

ROTAVIROSE SUÍNA: TÓPICOS SOBRE A ETIOLOGIA, INFECÇÃO E CONTROLE

AMAURI ALCINDO ALFIERI¹
ALICE FERNANDES ALFIERI¹
EDSEL ALVES BEUTTEMMÜLLER²

ALFIERI, A.A.; ALFIERI, A.F.; BEUTTEMMÜLLER, E.A.: Rotavirose suína: tópicos sobre a etiologia, infecção e controle. *Semina: Ci. Agr., Londrina*, v.20, n.1, p. 90-97, mar. 1999.

RESUMO: Em todo o mundo as infecções por rotavírus constituem-se na mais importante virose entérica dos leitões. Esta revisão tem por objetivo apresentar tópicos relativos ao agente etiológico, à doença clínica e aos métodos de diagnóstico, controle e profilaxia da infecção.

PALAVRAS-CHAVE: rotavírus, suíno, diarreia.

1. ETIOLOGIA

Rotavírus

O rotavírus (RV) destaca-se mundialmente como sendo um dos agentes etiológicos mais freqüentes em infecções entéricas de neonatos de várias espécies de mamíferos e aves, sendo os suínos uma das espécies mais afetadas (Rodger et al., 1977).

O RV é um gênero da família *Reoviridae* que possui morfologia esférica, com bordas externas lisas e bem definidas. A nomenclatura atual, derivada da palavra latina *rota* que significa roda, foi proposta por Flewett et al. (1974) devido ao aspecto da partícula viral quando observada à microscopia eletrônica.

O virion, com aproximadamente 75 nm de diâmetro, apresenta simetria icosaédrica e ausência de envelope glicolipoprotéico. O capsídeo viral é constituído de três camadas concêntricas de proteínas e o genoma composto por 11 segmentos de RNA fita dupla (RNA fd). Cada segmento genômico codifica uma proteína viral distinta, com exceção dos segmentos 7, 8 ou 9 que, dependendo da amostra viral, codifica uma proteína (VP7) do capsídeo externo (Matthews, 1979; Pedley et al., 1983).

Os segmentos genômicos do RNA fd são numerados de 1 a 11, de acordo com a ordem de migração de cada um em eletroforese em gel de poliacrilamida (EGPA). O segmento 1, de maior peso molecular (PM), apresenta menor migração e o segmento 11, de menor PM, apresenta maior migração. Após a técnica de EGPA, a análise do perfil de migração do RNA fd, também denominado padrão genômico ou

eletroferotipo, tem sido utilizada para caracterizar amostras de RV isoladas de surtos, bem como para caracterizar o eletroferotipo presente em uma região em determinado período de tempo (Pedley et al., 1983).

A análise genômica de amostras "típicas" de rotavírus, comparada com perfis considerados "atípicos" em EGPA, auxiliaram na caracterização de diferenças entre grupos de rotavírus. Os rotavírus considerados "típicos", mais freqüentes nas infecções em mamíferos, foram designados como eletroferogrupo A, enquanto que vírus com perfil de migração eletroforética dos 11 segmentos genômicos diferente dos padrões usuais foram inicialmente considerados como "atípicos" e classificados nos eletroferogrupos B, C, D, E, F e G (Desselberger, 1989; Estes & Cohen, 1989).

Cada um dos grupos de RV (A a G) apresenta um padrão de migração específico, contudo, migrações eletroforéticas diferentes podem ocorrer devido a rearranjos genômicos. Alguns grupos de RV podem apresentar eletroferotipos semelhantes e características antigênicas distintas. Com isto, o eletroferotipo não deve ser o único critério utilizado para a classificação dos RV em grupos. Porém, este tipo de classificação genômica é de fundamental importância em estudos que se correlacionam à epidemiologia molecular das infecções tanto em humanos quanto em animais (Desselberger & McCrae, 1994).

