança, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Endereço para correspondência: Dr. Paulo Sérgio Sucasas da Costa, Rua J-34, n. 240, quadra 60, lote 12 – Setor Jaó, Goiânia-GO, Brasil. CEP: 74673-520.

Recebido para publicação em 14/11/2003. Revisto em 14/2/2005. Aceito em 20/2/2005.

de RNA de fita dupla (*dsRNA*). Os segmentos variam de 667 a 3.302 pares de bases (pb), segmentos 11 e 1, respectivamente. Têm o genoma total composto por aproximadamente 18.522 pb e são responsáveis pela síntese das proteínas virais estruturais e não estruturais (40).

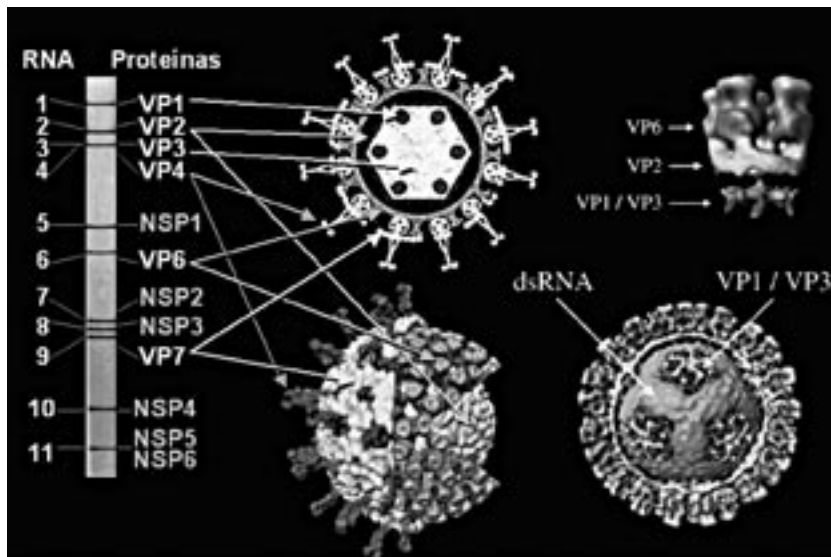


Figura 1. Estrutura tridimensional das partículas de rotavírus. À esquerda, os 11 segmentos de *dsRNA*, que codificam para as proteínas estruturais e não estruturais (39) (com permissão).

Os *Rotavirus A* possuem seis proteínas estruturais, encontradas nas partículas virais maduras, designadas pela sigla VP (proteína viral) e seis proteínas não estruturais (NSP), sintetizadas nas células infectadas descritas a seguir:

VP1 – É sintetizada pelo segmento genômico 1, possuindo massa molecular de 124.847 Daltons e 1.088 aminoácidos (aa), representando aproximadamente 2% da massa viral. Em associação com VP2 e VP3 forma o *core* viral. É considerada a RNA polimerase dos rotavírus (38).

VP2 – Possui massa molecular de 102.431 Daltons, sendo constituída por 880 aa e codificada pelo segmento genômico 2. Caracteriza-se como a proteína mais abundante do *core* viral (38). É altamente imunogênica e parece estar envolvida no processo de organização e replicação do genoma viral (38).

VP3 – É codificada pelo segmento genômico 3, sendo constituída por 835 aa, com massa molecular de 98.120 Daltons (38). Apresenta atividade de guanililtransferase, adicionando resíduos *cap* (5' capped m7GpppG(m)GPy) aos transcritos de *mRNA* (82).

VP4 (VP5* / VP8*) – A VP4 é constituída por 766 aa, sendo codificada pelo segmento 4 do genoma viral. Apresenta massa molecular de 86.782 Daltons (38). É clivada por proteases em VP5* (529 aa) e VP8* (247 aa) e constituída por cerca de 60 espículas diméricas que se projetam da superfície viral, compondo, juntamente com a VP7, o capsídeo externo. A VP4 é a responsável pela ligação dos rotavírus aos enterócitos. Nas células humanas, a ligação é mediada por VP5*, independentemente do ácido siálico, enquanto nos animais a ligação é ácido-siálico dependente e mediada por VP8* (103).

VP6 – É codificada pelo segmento genômico 6 e possui 397 aa e massa molecular de 44.816 Daltons, o que representa cerca de 50% a 60% da massa viral (38). O capsídeo interno é formado pela proteína VP6, que é altamente antigênica e imunogênica, comportando ainda os antígenos de grupo e subgrupo dos rotavírus (48).

VP7 – É uma glicoproteína formada por 326 aa. Possui massa molecular de 37.368 Daltons e é codificada pelos segmentos 7, 8 ou 9 do *dsRNA*, dependendo da amostra viral. É considerada uma proteína altamente imunogênica que induz a formação de anticorpos neutralizantes e apresenta antígeno específico para sorotipo/genotipo de *Rotavirus A* (38). A VP7 está envolvida no processo de penetração do vírus na célula (58).

NSP1 – É uma proteína não estrutural codificada pelo segmento 5 de RNA, com massa molecular de 58.654 Daltons e composta por 491 aa (38). Acredita-se que possua atividade de ligação com o RNA e esteja associada ao encapsidamento do RNA viral (80).

NSP2 – É codificada pelos segmentos 7, 8 ou 9 (dependendo da amostra viral), com massa molecular de 36.633 Daltons e 317 aa. A NSP2 liga-se aos 11 segmentos de *dsRNA* e possui atividade de replicase viral (4).

NSP3 – Pode ser também codificada pelos segmentos 7, 8 ou 9 de acordo com a amostra viral. Possui 315 aa e massa molecular de 34.600 Daltons (38). Admite-se, ainda, que essa proteína atua na tradução do *mRNA*, formando uma ligação entre este e a maquinaria de tradução da célula hospedeira (99).

NSP4 – É codificada pelo segmento 10 do genoma viral, possuindo 175 aa e massa molecular de cerca de 20.000 Daltons (38). Apresenta imunogenicidade específica (56). Considerada a enterotoxina viral é capaz de mobilizar ions cálcio do retículo endoplasmático para o citoplasma, alterando a homeostase intracelular e induzindo a apoptose celular (49).

NSP5 – Codificada pelo gene 11, é uma proteína fosforilada de 21.725 Daltons e cerca de 198 aa (38, 15). Encontra-se localizada no viroplasma, juntamente com NSP2 e, apesar de sua exata função biológica não estar elucidada, admite-se que possua capacidade de ativar fosfoquinasas celulares (36).

NSP6 – É codificada igualmente pelo gene 11, com massa molecular de cerca de 12.000 Daltons. É encontrada na célula infectada sob a forma de inclusões citoplasmáticas (96), formando complexos com a NSP5, com possível envolvimento no processo replicativo viral (46).

