



## Flutuação temporal dos genótipos de rotavírus na Região Centro de Portugal: 2006-2007

Fernanda Rodrigues, Manuela Costa Alves, Manuela Sousa, Luís Januário, Luís Lemos

Serviço de Urgência. Hospital Pediátrico de Coimbra

### Resumo

**Introdução.** O rotavírus (RV) é o agente causal predominante das gastroenterites agudas (GEA) em idade pediátrica. No período epidémico da infecção por RV de 2006, efectuámos no Serviço de Urgência (SU) um estudo etiológico das GEA não hospitalizadas. Identificou-se RV em 45% dos casos. Isolou-se o genótipo G9[P8] em 90% dos casos, G1[P8] em 4,3% e G3[P8] em 3,8%. Nalguns países foram descritas significativas variações dos genótipos em anos sucessivos.

**Objectivo.** Analisar a proporção de GEA por RV e os correspondentes genótipos e avaliar se houve modificação dos mesmos relativamente ao período epidémico do ano anterior.

**Material e métodos.** Estudo prospectivo, que decorreu de Janeiro a Junho de 2007. Foram incluídas crianças com menos de 3 anos de idade observadas no SU por GEA e que não foram hospitalizadas. Nas amostras positivas para RV foi efectuada genotipagem. Foram comparados estes resultados com os do período epidémico do ano anterior.

**Resultados.** Nos 6 meses do estudo foram observadas 641 crianças com GEA. Foi pesquisado RV em 467 amostras (73%) e foram identificados 170 casos positivos (36,4%). A identificação de RV predominou nos meses de Fevereiro, Março e Abril (47, 46 e 60% dos casos testados, respectivamente). Estavam disponíveis para genotipagem 160 amostras. Em 36,6% casos foi identificado o serotipo G9, em 28% o G1, em 24,6% o G2, em 8% o G3 e em 2 casos o G4. A conjugação com o P8 foi largamente predominante, excepto para o G2 que aparece maioritariamente associado ao P4.

**Conclusões.** O RV foi um agente causal importante nas GEA observadas no período do estudo. O genótipo G9[P8] foi o predominante, mas com uma proporção muito mais baixa do que no ano anterior, assistindo-se a uma subida importante do G1[P8] e ao aparecimento do G2[P4]. Este estudo confirma que vários tipos G e P podem co-circular e que os tipos predominantes numa região podem mostrar flutuações anuais importantes.

**Palavras-Chave:** Rotavírus, genótipos, flutuação temporal.

*Acta Pediatr Port* 2008;39(3):93-6

### Temporal fluctuation of rotavirus genotypes in the Central Region of Portugal: 2006-2007

#### Abstract

**Introduction.** Rotavirus (RV) is the major cause of acute gastroenteritis (AGE) in children. During the RV epidemic season in 2006 we conducted a study about the aetiology of AGE at the Emergency Service. RV was identified in 45% of the cases. Genotype G9[P8] was isolated in 90% of the cases, G1[P8] in 4,3% and G3[P8] in 3,8%. In some countries, it was described a significant variation in genotypes in consecutive years.

**Aim.** To analyse the proportion of RV AGE, the genotypes circulating, and compare it with the results from the previous RV epidemic season.

**Material and methods.** Prospective study between January and June 2007. Children observed at the Emergency Service with the diagnosis of AGE and not admitted to the wards were included. In the positive samples for RV, genotyping was performed. Results were compared with the ones obtained in the previous epidemic season.

**Results.** During 6 months, a total of 641 children with AGE were observed. A stool sample was collected and a rapid diagnostic test was performed in 467 (73%) and 170 (36,4%) were positive. The identification of RV was predominant in February, March and April (47, 46 and 60% of the tested samples, respectively). Genotyping was performed in 160 available samples and G9 was found in 36,6% cases, G1 in 28%, G2 in 24,6%, G3 in 8% and G4 in 2 cases. The association with P8 was largely predominant apart from G2 that appeared associated mainly with P4.