O padrão genômico básico para o RV grupo A compreende classes ou regiões de distintos PM contendo os diferentes segmentos de RNA fd: segmentos 1 a 4 (classe I), 5 e 6 (classe II), 7, 8 e 9 (classe III) e os segmentos 10 e 11 (classe IV). Esta disposição, também representada como 4 - 2 - 3 - 2,

¹ Laboratório de Virologia Animal, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP), Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina (UEL) e-mail alfieri@uel.br.

² Médico Veterinário, aluno do Programa de Pós-graduação em Sanidade Animal, DMVP/UEL.

indica o número de segmentos genômicos de RNA fd encontrado em cada uma das quatro classes do perfil eletroforético dos RV grupo A (Lourenço et al., 1981; Saif & Theil, 1985).

Amostras atípicas, ou com padrões distintos do RV grupo A, podem incluir tanto RV gp A com rearranjo genômico quanto amostras pertencentes a outros grupos (B a G). Uma importante característica dos RV pertencentes ao eletroferogruppo A é a migração dos segmentos 7, 8 e 9, que devido ao PM bastante aproximado, co-migram formando uma trinca ou "triplet". Em contrapartida, todos os RV atípicos, identificados até o momento, apresentam como importante marcador molecular a não formação do "triplet" destes mesmos segmentos genômicos (classe III) (Saif & Theil, 1985; Saif, 1990).

Os genes do RV codificam proteínas estruturais (VP), constituintes da partícula vírica, e proteínas não estruturais (NS), encontradas em células infectadas mas não na partícula madura. É consenso que o produto proteico de seis segmentos genômicos (VP1, VP2, VP3, VP4, VP6 e VP7) são proteínas presentes na partícula viral, enquanto que os outros segmentos codificam proteínas não estruturais (Estes & Cohen, 1989).

A camada interna, ou "core", do triplo capsídeo proteico do RV é formada pelo RNA genômico associado às proteínas VP1 e VP3, envoltos pela VP2 (Estes, 1996). A segunda camada, ou capsídeo intermediário, é formada exclusivamente pela proteína VP6, e corresponde a aproximadamente 60% da composição proteica do virion (Estes & Cohen, 1989). Essa proteína é altamente antigênica e imunogênica. Sua estrutura contém epítopos comuns a todos os RV dentro de um determinado grupo (A a G), sendo portanto considerada como proteína de grupo ou grupo-específica. A VP6 é a proteína mais utilizada nos testes sorológicos de diagnóstico sendo responsável pela classificação dos RV em sorogrupos (Kapikian et al, 1981). Portanto, todos os membros de cada sorogrupo, independentemente da espécie de origem, apresentam seu próprio antígeno de grupo em comum, distinto dos outros sorogrupos (Saif & Theil, 1985).

A VP6 dos RV grupo A apresenta epítopos diferenciados que caracterizam sorologicamente os vírus em subgrupos. Os testes imunoenzimáticos (Elisa) são capazes de distinguir três especificidades para subgrupo em amostras de RV grupo A denominadas I, II e III. As amostras que reagem sorologicamente tanto com o subgrupo I quanto com o II, ou então, que não reagem com ambos incluem o subgrupo III (Bachmann et al., 1984).

O capsídeo externo do RV é formado por duas proteínas. A base é constituída pela glicoproteína VP7 que, na dependência da amostra viral, é codificada pelo segmento genômico 7, 8 ou 9. A partir da VP7 são projetadas espículas formadas pela proteína VP4 (Prasad & Chiu, 1994). A VP7 é a glicoproteína em

maior concentração no capsídeo externo e corresponde ao principal sítio indutor de anticorpos neutralizantes conferindo proteção contra a infecção por RV. Por ser o principal antígeno indutor de anticorpos neutralizantes, e também por apresentar grande diversidade antigênica, os sorotipos de RV freqüentemente são definidos de acordo com a reatividade de VP7 frente a baterias de anticorpos monoclonais (Hoshino et al., 1985).