Os rotavírus são divididos em grupos de A a G. Os grupos A, B e C são os responsáveis por infecções em humanos, mas verifica-se a prevalência do grupo A (50). Essa divisão é baseada na variação de epitópos da VP6. Para *Rotavirus A*, a VP6 mostra também variações de subgrupos, dos quais, até o momento, foram descritos quatro: I, II, I e II e não I-não II (62). As variações para sorotipo/genotipo são devidas à VP4 e à VP7. A proteína VP7 define os chamados sorotipos/genotipos G (assim denominados por serem uma glicoproteína). Para VP7, a nomenclatura é sempre G, independentemente de sorotipo ou genotipo. Existem 14 tipos de VP7 ou sorotipos/genotipos G, dez dos quais são encontrados em humanos (61) com predominância de G1-G4 (38).

A detecção de distintos genes de VP4 tem servido para classificar os Rotavirus A em sorotipos/genotipos P (assim denominados por serem sensíveis a proteases). Por métodos sorológicos, têm sido identificados os sorotipos P e, por métodos moleculares, identificam-se os genotipos P, os quais nem sempre são coincidentes. A nomenclatura dos sorotipos e genotipos P utiliza a letra P seguida de número quando se referir a sorotipo e, com o número dentro de colchete, quando se referir a genotipo (38). Em relação à VP4, pelo menos 12 sorotipos e 20 genotipos P foram isolados de humanos e animais, embora pelo menos quatro tipos (P1[8], P1[4], P2[6] e P8[11]) ocorram mais comumente em humanos. As proteínas VP4 e VP7 são segregadas de forma independente, apesar de algumas combinações particulares ocorrerem em associação. Desse modo, tem sido observada uma constância de combinações, com P1[8] ocorrendo em amostras G1, G3, G4 e G9; P1[4] em G2; P2[6] em G1, G2, G3 e G4; P3[9] em G1 e G3; P4[10] em G8 e P5[3] em G3 (43).

Os rotavírus também têm sido classificados de acordo com o padrão de migração dos 11 segmentos do genoma viral em eletroforese em gel de poliacrilamida. Lourenço et al. (69) observaram que os 11 segmentos de dsRNA dos *Rotavirus A* migravam sempre em quatro grupos distintos de 4, 2, 3 e 2 segmentos cada. De acordo com o padrão de migração, foi atribuída uma letra a cada grupo. A migração dos segmentos 10 e 11, em particular, define os padrões “longo” e “curto” dos rotavírus. As amostras de rotavírus que apresentam padrão “longo” são geralmente relacionadas com o subgrupo II e aquelas que migram com padrão “curto” correspondem, freqüentemente, ao subgrupo I (72).

REPLICAÇÃO VIRAL E PATOGÊNESE

Os rotavírus possuem tropismo natural por enterócitos maduros das vilosidades do intestino delgado, particularmente da mucosa do jejuno (6). A ligação dos rotavírus à célula hospedeira é determinada pela proteína VP4, após clivagem pela tripsina pancreática em VP5* e VP8* (70). A VP5* – ácido-sialico independente – interage na ligação com enterócitos humanos (103).

A penetração na célula é mediada por VP4 e VP7, através das integrinas $\alpha 2\beta 1$ e $\alpha 4\beta 1$ (25) e pode acontecer, diretamente, através da membrana celular ou

por endocitose. A replicação viral ocorre em toda a sua extensão no citoplasma. Os mRNA são sintetizados de forma ordenada, inicialmente pelos segmentos menores e posteriormente pelos maiores (81). As proteínas codificadas pelo genoma viral são sintetizadas em ribossomos livres, à exceção de VP7 e NSP4, que são sintetizadas em ribossomos ligados ao retículo endoplasmático rugoso (RER) (39).

A montagem das partículas de duplo capsídeo (*core* viral e VP6) parece ocorrer em estruturas eletrodensas perinucleares, denominadas viroplasma (Figura 2). A maturação final das partículas virais ocorre no interior do RER, na dependência de íons Ca^{2+} , sendo transitoriamente envelopadas. Finalmente, as partículas recebem o capsídeo externo (VP4 e VP7), antes ou após o brotamento a partir do retículo endoplasmático. Sendo liberadas após a lise celular, infectam outros enterócitos (39).

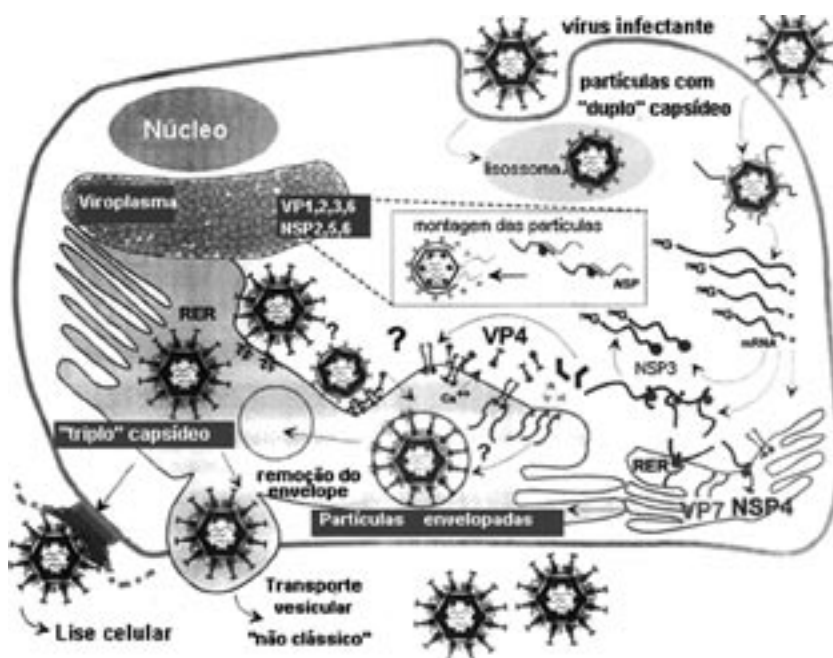


Figura 2. Ciclo de replicação dos rotavírus (39) (com permissão).

A via de infecção habitual é a fecal-oral, apesar de ter sido descrita contaminação eventual por via respiratória (34). A excreção ocorre em concentrações de até um trilhão de partículas/mL de fezes e a carga infectante é de apenas dez partículas viáveis, o que denota a elevada infectividade dos rotavírus (100, 102).

Do ponto de vista celular, a NSP4 – considerada a enterotoxina viral – desencadeia a liberação de íons Ca^{2+} do RER para o citoplasma, acarretando a ativação de enzimas intracelulares e morte celular com liberação de vírus maduros (39).

Do ponto de vista fisiopatológico, mecanismos distintos estão envolvidos no processo diarreico. Segundo Blacklow e Greenberg (16), o mecanismo osmótico ocorreria pela destruição dos enterócitos maduros e pela baixa absorção intestinal de lactose, trazendo, como consequência, o aumento de osmolaridade intestinal e de perdas líquidas. Além disso, um mecanismo secretor, semelhante ao desencadeado por outras enterotoxinas bacterianas, poderia ocorrer através da NSP4, resultando em diarreia sem lesões histopatológicas associadas (39, 49).