**Conclusions.** RV was a major cause of AGE during the study period. G9[P8] was the predominant genotype however with a much lower proportion than in the previous year. There was an important increase of G1[P8] and the emergence of G2[P4]. Our results confirm that different RVs co-circulate in the same geographic region and there is seasonal variation in the strain distribution.

**Key-words:** Rotavirus, genotype, temporal fluctuation.

*Acta Pediatr Port* 2008;39(3):93-6

**Recebido:** 09.08.2007

**Aceite:** 04.06.2008

**Conflito de interesses:** Os autores declaram ausência de conflito de interesses.

#### Correspondência:

Fernanda Rodrigues  
Serviço de Urgência  
Hospital Pediátrico de Coimbra  
Av Bissaya Barreto  
3000-075 Coimbra  
frodrigues@hpc.chc.min-saude.pt

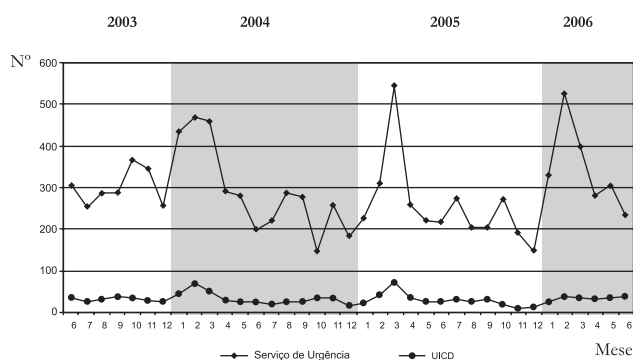
## Introdução

A gastroenterite aguda (GEA) é uma patologia muito frequente nos primeiros anos de vida, tanto em países industrializados como em vias de desenvolvimento e é, ainda, uma importante causa de mortalidade, sobretudo nos últimos países. O rotavírus (RV) é o agente causal predominante<sup>1-10</sup>.

A maior parte dos casos de GEA que ocorrem nos países desenvolvidos não necessitam de hospitalização, mas o impacto desta patologia na saúde pública é muito significativo<sup>4-10</sup>.

Nos países de clima temperado, as GEA devidas ao RV predominam no Inverno e Primavera<sup>4,5</sup>.

Durante os últimos 20 anos, a GEA tem sido um dos diagnósticos mais frequentemente registado no nosso Serviço de Urgência (SU) (dados não publicados). O número médio de crianças com GEA, observadas de 2003 a 2006, foi de 3.694/ano, com um pico entre Janeiro e Março (Figura 1, dados não publicados).



**Figura 1** – Distribuição mensal dos casos de gastroenterite aguda observados no Serviço de Urgência e internados na Unidade de Internamento de Curta Duração (UICD) : 2003-2006.

Na Europa, em 2006, foram aprovadas duas vacinas contra o RV. Apesar do nível de conhecimento já adquirido, são necessários estudos específicos em cada país, para melhor compreensão do impacto causado pela infecção por RV e para a implementação de estratégias vacinais. Os dados nacionais sobre a incidência desta patologia são escassos e há poucos dados sobre os genótipos em circulação. Esta informação é importante, não só para avaliar a eficácia das vacinas contra o RV, como também para monitorizar a possível emergência e disseminação de genótipos não incluídos nestas.

De Fevereiro a Junho de 2006 efectuámos no SU um estudo prospectivo que teve como objectivo avaliar o impacto das GEA por RV em crianças não hospitalizadas e analisar os genótipos que mais frequentemente circulavam, durante o período sazonal epidémico de infecção, antes da introdução das vacinas contra o RV. Do conjunto de 642 casos observados, 475 foram testados para RV e 216 (45%) foram positivos. A proporção máxima verificou-se em Fevereiro (54% dos casos de GEA) e Março (60%). A genotipagem realizada em 174 casos revelou G9P8 em 156 (90%), G1P8 em 8 (4,6%), G3P8 em 7 (4%), G12P8, G3+9P8 e G1+9P8 em 1 cada<sup>11</sup>. Uma análise dos primeiros 100 casos incluídos no estudo revelou que, 57 crianças frequentavam infantário e em 73 casos