A VP4 é uma proteína não glicosilada, presente nas espículas dos RV, que é codificada pelo quarto segmento genômico (Anthony et al., 1991). As espículas estendem-se externamente à superfície do capsídeo, apresentam morfologia bastante complexa e consistem de uma cabeça bilobada conectada a um corpo triangular (Shaw et al., 1993). Apesar de representar a menor concentração dos componentes antigênicos do virion, a proteína VP4 é responsável por importantes funções como: i) atividade hemaglutinante; ii) aumento da infectividade do virion após clivagem proteica; iii) replicação "in vitro" e iv) formação de placas em cultivo celular. Na presença de enzimas proteolíticas a VP4 é clivada originando duas outras proteínas, VP5 e VP8 sendo este processo associado à ativação do vírus e ao aumento da infectividade viral (Estes et al., 1981). A proteína íntegra é mais estável que seus produtos clivados, entretanto não é infecciosa (Ludert et al., 1996). Por ser um antígeno indutor de anticorpos neutralizantes que apresenta variabilidade antigênica, a caracterização do polipeptídeo VP4, ou do segmento genômico que o codifica, também é utilizada para sorotipagem e genotipagem das amostras de RV (Gentsch et al., 1992).

Durante a replicação viral os genes codificadores dos polipeptídeos VP4 e VP7 segregam independentemente um do outro. Esta característica faz com que os RV apresentem dupla especificidade para sorotipos, que é representada por VP4 e VP7 que são proteínas codificadas por diferentes segmentos genômicos. Com isto, a completa classificação sorológica dos RV exige um duplo sistema de sorotipagem, também denominado sistema binário, que identifique tanto as características antigênicas de VP4 quanto de VP7 (Estes & Cohen, 1989). A especificidade antigênica para a glicoproteína VP7 é denominada de sorotipo G enquanto que para VP4, por ser protease sensível, é designada de sorotipo P (Estes & Cohen, 1989).

A diversidade de G e P sorotipos, encontrada em amostras de RV grupo A de diversas espécies de mamíferos e aves, é muito grande. Até o momento já foram definidos, através de provas sorológicas, 14 G e 10 P sorotipos. A determinação dos sorotipos G e P de amostras de RV grupo A, tanto de origem humana quanto animal, presentes em focos de diarreia é de grande importância epidemiológica e profilática, particularmente nas situações onde para o controle são utilizados métodos imunoprofiláticos (Hoshino & Kapikian, 1994; Estes & Cohen, 1989).

Rotavírus Suíno (RVS)

Desde meados da década de 70 o rotavírus suíno (RVS) vem sendo extensivamente estudado. Em 1975, Rodger et al. demonstraram por microscopia eletrônica, partículas semelhantes a reovírus em conteúdo intestinal de leitões com diarreia. Em 1976, Woode et al. isolaram RV a partir de fezes diarreicas de leitões. Desde então inúmeros trabalhos têm demonstrado a importância deste vírus em infecções entéricas em leitões.

O RVS apresenta as mesmas características estruturais dos RV isolados em outros mamíferos, inclusive no homem, e em espécies aviárias. Entretanto, são observadas algumas especificidades antigênicas e moleculares em amostras de origem suína.

Dos sete sorogrupos de RV, quatro (A, B, C e E) são encontrados em suínos, sendo o grupo A predominante (Pedley et al., 1986). Diferentemente de outras espécies animais, as infecções por RV atípicos pertencentes aos sorogrupos B e C são relativamente freqüentes em suínos e o sorogrupo E, que apresenta perfil eletroforético semelhante ao grupo B, até o momento, somente foi identificado nessa espécie animal (Saif, 1990).

Evidências sorológicas também demonstram o alto grau de infecção em suínos por RV atípicos, particularmente dos sorogrupos B e C. A grande maioria dos inquéritos soroepidemiológicos revelam taxas de soroconversão para estes sorogrupos próximas a 100% dos rebanhos e de 70 a 100% dos animais estudados (Saif & Jiang, 1994).

Uma grande variabilidade no perfil eletroforético é observada em amostras de RVS grupo A identificadas em várias partes do mundo. Com isto, recentemente inúmeros estudos têm sido realizados com o objetivo de determinar os sorotipos e genotipos G e P de RVS grupo A. Amostras de RVS pertencentes aos genotipos G 3, 4, 5 e 11 e P [6], [7], [13] e [19] são descritas na literatura em protótipos de RVS já caracterizados, confirmando a grande variabilidade antigênica e molecular deste vírus.