Finalmente, Lundgren et al. (71), ao evidenciarem a complexidade dos mecanismos patogênicos envolvidos, postularam que os rotavírus seriam capazes de induzir a secreção intestinal de líquidos e eletrólitos por ativação direta do sistema nervoso da parede intestinal – o sistema nervoso entérico. Os autores estimaram que dois terços da resposta secretória intestinal aos rotavírus seriam mediados por neurônios.

EPIDEMIOLOGIA

Os *Rotavirus A* vêm sendo considerados o agente etiológico mais comum de diarreia aguda em crianças hospitalizadas em todo o mundo (60, 67).

Admite-se que as crianças sejam infectadas em seus primeiros quatro anos de vida. A doença causada por rotavírus ocorre mais freqüentemente dos 6 aos 24 meses de idade, e o pico de infecção tende a ocorrer dos 6 aos 9 meses em países em desenvolvimento – 80% infectados no primeiro ano de vida – e dos 9 aos 15 meses em países industrializados – 65% infectados até 1 ano de idade (17). Em relação ao gênero, Rodriguez et al. (84) demonstraram um discreto predomínio no sexo masculino (1,2:1).

Os levantamentos epidemiológicos de infecção por *Rotavirus A* apresentam variações significativas. Em escala mundial, De Zoysa e Feachem (35), revisando estudos conduzidos em 37 países, observaram a proporção de 12% a 71% (média de 34%) de identificação de rotavírus em crianças de até 36 meses de idade, com diarreia aguda, em atendimento ambulatorial ou hospitalar.

Cunliffe e Hart (33), estudando levantamentos epidemiológicos realizados em 13 países, observaram que os *Rotavirus A* são responsáveis por 20% a 60% das internações por diarreia aguda. A incidência anual de hospitalização por gastroenterite associada aos rotavírus em crianças menores de 5 anos, nessa pesquisa, variou de 250 a 3.000/100.000 crianças/ano.

Em países em desenvolvimento, os rotavírus representam uma das mais importantes causas de mortalidade em crianças (78), com cerca de 500.000 a 600.000 óbitos anuais (74). Estimativas de mortalidade nos Estados Unidos apontam para cerca de 40 óbitos anuais de menores de 5 anos causados por rotavírus (44); em contrapartida, estudos em Bangladesh, país com menos da metade de crianças na mesma faixa etária, apontam para mais de 29.000 óbitos anuais (95).

Dados epidemiológicos, revisados no Brasil (66, 83), sobre a incidência de gastroenterites associadas a rotavírus em crianças atendidas em ambulatórios ou hospitais demonstram variações entre 12% e 42%.

Considerando-se a maior gravidade da infecção por rotavírus em relação a vários outros patógenos intestinais, estudos em âmbito hospitalar apresentam, em geral, maior incidência de diarreia por rotavírus do que os estudos em crianças atendidas em ambulatório com diarreia aguda (17, 66). O’Ryan et al. (79) estudaram, sob esse aspecto, a incidência de rotavírus em crianças com gastroenterite aguda na Venezuela, no Chile e na Argentina. Os autores identificaram os rotavírus como agente causal em 29% a 39% das crianças atendidas ambulatorialmente e em 38% a 71% em pacientes hospitalizados.

A infecção neonatal por rotavírus apresenta aspectos peculiares. Detecta-se elevada prevalência (provável infecção nosocomial) em recém-nascidos internados (11% a 35%) e elevado índice de assintomáticos, cuja variação é de 82,3% a 100% (1, 9, 68).

Há uma tendência à sazonalidade na infecção por rotavírus. Ela ocorre, predominantemente, no inverno em regiões de clima temperado e durante todo o ano em áreas de clima tropical (17, 51, 91). No Brasil, as regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste apresentam pico predominante nos meses secos, de maio a setembro (18, 19, 30, 32, 45), ao contrário das regiões Norte e Nordeste, onde a sazonalidade não é tão marcante (63, 90).

Gentsch et al. (43) concluíram que, apesar da variação da prevalência dos diferentes sorotipos/genotipos ao longo do tempo, há um predomínio, em escala global, das amostras caracterizadas como G1P[8]. Iturriza-Gomarra et al. (52) avaliaram 3.601 amostras de rotavírus na Inglaterra e observaram que, de forma semelhante, as combinações G e P (G1P[8], G2P[4], G3P[8] e G4P[8]) ocorreram em 95,4% do total de amostras.

Entretanto, Masendycz et al. (73), em levantamento epidemiológico realizado na Austrália com 1.108 amostras fecais de crianças com gastroenterite, identificaram o sorotipo G9 (18,1%) como o segundo mais prevalente após o G1 (49,5%), seguido dos sorotipos G2 (12,5%) e G4 (9,7%).

Beards et al. (7) demonstraram uma tendência à flutuação das frequências relativas dos genotipos predominantes, com destaque para G1 e G2, os quais alternam a prevalência em épocas distintas em uma mesma região, fato também observado em Belém-PA e Goiânia-GO (19, 66).

Outros sorotipos de menor incidência, como o G5, já foram isolados em amostras fecais de crianças com diarreia aguda (19, 47).

Em relação à avaliação dos padrões de migração do genoma viral em gel de poliacrilamida, Espinoza et al. (37) estudaram 296 crianças com diarreia aguda e detectaram 84 (28%) amostras positivas para rotavírus. Todas apresentaram padrão “longo” e foram classificadas como pertencentes ao subgrupo II. De forma semelhante, Steele et al. (89) e Cardoso et al. (19) observaram um predomínio de amostras apresentando padrão “longo” e classificadas como subgrupo II em relação àquelas com padrão “curto” e subgrupo I.

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Após um período de incubação de 2 a 4 dias (11), tem início o quadro clínico abrupto e clássico das gastroenterites causadas por rotavírus.

Os vômitos constituem, habitualmente, a manifestação clínica inicial, precedendo o quadro diarréico em 12 a 24 horas (93). Essa manifestação inicial tem sido observada em 55% dos casos (94). A incidência dos vômitos varia de 58% a 96% dos casos, com duração média de dois dias e meio (84, 93, 94).

A febre é geralmente elevada, ocorrendo em cerca de 70% das infecções, com duração média de 2,6 dias (64, 84). Uhnou et al. (94) detectaram febre em 84% dos casos, sendo observada temperatura superior a 39°C em 42% dos casos.