havia, concomitantemente, outro familiar ou outras crianças no infantário com GEA. Durante o período da vigilância da evolução, 33 crianças necessitaram de recorrer a cuidados complementares de saúde. Cinquenta pais tiveram que faltar ao trabalho: 30 faltaram 1-3 dias, 12 faltaram 4-7 dias e 8 faltaram 8-10 dias, com uma média geral de 3,7 dias (1-10 dias). A duração média da diarreia foi de 6 dias (1-18 dias) (dados não publicados). Estes dados confirmam que, também entre nós, esta patologia tem custos médicos e sociais importantes.

Na Europa estão descritas importantes variações de genótipos em anos sucessivos<sup>4,5</sup>.

Foi objectivo do presente estudo analisar a proporção de GEA por RV e os correspondentes genótipos em 2007 e avaliar se houve modificação dos mesmos relativamente ao período epidémico do ano anterior.

## Material e métodos

Estudo prospectivo que incluiu crianças observadas no SU por GEA. Foram excluídas as crianças admitidas na Unidade de Internamento de Curta Duração ou nas enfermarias. Nas amostras positivas para RV foi efectuada genotipagem. Manteve-se a metodologia utilizada no estudo anterior, que tinha decorrido de Fevereiro a Junho de 2006<sup>11</sup>.

**Período do estudo:** Janeiro a Junho de 2007.

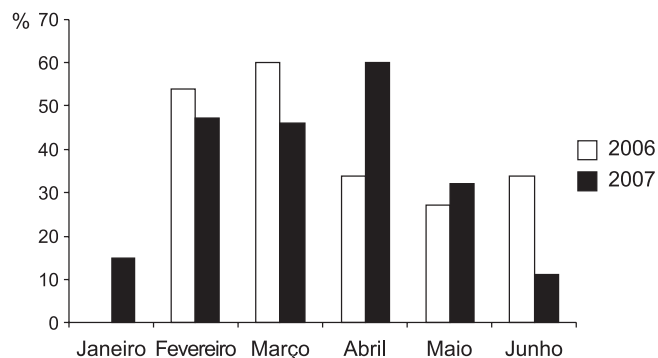
**Definição de caso:** Crianças com menos de 3 anos, observadas no SU, com GEA, definida como emissão de três ou mais dejeções líquidas ou de consistência mole não habitual, acompanhada ou não de vômitos, durante um período de 24 horas, com duração inferior a 7 dias e precedida por um período de 14 dias sem sintomas.

Não foram incluídas no estudo crianças com patologia gastrointestinal crónica ou com imunodeficiência.

**Recolha de fezes e pesquisa vírica:** Durante a estadia no SU foi colhida uma amostra de fezes. Quando esta colheita não foi possível, solicitou-se aos pais ou acompanhantes que trouxessem uma amostra de fezes ao SU, no prazo de 24 horas. As amostras foram testadas para RV, através de um teste rápido, baseado em técnica de imunocromatografia (VIKIA®, Biomerieux, França). Nas amostras positivas foi efectuada genotipagem (Vírus Reference Department, Health Protection Agency, London).

## Resultados

Nos 6 meses do estudo foram observadas 641 crianças com GEA. Foi efectuada pesquisa de RV com o teste rápido em 467 amostras (73%) e foram identificados 170 casos positivos (36,4%), com predomínio nos meses de Fevereiro (28/59 testados, 47%), Março (52/113, 46%) e Abril (49/82, 60%) (Figura 2). Estavam disponíveis para genotipagem 160 amostras (nas restantes a quantidade da amostra foi insuficiente). Em 10 casos (6,2%) a identificação do RV foi negativa por *polimerase chain reaction*, indicando tratar-se de falsos positivos do teste rápido, valores estes semelhantes ao esperado