2. ROTAVIROSE SUÍNA

A partir da descrição de Roger et al. (1975) na Austrália, que identificaram partículas de RV em fezes diarreicas de suínos, um grande número de trabalhos em todo o mundo têm ratificado o envolvimento do RVS nos episódios de diarreia que ocorrem nos períodos do pré e do pós-desmame dos leitões.

Nos países onde a suinocultura é explorada de forma intensiva, o RVS é apontado como o mais importante agente etiológico viral das enterites em leitões. O caráter endêmico da rotavirose nesses países é evidenciado pela alta freqüência de animais e rebanhos sorologicamente positivos para RVS do grupo A, podendo alcançar 90% dos suínos adultos e 100% dos plantéis (Shaw et al., 1989).

A morbidade da rotavirose suína, para os grupos nas faixas etárias susceptíveis, é alta, podendo comprometer 50 a 80% dos animais, particularmente nas primo-infecções. A mortalidade é variável, oscilando entre 7 a 20% (Bohl, 1978). Nas situações de infecções mistas, causadas por RVS e outros enteropatógenos, as taxas de morbidade e mortalidade podem ser superiores.

A ocorrência de infecção por RVS parece estar relacionada com a umidade relativa do ar. Nos meses secos do ano, tanto em áreas tropicais quanto temperadas, a incidência da rotavirose suína é maior. Nessas condições, ocorre a formação de aerossóis que favorecem o transporte de partículas víricas através da poeira formada nas superfícies contaminadas por fezes, o que facilita a infecção dos animais susceptíveis. Variações de temperatura parecem não influenciar nas taxas de incidência (Utrera et al., 1984).

Uma grande concentração de partículas víricas (10^{10} a 10^{12} /grama de fezes), altamente resistentes às condições de meio ambiente e aos desinfetantes de uso rotineiro, é eliminada através das fezes durante o período agudo da infecção por RVS. Animais adultos podem ainda ser portadores assintomáticos do vírus. Em particular, fêmeas prenhez eliminam RVS através das fezes nos dias próximos ao parto. Essas características implicam em que os animais susceptíveis tenham no próprio ambiente uma fonte de infecção contínua. Como conseqüência, após a introdução do vírus em um rebanho, sua erradicação é extremamente difícil e, em condições de campo, praticamente impossível de ser realizada (Kurstak et al., 1981; Rubio et al., 1988; Bonaduce, 1990).

Quando a enfermidade torna-se enzoótica a morbidade, tanto entre leitões de uma mesma ninhada quanto do restante do rebanho, varia consideravelmente. Em certas ocasiões apenas algumas leitegadas apresentam animais com diarreia, em outras situações várias ninhadas estão comprometidas, aumentando assim a taxa de mortalidade que inicialmente é reduzida. Estas observações sugerem que fatores adicionais podem alterar a intensidade e duração da infecção (Woode & Crouch, 1978; Bohl, 1979).

Um grande número desses fatores têm sido proposto, incluindo-se entre eles, i) o título e virulência da amostra vírica; ii) a idade dos suínos por ocasião da infecção; iii) o perfil imunológico dos animais infectados; iv) a composição da dieta; v) fatores relacionados ao meio ambiente, instalações e ao manejo zootécnico-sanitário e vi) a intercorrência com outros agentes infecciosos, particularmente enteropatógenos.

A rotavirose suína caracteriza-se por comprometer animais jovens, especialmente aqueles com três a cinco semanas de vida. Como a grande maioria das matrizes possuem anticorpos anti-RVS, que são passivamente repassados aos leitões, animais com idade inferior a uma semana, e que foram alimentados com colostro, raramente desenvolvem a doença clínica (Bohl, 1979; Utrera et al., 1984; Shaw et al., 1989).