O quadro diarréico instala-se, geralmente, de forma abrupta, com fezes líquidas e explosivas, apresentando, quase sempre, até dez episódios por dia (11). Raramente se evidencia quadro disentérico (27). A presença de sangue (macroscópico ou oculto) foi identificada em menos de 1% de 168 episódios diarréicos relacionados com rotavírus na Suécia (94). No mesmo estudo, os autores observaram que a duração média do quadro diarréico foi de 5,9 dias (0–28 dias) e 21% dos casos apresentaram mais de dez evacuações líquidas ao dia.

Avaliando crianças submetidas à internação por diarréia aguda, Saat et al. (88) observaram que, quando vômito, diarréia e febre ocorriam concomitantemente, o isolamento de rotavírus atingia 56%, em contraposição a somente 3% verificados quando apenas a diarréia estava presente.

A desidratação, comumente isonatrêmica (84), apresenta-se com significativa variação, dependendo, dentre outros fatores, se a coleta dos dados é feita em âmbito hospitalar (83% de desidratação grave) (84) ou ambulatorial (11% de desidratação grave) (93).

Ruuska e Vesikari (85) compararam a gravidade da diarréia aguda entre grupos de etiologia diversa – rotavírus, adenovírus, bacteriana e não esclarecida – obtendo, respectivamente, os escores de $11,0 \pm 3,7$; $6,3 \pm 4,2$; $6,6 \pm 3,5$ e $5,3 \pm 3,1$, o que demonstrou gravidade significativamente maior ($p < 0,0001$) no grupo de etiologia por rotavírus em comparação com os demais grupos.

Linhares et al. (64) compararam, de forma semelhante, a gravidade da gastroenterite por rotavírus com a de outras etiologias, utilizando o que denominaram “escore de Kapikian” (42). Obtiveram valores significativamente maiores ($p < 0,05$) no grupo de etiologia por rotavírus (média de 9,4 pontos) do que no grupo relacionado com outros patógenos (média de 5,3 pontos).

Com o objetivo de relacionar genótipos de rotavírus com quadros de maior gravidade, Bern et al. (10) estudaram 764 crianças com diarréia aguda e a respectiva identificação de rotavírus nas fezes, e em 485 amostras o sorotipo G foi determinado. Foram observados escores de gravidade significativamente maiores ($p < 0,05$) para os sorotipos G3 (média de 2,0 pontos) e G2 (média de 1,9 ponto), comparativamente aos sorotipos G1 (1,7 ponto em média) e G4 (1,6 ponto em média).

De forma semelhante, Cascio et al. (20) buscaram identificar genótipos, padrões eletroforéticos e subgrupos relacionados com infecções de maior gravidade em 401 crianças com identificação de rotavírus nas fezes. Observaram escores (42) significativamente mais graves ($p < 0,05$) na associação do eletroferotipo (bbfb) padrão “curto” com G2, em comparação com os eletroferotipos padrão “longo” (bbea, cbea, bcea e ccea) associados aos genótipos G1 e G4.

Durante um surto de diarreia grave por rotavírus ocorrido na cidade de Mirassol-SP, Timenetsky et al. (92) identificaram em todos os casos o sorotipo G2, o subgrupo I e o padrão eletroforotípico “curto”. Destacaram a gravidade dos quadros diarreicos (35% de hospitalizações, inclusive em adultos) e o acometimento de faixas etárias maiores (67% dos 132 casos eram maiores de 3 anos de idade).

Entretanto, O’Ryan et al. (79), estudando prospectivamente 318 crianças em creches de Houston, Texas (EUA), observaram 362 infecções por rotavírus, sendo 277 amostras submetidas a sorotipagem G. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas de sintomatologia clínica entre os sorótipos G1, G2 ou G3 ($p = 0,2$) identificados durante o estudo. De forma semelhante, Costa et al. (31) também não observaram padrões estatisticamente diferentes de gravidades entre os genótipos identificados, inclusive em relação ao genótipo G9, identificado de forma crescente em vários estudos.

IMUNIDADE, PROFILAXIA E SUAS PERSPECTIVAS

O papel do sistema imune em relação à infecção natural ou vacinal por rotavírus é complexo e controverso. O ponto de partida para que se compreenda a imunidade ante os rotavírus é a demonstração de que tanto a infecção pelo vírus selvagem quanto aquela ocorrida pelo vírus vacinal induzem uma resposta imune e protegem contra as formas graves da doença em infecções sucessivas (14, 24, 41, 75, 97).

Dados recentes (54, 98) demonstraram que os anticorpos séricos específicos para as proteínas VP4 e VP7, se presentes em níveis críticos, possuem importante e potente efeito protetor contra a doença causada por rotavírus, mesmo que outros fatores de defesa, como os anticorpos anti-NSP4 e imunidade celular (56), além de fatores locais da mucosa, possam também estar implicados (77).

Embora tenha sido demonstrado que infecções ou imunizações por determinado sorotipo podem assegurar proteção contra outros sorótipos (5, 13, 101), a imunidade determinada pelos rotavírus é predominantemente homotípica. Dentre os fatores que reforçam a proteção sorotipo-específica podem ser citados:

- a) associação da presença de anticorpo neutralizante sorotipo-específico com a proteção contra diarreia causada por rotavírus homotípico (8, 24, 42);
- b) ocorrência mais frequente de reinfecção por um sorotipo G diferente do que por infecções prévias (97);

- c) maior proteção obtida com a vacina tetravalente RRV-TV (86) do que com a vacina monovalente MMU-18006 (42).

O aleitamento materno tem um efeito protetor contra as infecções por rotavírus que parece durar somente enquanto é praticado; o que gera o deslocamento da faixa etária de maior incidência desse tipo de infecção do primeiro para o segundo ano de idade em crianças amamentadas exclusivamente no seio materno (28).

No tocante à profilaxia das infecções por rotavírus, é fundamental observar que os indicadores de morbidade são semelhantes, tanto em países desenvolvidos quanto naqueles em desenvolvimento (17). Tal fato pode traduzir a eficácia limitada da adoção de medidas de saneamento básico e de melhores condições de higiene, bem como a necessidade do desenvolvimento e da implementação de uma vacina segura e eficaz (67).

Desde as primeiras investigações com as vacinas *Jennerianas* de rotavírus atenuados de origem animal (*RIT 4237*, *WC3* e *MMU-18006*), desenvolvidas na década de 1980 (42, 101), a primeira vacina contra rotavírus, licenciada para uso humano nos Estados Unidos (2, 21), foi a vacina tetravalente recombinante de origem símia e humana (*Rotashield*TM). Nessa vacina, a amostra MMU 18006, de origem símia atenuada com especificidade de VP7 para G3, foi geneticamente associada a três outras amostras com a VP7 de origem humana, com especificidade para G1, G2 e G4, respectivamente (59).

Embasada em estudos que comprovaram alta eficácia (na ordem de 70% a 100%) contra as formas graves da doença (55, 65, 86), a vacina tetravalente *Rotashield*TM foi implantada em agosto de 1998.