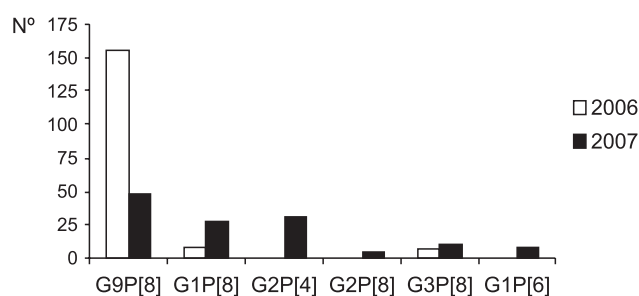


**Figura 2** – Proportão de gastroenterites agudas por rotavírus em 2006 (Fevereiro a Junho) e 2007 (Janeiro a Junho).

para os testes rápidos de detecção de antígenos comercializados (Gray e Iturriza-Gómara, dados não publicados). Cento e quarenta e quatro casos foram completamente caracterizados na genotipagem e seis apenas parcialmente genotipados. Foi identificado o genótipo G9P8 em 49 casos (49/150, 32,6%), o G2P4 em 32 casos (32/150, 21,3%), o G1P8 em 27 (27/150, 18%) e o G3P8 em 10 casos (10/150, 6,6%). A distribuição de todos os genótipos identificados encontra-se no Quadro I. A comparação entre os períodos epidémicos de 2006 e 2007, relativamente aos genótipos mais frequentes, está apresentada na Figura 3.

**Quadro I** – Distribuição dos genótipos de rotavírus em 2007.

Genótipos	G9P[8]	G2P[4]	G1P[8]	G3P[8]	G1P[6]	G2P[8]	G1P[4]
Número	49	32	27	10	8	5	4
Genótipos	G9P[4]	G9P[6]	G1+G3P[8]	G4P[8]	G1+G9P[6]	G4+G9P[6]	
Número	2	2	2	1	1	1	



**Figura 3** – Distribuição dos genótipos de rotavírus mais frequentes em 2006 e 2007.

### Discussão

À semelhança da literatura internacional e dos nossos resultados anteriores, o RV foi uma causa frequente de GEA em crianças não hospitalizadas, tendo sido identificado em 36% dos casos no período do estudo.

Como foi possível objectivar anteriormente por outros autores e por nós, as GEA, nas crianças de baixa idade, têm um impacto diversificado nas famílias e na sociedade, incluindo despesas médicas, perda de produtividade, outros custos para

os acompanhantes e desconforto e sofrimento causados às crianças e famílias<sup>2</sup>.

É conhecido que vários tipos de RV circulam simultaneamente e a proporção relativa pode variar de ano para ano<sup>5,12</sup>. A nível mundial, quatro genótipos (G1P8, G3P8, G4P8, G2P4) correspondem a >90% das estirpes globalmente identificadas, sendo o G9 uma estirpe emergente já descrita em vários países<sup>5,6</sup>. Foi inicialmente detectado em Filadélfia durante 1983-1984 em 9,2% das crianças com infecção por RV, não foi detectado durante cerca de uma década, e re-emergiu, sendo responsável por 50% dos casos de doença diarreica, em 1995-1996<sup>8</sup>.

Também entre nós, os tipos G1-G4 e G9 estiveram associados à maioria das infecções por RV com predomínio dos serotipos G1, G2 e G9. Os resultados de 2006 revelaram uma percentagem de isolamento do serotipo G9 muito mais elevada do que previamente descrito<sup>11</sup>. Especulou-se que este serotipo tinha sido introduzido recentemente na nossa região, mas esta hipótese não pôde ser provada, por falta de dados anteriores<sup>11</sup>. Em 2007, o genótipo G9P8 foi o predominante, mas com uma proporção muito mais baixa do que no ano anterior, passando de 90% para 32,6%, tendo-se assistido a uma subida importante do genótipo G1P8 (de 1% para 18%) e ao aparecimento do G2P4 (21,3%) não detectado no estudo anterior.

Encontrámos também combinações pouco frequentes, tais como G1P4 (4 casos) e G2P8 (6 casos).

Estudos prévios demonstram a eficácia das actuais vacinas contra os serotipos predominantes nesta região<sup>13,14</sup>.