Em estudos realizados no Brasil, Alfieri (1989) demonstrou que as maiores freqüências de diagnóstico

de RVS em fezes diarréicas de leitões lactentes concentram-se na terceira e quarta semanas de idade. A partir da segunda semana de vida do leitão o título de anticorpos passivos, capazes de neutralizar o RV, declina naturalmente atingindo níveis críticos entre a terceira e quinta semana (Tzipori et al., 1981). Essa queda no título de anticorpos séricos coincide com os períodos de maior frequência de diagnóstico de RVS em fezes diarréicas de leitões. Outro pico de ocorrência é observado imediatamente após o desmame, quase sempre ao redor da quinta semana de idade, provavelmente desencadeado pela diminuição de resistência dos animais ocasionada pelo estresse do desmame (Alfieri et al., 1991).

Os sinais clínicos de uma enterite por RVS consistem basicamente em diarréia de curta duração, geralmente dois a três dias, de coloração variável, com predomínio de branca ou amarelada, e de consistência pastosa à líquida. A excreção fecal do vírus prolonga-se por sete a oito dias pós-infecção. A ocorrência de vômitos é rara e sinais de desidratação são observados com maior frequência em leitões muito jovens, nos quais a infecção tende a ser de maior gravidade. Nessa situação também evidenciam-se sinais de prostração e anorexia. Os animais infectados somente apresentam aumento de temperatura quando há intercorrência de infecções bacterianas secundárias. Particularmente nas reinfecções, esta virose pode apresentar-se de forma subclínica ou inaparente (Bohl, 1979).

Os sinais clínicos apresentados por leitões com rotavirose são de pouco valor no diagnóstico uma vez que enterites causadas por outros enteropatógenos como vírus (coronavírus, adenovírus), bactérias (*Escherichia coli* enteropatógena), protozoários (*Cryptosporidium* sp, *Isospora suis*) e parasitas ocasionam quadro clínico semelhante (Fitzgerald et al., 1988; Dea et al., 1985).

A associação de RVS com outros patógenos entéricos é comum e esta interação entre microrganismos determina, tanto em infecções de campo quanto em infecções experimentais, uma exacerbação na intensidade dos sinais clínicos. Nessas condições a diarréia, a desidratação, o período da fase diarréica e os índices de morbidade e mortalidade estão aumentados (Fitzgerald et al., 1988; Janke et al., 1988; Alfieri et al., 1994).

A porta de entrada do RVS é a via oral através da ingestão de água e alimentos contaminados. As partículas virais ingeridas alcançam a luz do intestino delgado, preferencialmente nos dois terços distais, onde penetram na membrana celular dos enterócitos maduros localizados na região apical das vilosidades intestinais. O antígeno viral é detectado principalmente no terço superior das vilosidades. O vírus multiplica-se nos enterócitos, produzindo lise e descamação celular, e é excretado nas fezes por até sete a oito dias pós-infecção. Os vírus liberados após a descamação irão infectar novos enterócitos. A reposição celular é feita por células cubóides, imaturas morfológica e fisiologicamente, provenientes das criptas intestinais

e menos susceptíveis à replicação viral. Indiretamente, os mediadores da reação inflamatória comprometem também as células das criptas sendo a motilidade intestinal inibida durante a maioria dos casos de diarréia. Quando o número de enterócitos perdidos excede o de reposição celular as vilosidades atrofiam-se, podendo fundir-se nos casos mais graves. Nessa situação, por deficiência da enzima lactase, ocorre falha na digestão da lactose e na absorção de água, sais minerais e vitaminas. Após um período de incubação médio de 8 a 48 horas aparecem os primeiros sinais de diarréia que, com a intensificação, é acompanhada de desidratação (Hall et al., 1993; Kaske, 1993; Snodgrass, 1995).

Embora diferentes graus de atrofia de vilosidades sejam observados em todos os leitões com diarréia submetidos a infecções experimentais, em alguns casos, o início da diarréia pode preceder o aparecimento de alteração na morfologia celular ou mesmo atrofia nas vilosidades. Em infecções experimentais por RV a diarréia pode ser observada mesmo antes da formação de alterações histopatológicas significativas (Theil et al., 1978). Provavelmente, este processo diarréico é induzido pela proteína não estrutural NSP4 (Ball et al., 1996).