Entretando, em setembro de 1999, após cerca de 1,5 milhão de doses serem aplicadas, seu uso foi interrompido, uma vez que 23 casos de intussuscepção alertavam para esse possível evento adverso (3). Após cerca de um mês, dados mais expressivos revelaram 114 registros de invaginação intestinal associados à *RRT-TV* e determinaram a suspensão definitiva do uso da *Rotashield*TM no território americano (22).

Após três anos, aproximadamente, discute-se a real expressividade da intussuscepção associada à *RRV-TV* (23, 33, 76). Recente análise (87) indicou o risco inexpressivo de um caso de invaginação intestinal para cada 66.000 a 302.000 doses aplicadas. Iwamoto et al. (53), em levantamento recente, demonstraram que somente 15% dos pediatras americanos utilizariam novamente a *RRT-TV* em caso de eventual disponibilidade.

Além da possível reintrodução da *Rotashield*TM em países em desenvolvimento (66), outras candidatas à vacina contra os rotavírus encontram-se em estudos (34), entre elas:

- vacinas de rotavírus humanos atenuados, como a 89-12 (*Rotarix*TM – Glaxo Smithkline and Avant Immunotherapeutics, Inc, Needham, MA, USA) com especificidade para G1P[8] e com proteção até 100% em relação a hospitalizações

(12, 13) e a vacina RV3, de amostra de rotavírus neonatal atenuado com especificidade para G3P[6] (5), ambas demonstrando proteção heterotípica;

- vacinas multivalentes bovino-humanas, como a *UK reassortant rotavirus vaccine* (29) e a vacina *Rotateq*TM, (Merck and Co, West Poin, PA), em fase II e III de estudo (26), respectivamente;

- vacinas inativadas de uso parenteral, cujos estudos em cobaias, embora sejam recentes (57), apresentam resultados promissores de imunogenicidade e proteção.

Elas terão a difícil missão de substituir a *RRV-TV*, após uma das mais tormentosas implantações vacinais das últimas décadas. Uma vacina segura e eficaz certamente terá um impacto altamente positivo na redução da morbimortalidade no campo das gastroenterites por rotavírus em crianças de todo o mundo.

ABSTRACT

Rotavirus A and vaccine prophylaxis

Objective: this review was prepared to carry on an extensive review of microbiological, epidemiologic, clinical and prevention aspects of rotavirus gastroenteritis. *Methods:* the main source of information was the most relevant articles published in both national and international journals (databasis Medline and Lilacs) during the past 30 years. *Conclusions:* rotaviruses are the leading cause of severe gastroenteritis in infants and young children in both industrialized and less developed countries. The prevention need to be directed toward the development of an effective rotavirus vaccine, for large-scale use, that would primarily protect children aged 0 to 2 years against severe rotavirus gastroenteritis. After the withdrawal of the rhesus-based rotavirus tetravalent vaccine, new vaccine candidate promises effective prophylaxis. A surveillance system to monitor the circulating rotavirus strains is important to develop safer and effective rotavirus vaccines.

KEYWORDS: Rotavirus. Vaccines. Diarrhea.

REFERÊNCIAS

1. Al-Frayh AR, Ramia S, Bakir TMF, Zaidi MA. Rotavirus shedding by neonates and possible modes of transmission. *J Trop Pediatr* 33:246-248, 1987.
2. American Academy of Pediatrics, Committee on Infectious Diseases. Prevention of rotavirus disease: guidelines for use of rotavirus vaccine. *Pediatrics* 102:1483-1491, 1998.
3. American Academy of Pediatrics, Committee on Infectious Diseases. Possible association of intussusception with rotavirus vaccination. *Pediatrics* 104:575, 1999.
4. Aponte C, Poncet D, Cohen J. Recovery and characterization of a replicase complex in rotavirus-infected cells by using a monoclonal antibody against NSP2. *J Virol* 70: 985-991, 1996.
5. Barnes GL, Lund JS, Mitchell SV, De Bruyn L, Piggford L, Smith AL, Furmedge J, Masendycz PJ, Bugg HC, Bogdanovic-Sakran N, Carlin JB, Bishop RF. Early phase II trial of human rotavirus vaccine candidate RV3. *Vaccine* 20:23-24, 2002.

6. Bass DM, Mackow ER, Greenberg HB. NS35 and not VP7 is the soluble rotavirus protein which binds to target cells. *J Virol* 64: 322-330, 1990.
7. Beards GM, Desselberger U, Flewett TH. Temporal and geographical distributions of human rotavirus serotypes, 1983 to 1988. *J Trop Pediatr* 27:2827-2833, 1989.
8. Begue RE, Martin P, Dennehy PH. Serologic responses by immunoblot following natural infection with rotavirus serotypes G1 and G4 in children. *J Med Virol* 56:52-57, 1998.
9. Benatvala JE, Chrystie IL, Totterdell BM. Rotaviral infections in human neonates. *J Am Vet Med Assoc* 173:527-530, 1978.
10. Bern C, Unicomb L, Gentsch JR, Banul N, Yunus M, Sack RB, Glass RI. Rotavirus diarrhea in Bangladeshi children: correlation of disease severity with serotypes. *J Clin Microbiol* 30:3234-3238, 1992.
11. Bernstein DI, Ward RL. Rotaviruses. In: Feigin, R.D.; Cherry, J.D. *Textbook of pediatric infectious diseases*. 4th ed. Philadelphia: Saunders, 1998. p.1901-1922.
12. Bernstein DI, Sack DA, Rothstein E, Reisinger K, Smith VE, O'Sullivan D, Spriggs DR, Ward RL. Efficacy of live, attenuated, human rotavirus vaccine 89-12 in infants: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 354:287-290, 1999.
13. Bernstein DI, Sack DA, Reisinger K, Rothstein E, Ward RL. Second-year follow-up evaluation of live, attenuated human rotavirus vaccine 89-12 in healthy infants. *J Infect Dis* 186:1487-1489, 2002.
14. Bishop RF, Barnes GL, Cipriani E, Lund JS. Clinical Immunity after neonatal rotavirus infection. *New Engl J Med* 309:72-76, 1983.
15. Blackhall J, Muñoz M, Fuentes A, Magnusson G. Analysis of rotavirus nonstructural protein NSP5 phosphorylation. *J Virol* 72:6398-6405, 1998.
16. Blacklow NR, Greenberg HB. Viral gastroenteritis. *New Engl J Med* 325:252-261, 1991.
17. Bresee JS, Glass RI, Ivanoff B, Gentsch JR. Current status and future priorities for rotavirus vaccine development, evaluation and implementation in developing countries. *Vaccine* 17:2201-2222, 1999.
18. Cardoso DDP, Martins RMB, Kitajima EW, Barbosa AI, Camarota SCT, Azevedo MSP. Rotavírus e adenovírus em crianças de 0-5 anos hospitalizadas com ou sem gastroenterite em Goiânia-GO, Brasil. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 34:433-439, 1992.
19. Cardoso DDP, Soares CMA, Azevedo MSP, Leite JPG, Munford V, Racz ML. Serotypes and subgroups of rotavirus isolated from children in Central Brazil. *J Health Popul Nutr* 18:39-43, 2000.
20. Cascio A, Vizzi E, Alaimo C, Arista S. Rotavirus gastroenteritis in italian children: can severity of symptoms be related to the infecting virus? *Clin Infect Dis* 32:1126-1132, 2001.
21. Centers for Disease Control and Prevention. Rotavirus vaccine for the prevention of rotavirus gastroenteritis among children: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *Morb Mortal Wkly Rep* 48:1-24, 1999.
22. Centers for Disease Control and Prevention. Withdrawal of rotavirus vaccine recommendation. *Morb Mortal Wkly Rep* 48:1007, 1999.
23. Chang EJ, Zangwill KM, Lee H, Ward JI. Lack of association between rotavirus infection and intussusception: implication for use of attenuated rotavirus vaccines. *Pediatr Infect Dis J* 21:97-102, 2002.
24. Chiba S, Nakata S, Urasawa T, Urasawa S, Yokoyama T, Morita Y, Taniguchi K, Nakao T. Protective effect of naturally acquired homotypic and heterotypic rotavirus antibodies. *Lancet* 2:417-421, 1986.
25. Ciarlet M, Crawford SE, Cheng E, Blutt SE, Rice DA, Bergelson JM, Estes MK. VLA-2 ($\alpha 2\beta 1$) integrin promotes rotavirus entry into cells but is not necessary for rotavirus attachment. *J Virol* 76:1109-1123, 2002.
26. Clark HF, Offit PA, Ellis RW, Eiden JJ, Krah D, Shaw AR, Pichichero M, Treanor JJ, Borian FE, Bell LM, Plotkin SA. The development of multivalent bovine rotavirus (strain WC3) reassortant vaccine for infants. *J Infect Dis* 174:73-80, 1996.
27. Clemens JD, Ahmed M, Butler T, Greenough III WB, Sack DA, Stanton BF. Rotavirus diarrhoea: an expanding clinical spectrum. *J Trop Med Hyg* 83:117-122, 1983.