### Conclusões

O RV foi o agente causal predominante nas GEA observadas no período epidémico de 2007, tal como tinha acontecido em 2006. O genótipo G9P8 foi identificado na maioria dos casos, mas numa proporção muito inferior à do ano anterior. O G2P4, indetectável em 2006, passou a ocupar o segundo lugar, confirmando-se que os tipos predominantes numa região podem mostrar flutuações anuais importantes.

As actuais vacinas são eficazes para os genótipos identificados.

O conhecimento da variabilidade da distribuição de genótipos nos diversos países e em diferentes períodos epidémicos, reforça a necessidade da monitorização futura, fundamental para a implementação de estratégias vacinais, avaliação da efectividade da vacina e vigilância da emergência de novos genótipos diferentes dos incluídos nas vacinas.

### Agradecimentos

Miren Iturriza-Gómara e Jim Gray - Vírus Reference Department, Health Protection Agency, London; Enfermeiras do Serviço de Urgência do Hospital Pediátrico; Serviço de Bioquímica do Hospital Pediátrico; Sanofi Pasteur MSD.

### Referências

1. Parashar UD, Hummelman EG, Bresee JS, Miller MA, Glass RI. Global Illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis* 2003;9:565-72.
2. Rheingans R, Heylen J, Gianquinto C. Economics of rotavirus gastroenteritis and vaccination in Europe – What makes sense? *Pediatr Infect Dis J* 2006;25:S48-55.
3. Lepage P. Rotavirus Infection in Europe – Time for effective prevention? *Pediatr Infect Dis J* 2006;25:S5-6.
4. Soriano-Gabarró M, Mrukowicz J, Vesikari T, Verstraeten T. Burden of rotavirus disease in European Union countries. *Pediatr Infect Dis J* 2006;25:S7-11.
5. Santos N, Hoshino Y. Global distribution of rotavirus serotypes/genotypes and its implication for the development and implementation of an effective rotavirus vaccine. *Rev Med Virol* 2005;15:29-56.
6. Dennehy P. Rotavirus vaccines: an update. *Curr Opin Pediatr* 2005; 17:88-92.
7. Clark HF, Hoshimno Y, Bell LM, Groff J, Hess G, Bachman P et al. Rotavirus isolates WI61 representing a new human serotype. *J Clin Microbiol* 1987;25:1757-62.
8. Clark HF, Lawley DA, Schaffer A, Patacsil JM, Marcello AE, Glass RI et al. Assessment of the epidemic potential of a new strain of rotavirus associated with the novel G9 serotype which caused an outbreak in the United States for the first time in the 1995-1996 season. *J Clin Microbiol* 2004;42:1434-8.
9. Masendyez P, Bogdanovic-Sakran N, Kirkwood C, Bishop R, Barnes G. Report of the Australian Rotavirus Surveillance Program, 2000/2001. *Commun Dis Intell* 2001;25:143-6.
10. Masendyez P, Bogdanovic-Sakran N, Palombo E, Bishop R, Barnes G. Annual report of the rotavirus surveillance program, 1999/2000. *Commun Dis Intell* 2000;24:195-8.
11. Rodrigues F, Iturriza M, Gray J, Januário L, Lemos L. Epidemiology of rotavirus in Portugal: G9 as a major cause of diarrhoea in non-hospitalised children. *J Clin Virol* 2007;40:214-7.
12. Desselberger U, Wolleswinkel-van den Bosch J, Mrukowicz J, Rodrigo C, Gianquinto C, Vesikari T. Rotavirus types in Europe and their significance for vaccination. *Pediatr Infect Dis J* 2006;25:S30-S41.
13. Vesikari T, Matson DO, Dennehy P, Van Damme P, Santosham SC, Rodriguez Z et al. Safety and efficacy of a pentavalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine. *N Engl J Med* 2006;354:23-33.
14. Ruiz-Palacios GM, Pérez-Schael I, Velázquez FR, Brener T, Clemens SC, Chevart B et al. Safety and efficacy of an attenuated vaccine against severe rotavirus gastroenteritis. *N Engl J Med* 2006;354: 11-22.