28. Clemens J, Rao M, Ahmed F, Ward R, Huda S, Chakraborty J, Yunus M, Khan MR, Ali M, Kay B, van Loon F, Sack D. Breast-feeding and the risk of life-threatening rotavirus diarrhea: prevention or postponement? *Pediatrics* 92:680-685, 1993.
29. Clements-Mann ML, Dudas R, Hoshino Y, Nehring P, Sperber E, Wagner M, Stephens I, Karron R, Deforest A, Kapikian AZ. Safety and immunogenicity of live attenuated quadrivalent human-bovine (UK) reassortant rotavirus vaccine administered with childhood vaccines to infants. *Vaccine* 19:4676-4684, 2001.
30. Coiro JRR, de Almeida-Neto AJ, Heuser MCF, Bendati MMA, Vasconcelos VL. Acute enteritis associated with rotavirus presence in Brazilian children: evaluations on the prevalence, therapy and age group. *J Diarrhoeal Dis Res* 3:78-83, 1985.
31. Costa PSS, Cardoso DDP, Souza MBLD, Santos RAT, Grisi SJFE. Rotavirus A genotypes in Central Brazil related to severity of symptoms. 2004. Trabalho submetido à publicação.
32. Costa PSS, Grisi SJFE, Cardoso DDP, Fiaccadori FS, Souza MBLD, Santos RAT. Manifestações clínicas e epidemiológicas das infecções por *Rotavirus A*. *Pediatrics* 26:151-158, 2004.
33. Cunliffe NA, Hart CA, Bresee JS. Rotavirus vaccines: development, current issues and future prospects. *J Infect* 45:1-9, 2002.
34. Dennehy PH. Rotavirus vaccines: an update. *Curr Opin Pediatr* 17:88-92, 2005.
35. De Zoysa I, Feachem RG. Interventions for the control of diarrhea diseases among young children: rotavirus and cholera immunization. *Bull World Health Organ* 63:569-583, 1985.
36. Eichwald C, Vasotto F, Fabbretti E, Burrone OR. Rotavirus NSP5: mapping phosphorylation sites and kinase activation and viroplasm localization domains. *J Virol* 76:3461-3470, 2002.
37. Espinoza F, Paniagua M, Hallander H, Hedlund K, Svensson L. Prevalence and characteristics of severe rotavirus infections in Nicaraguan children. *Ann Trop Paediatr* 17:25-32, 1997.
38. Estes MK, Cohen J. Rotavirus gene structure and function. *Microbiol Rev* 53:410-449, 1989.
39. Estes MK. Rotavirus and their replication. In: Knipe DM, Rowley PM, Griffin DE, Martin MA, Lamb RA, Roizaman B. *Fields virology*. 4th Philadelphia: Williams & Wilkins, 2001. p.1747-1785.
40. Falconer MM, Gilbert JM, Roper AM, Greenberg HB, Gavora JS. Rotavirus-induced fusion from without in tissue culture cells. *J Virol* 69:5582-5591, 1995.
41. Fisher TK, Valentiner-Branth P, Steinsland H, Perch M, Santos G, Aaby P, Molbak K, Sommerfelt H. Protective immunity after natural rotavirus infection: a community cohort study of newborn children in Guinea-Bissau, west Africa. *J Infect Dis* 186:593-597, 2002.
42. Flores J, Pérez-Schael I, González M, Garcia D, Perez M, Daoud N, Cunto W, Chanock RM, Kapikian AZ. Protection against severe rotavirus diarrhoea by rhesus rotavirus vaccine in venezuelan infants. *Lancet* 1:882-884, 1987.
43. Gentsch JR, Woods PA, Ramacandran M, Das BK, Leite JP, Alfieri A, Kumar R, Bhan MK, Glass RI. Review of G and P typing results from a global collection of rotavirus strains: implications for vaccine development. *J Infect Dis* 174:30-36, 1996.
44. Glass RI. The epidemiology of rotavirus diarrhea in the United States: surveillance and estimates of disease burden. *J Infect Dis* 174:5-11, 1996.
45. Gomes TA, Rassi V, McDonald KL, Ramos SRTS, Trabulsi LR, Vieira MA, Guth BEC, Candeias JAN, Ivey C, Toledo M, Blake P. Enteropathogens associated with acute diarrheal diseases in urban infants in São Paulo, Brazil. *J Infect Dis* 164:331-337, 1991.
46. González RA, Torres-Vega MA, López S, Arias CF. In vivo interactions among rotavirus nonstructural proteins. *Arch Virol* 143:981-996, 1998.
47. Gouvea V, Castro L, Timenetsky MC, Greenberg H, Santos N. Rotavirus serotype G5 associated with diarrhea in Brazilian children. *J Clin Microbiol* 32:1408-1409, 1994.
48. Greenberg H, McAuliffe V, Valdesuso J, Wyatt R, Flores J, Kalica A, Hoshino Y, Singh N. Serological analysis of the subgroup protein of rotavirus using monoclonal antibodies. *Infect Immun* 39:91-99, 1983.
49. Halaihel N, Lievin V, Ball JM, Estes MK, Alvarado F, Vasseur M. Direct inhibitory effect of rotavirus NSP4(114-135) peptide on the Na(+)-D-glucose symporter of rabbit intestinal brush border membrane. *J Virol* 74:9464-9470, 2000.

50. Ho MS, Glass RI, Pinsky PF, Anderson LJ. Rotavirus as a cause of diarrheal morbidity and mortality in the United States. *J Infect Dis* 158:1112-1116, 1988.
51. Inouye S, Yamashita K, Yamadera S, Yoshikawa M, Kato N, Okabe N. Surveillance of viral gastroenteritis in Japan: pediatric cases and outbreak incidents. *J Infect Dis* 181:270-274, 2000.
52. Iturriza-Gómara M, Isherwood B, Desselberger U, Gray J. Reassortment in vivo: driving force for diversity of human rotavirus strains isolated in the United Kingdom between 1995 and 1999. *J Virol* 75:3696-3705, 2001.
53. Iwamoto M, Saari TN, McMahon SR, Yusuf HR, Massoudi MS, Stevenson JM. A survey of pediatricians on the reintroduction of a rotavirus vaccine. *Pediatrics* 112:6-10, 2003.
54. Jiang B, Gentsch JR, Glass RI. The role of serum antibodies in the protection against rotavirus disease: an overview. *Clin Infect Dis* 34:1351-1361, 2002.
55. Joensuu J, Koskenniemi E, Pang XL, Vesikari T. Randomised placebo-controlled trial of rhesus-human reassortant rotavirus vaccine for prevention of severe rotavirus gastroenteritis. *Lancet* 350:1205-1209, 1997.
56. Johansen K, Hinkula J, Espinoza F, Levi M, Zeng C, Rudén U, Vesikari T, Estes M, Svensson L. Humoral and cell-mediated immune responses in humans to the NSP4 enterotoxin of rotavirus. *J Med Virol* 59:369-377, 1999.
57. Johansen K, Schroder U, Svensson L. Immunogenicity and protective efficacy of a formalin-inactivated rotavirus vaccine combined with lipid adjuvants. *Vaccine* 17:368-675, 2003.
58. Kaljot KT, Shaw RD, Rubín DH, Greenberg HB. Infectious rotavirus enters cells by direct cell membrane penetration not by endocytosis. *J Virol* 62:1136-1144, 1988.
59. Kapikian AZ, Hoshino Y, Chanock RM, Pérez-Schael I. Efficacy of a quadrivalent rhesus rotavirus-based human rotavirus vaccine aimed at preventing severe rotavirus diarrhea in infants and young children. *J Infect Dis* 174:65-72, 1996.
60. Kapikian AZ, Yasutaka H, Chanock RM. Rotaviruses. In: Knipe DM, Rowley PM, Griffin DE, Martin MA, Lamb RA, Roizman B. *Fields virology*. 4th ed. Philadelphia: Williams & Wilkins, 2001. p.1787-1833.
61. Koopmans M, Brown D. Seasonality and diversity of group A rotaviruses in Europe. *Acta Paediatr* 426:14-19, 1999.
62. Krishnan T, Burke B, Shen S, Naik TN, Desselberger U. Molecular epidemiology of human rotaviruses in Manipur: Genome analysis of rotaviruses of long electropherotype and subgroup I. *Arch Virol* 134:279-292, 1994.
63. Linhares AC, Gabbay YB, Freitas RB, Travassos da Rosa ES, Mascarenhas JDP, Loureiro ECB. Longitudinal study of rotavirus infections among children from Belém, Brazil. *Epidemiol Infect* 102:129-145, 1989.
64. Linhares AC, Gabbay YB, Mascarenhas JDP, Freitas RB, Oliveira CS, Belles N, Monteiro TF, Lins-Lainson Z, Ramos FLP, Valente AS. Estudo prospectivo das infecções por rotavirus em Belém, Pará, Brasil: uma abordagem clínico-epidemiológica. *J Pediatr* 70:220-225, 1994.
65. Linhares AC, Lanata CF, Hausdorff WP, Gabbay YB, Black RE. Reappraisal of the peruvian and brazilian lower titer tetraivalent rhesus-human reassortant rotavirus vaccine efficacy trials: analysis by severity of diarrhea. *Pediatr Infect Dis J* 18:1001-1006, 1999.
66. Linhares AC. Epidemiologia das infecções por rotavirus no Brasil e os desafios para o seu controle. *Cad Saude Publica* 16:629-646, 2000.
67. Linhares AC, Bresee JS. Rotavirus vaccines and vaccination in Latin America. *Pan Am J Pub Health* 8:305-331, 2000.
68. Linhares AC, Mascarenhas JDP, Gusmão RH, Gabbay YB, Fialho AM, Leite JPG. Neonatal rotavirus infection in Belém northern Brazil: nosocomial transmission of a P[6]G2 strain. *J Med Virol* 67:418-426, 2002.
69. Lourenço MH, Nicolas JC, Cohen J, Scherrer R, Bricout F. Study of human rotavirus genome by electrophoresis: attempt of classification among strains isolated in France. *Ann Inst Pasteur Virol* 132:161-173, 1981.

70. Ludert IE, Krishnaney AA, Burns JW, Vo PT, Greenberg HB. Cleavage of rotavirus VP4 in vivo. *J Gen Virol* 77:391-395, 1996.
71. Lundgren O, Peregrin AT, Persson K, Kordasti S, Uhnöo I, Svensson L. Role of the enteric nervous system in the fluid and electrolyte secretion of rotavirus diarrhea. *Science* 287:491-495, 2000.
72. Mascarenhas JDP, Linhares AC, Gabbay YB, Freitas RB, Mendez E, Lopez S, Arias CF. Naturally occurring serotype 2/subgroup II rotavirus reassortants in Northern Brazil. *Virus Res* 14:235-240, 1989.
73. Masendycz P, Bogdanovic-Sakran N, Kirkwood C, Bishop R, Barnes G. Report of the Australian rotavirus surveillance program 2000/2001. *Commun Dis Intell* 25:143-146, 2001.
74. Miller MA, McCann L. Policy analysis of the use of hepatitis B *Haemophilus influenzae* type b-*Streptococcus pneumoniae*-conjugate and rotavirus vaccines in national immunization schedules. *Health Econom* 9:19-35, 2001.
75. Moulton LH, Staat MA, Santosham M, Ward RL. The protective effectiveness of natural rotavirus infection in an American Indian population. *J Infect Dis* 178:1562-1566, 1998.
76. Murphy TV, Gargiullo PM, Massoudi MS, Nelson DB, Jumaan AO, Okoro CA, Zanardi LR, Setia S, Fair E, Lebaron CW, Wharton M, Livengood JR. Intussusception among infants given an oral rotavirus vaccine. *New Engl J Med* 344: 564-572, 2001.
77. Offit PA. Host factors associated with protection against rotavirus disease: the skies are clearing. *J Infect Dis* 174:59-64, 1996.
78. Offit PA. The future of rotavirus vaccines. *Semin Pediatr Infect Dis* 13:190-195, 2002.
79. O’Ryan MO, Pérez-Schael I, Mamani N, Peña A, Salinas B, Gonzáles G, Gonzáles F, Matson DO, Gómez J. Rotavirus-associated medical visits and hospitalization in South America: a prospective study at three large sentinel hospitals. *Pediatr Infect Dis J* 20:685-693, 2001.
80. Okada J, Kobayashi N, Taniguchi K, Urasawa S. Analysis on reassortment of rotavirus NSP1 genes lacking coding region for cysteine-rich zinc finger motif. *Arch Virol* 144:345-353, 1999.
81. Patton JT, Gallegos CO. Rotavirus RNA replication: single-stranded RNA extends from the replicase particle. *J Gen Virol* 71:1087-1094, 1990.
82. Patton JT, Chen D. RNA-binding and capping activities of proteins in rotavirus open cores. *J Virol* 3:1382-1391, 1999.
83. Pereira HG, Linhares AC, Candeias JAN, Glass RI. National laboratory surveillance of viral agents of gastroenteritis in Brazil. *Bull Pan Am Health Organ* 27:224-233, 1993.
84. Rodriguez WJ, Kim HW, Arrobio JO, Brandt CD, Chanock RM, Kapikian AZ, Wyatt RG, Parrott RH. Clinical features of acute gastroenteritis associated with human reovirus-like agent in infants and young children. *J Pediatr* 91:188-193, 1977.
85. Ruuska T, Vesikari T. A prospective study of acute diarrhoea in Finnish children from birth to 2 ½ years of age. *Acta Paediatr Scand* 80:500-507, 1991.
86. Santosham M, Moulton LH, Reid R, Croll J, Weatherholt R, Ward R, Forro J, Zito E, Mack M, Breneman G, Davidson BL. Efficacy and safety of high-dose rhesus-human reassortant rotavirus vaccine in native American populations. *J Pediatr* 131:632-638, 1997.
87. Simonsen L, Morens D, Elixhauser A, Gerber M, van Raden M, Blackwelder W. Effect of rotavirus vaccination programme on trends in admission of infants to hospital for intussusception. *Lancet* 358:1224-1229, 2001.
88. Staat MA, Azimi PH, Berke T, Roberts N, Bernstein DI, Ward RL, Pickering LK, Matson DO. Clinical presentations of rotavirus infection among hospitalized children. *Pediatr Infect Dis J* 21:221-227, 2002.
89. Steele AD, Bos P, Alexander JJ. Clinical features of acute infantile gastroenteritis associated with human rotavirus subgroups I and II. *J Clin Microbiol* 26:2647-2649, 1988.
90. Stewien KE, da Cunha LC, Alvim AC, Reis-Filho SA, Alvim MA, Brandão AA, Neiva MN. Rotavirus associated diarrhea during infancy in the city of S Luis (MA), Brazil: a two-year longitudinal study. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 33:459-464, 1991.
91. Tiemessen CT, Wegerhoff FO, Erasmus MJ, Kidd AH. Infection by enteric adenoviruses rotaviruses and other agents in a rural African environment. *J Med Virol* 28:176-182, 1989.

92. Timenetsky MCST, Gouvea V, Santos N, Alge ME, Kisiellius JJ, Carmona RCC. Outbreak of severe gastroenteritis in adults and children associated with type G2 rotavirus. *J Diarrhoeal Dis Res* 14:71-74, 1996.
93. Toporovski MS, Toporovski J. Diarrea aguda por rotavirus – estudio de 109 casos. *Pediatrics* 9:22-26, 1987.
94. Uhnou I, Olding-Stenkvis E, Kreuger A. Clinical features of acute gastroenteritis associated with rotavirus enteric adenovirus and bacteria. *Arch Dis Child* 61:732-738, 1986.
95. Unicomb LE, Kilgore PE, Faruque ASG, Hamadani JD, Fuchs GJ, Albert MJ, Glass R. Anticipating rotavirus vaccines: hospital-based surveillance for rotavirus diarrhea and estimates of disease burden in Bangladesh. *Pediatr Infect Dis J* 16:947-951, 1997.
96. van Regenmortel MHV, Fauquet CM, Bishop DHL, Carstens EB, Estes MK, Lemon SM, Maniloff J, Mayo MA, McGeoch DJ, Pringle CR. Family Reoviridae. *Virus taxonomy Classification and nomenclature of viruses seventh report of the international committee on taxonomy of viruses*. San Diego: Academic Press 2000. p.395-433.
97. Velázquez FR, Matson DO, Calva JJ, Guerrero L, Morrow AL, Carter-Campbell S, Glass RI, Estes MK, Pickering LK, Ruiz-Palacios GM. Rotavirus infection in infants as protection against subsequent infections. *New Engl J Med* 335:1022-1028, 1996.
98. Velázquez FR, Matson DO, Guerrero ML, Shults J, Calva JJ, Morrow AL, Glass RI, Pickering LK, Ruiz-Palacios GM. Serum antibody as a marker of protection against natural rotavirus infection and disease. *J Infect Dis* 182:1602-1609, 2000.
99. Vende P, Piron M, Castagné N, Poncet D. Efficient translation of rotavirus mRNA requires simultaneous interaction of NSP3 with the eukariotic translation initiation factor eIF4G and the mRNA 3' end. *J Virol* 74:7064-7071, 2000.
100. Vesikari T, Sarkkinen HK, Maki M. Quantitative aspects of rotavirus excretion in childhood. *Acta Paediatr Scand* 70:717-721, 1981.
101. Vesikari T, Isolauri E, Delem A, D'Hondt E, André FE, Beards GM, Flewett TH. Clinical efficacy of the RIT 4237 live attenuated bovine rotavirus vaccine in infants vaccinated before a rotavirus epidemic. *J Pediatr* 107:189-194, 1985.
102. Ward RL, Bernstein DI, Young EC, Sherwood JR, Knowlton DR, Schiff GM. Human rotavirus studies in volunteers: determination of infectious dose and serological response to infection. *J Infect Dis* 154:871-880, 1986.
103. Zárate S, Espinosa R, Romero P, Méndez E, Arias CF, López S. The VP5 domain of VP4 can mediate attachment of rotaviruses to cells. *J Virol* 74:593-599, 2000.