As alterações citopatológicas ocasionadas pelo RV incluem a vacuolização, arredondamento, formação de agregados celulares e inclusões intracitoplasmáticas eosinofílicas, culminando com a morte e desprendimento celular. A regeneração do epitélio inicia-se entre o quinto e sétimo dia após o início da diarréia e, na maioria dos casos, 10 a 15 dias depois do término da enfermidade o aspecto das vilosidades intestinais é praticamente normal (Chauhan & Singh, 1992).

O sorotipo da amostra de RV infectante é um importante fator epidemiológico que deve ser avaliado nos casos de diarréia neonatal em leitões. Nas primoinfecções a imunidade passiva protetora deve ser homotípica, ou seja, a fêmea deve transferir aos leitões anticorpos específicos contra o sorotipo de RVS que está circulando na granja naquele momento. O surgimento de uma variante sorológica, ou mesmo de um sorotipo não circulante em um determinado rebanho, dependendo do grau de homologia proteica, pode ser responsável pelo desencadeamento de focos de diarréia em animais lactentes e mesmo em recém-desmamados.

O desenvolvimento da imunidade para o RV ainda não é bem compreendido, e nenhum modelo imunológico simples pode conclusivamente explicar a proteção contra a infecção ou a doença. A imunidade de mucosa, por intermédio da imunoglobulina do isotipo IgA secretora, desempenha uma importante função na proteção dos animais. Entretanto, os elevados títulos de anticorpos, identificados logo após a infecção, retornam rapidamente a valores críticos deixando de conferir a proteção desejada. Ainda não foi claramente definida a importância da imunidade humoral, modulada por anticorpos neutralizantes (IgG) específicos contra o RV, na proteção contra a infecção. Entretanto, a

imunidade celular parece ser importante pois, em camundongos infectados, células T-citotóxicas aparecem na superfície da mucosa intestinal após a infecção e estão associadas à proteção contra a doença clínica (Conner et al., 1994).

As perdas econômicas causadas pela rotavirose suína podem ser significativas e não limitam-se aos animais que vêm a óbito. Devem também ser considerados os prejuízos causados pela diminuição da conversão alimentar e do ganho de peso. Em condições comerciais, o atraso no crescimento dos leitões, que pode ser observado nas diversas fases da criação, pode apresentar repercussão na idade e no peso ao abate e é de ocorrência comum nas infecções pelo RVS. O aumento no consumo de ração, a eliminação de animais refugos, os custos com o tratamento e mão de obra adicional, além da predisposição dos animais a outras enfermidades, inclusive não entéricas, devido a queda de resistência orgânica, também devem ser considerados na análise global dos custos e prejuízos econômicos determinados pela rotavirose suína (Mebus, 1982; Giroto et al., 1988).

3. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Várias técnicas foram desenvolvidas para a detecção da partícula viral, antígenos e ácido nucleico dos RV nas fezes, bem como para demonstração de anticorpos no soro, no leite ou nas fezes de animais infectados. As metodologias variam quanto a sensibilidade, a especificidade, a facilidade de execução e, inclusive, no custo final do diagnóstico.

O primeiro método utilizado para a identificação do RV em fezes diarréicas de humanos e animais foi a microscopia eletrônica (Mebus, et al., 1969). Este método, embora eficiente, mostra-se inviável quando o diagnóstico envolve uma grande amostragem. A utilização de anticorpos, através da imunomicroscopia eletrônica, aumenta significativamente o limiar de detecção da técnica. A microscopia eletrônica é utilizada como prova final, quando outras metodologias apresentam resultados discrepantes. Outra vantagem desta técnica é a capacidade de detectar RV atípicos, que não possuem o antígeno (VP6) comum do sorogrupo A de RV.

O isolamento do vírus em cultivo celular não é utilizado na rotina de diagnóstico de RV. A técnica é laboriosa, demorada e necessita de laboratórios que dominem a metodologia de histoculturas. O desenvolvimento de linhagens celulares como MA 104 (Células renais de macaco Rhesus) e HT 29 (Células de tumor retal humano), e a utilização de enzimas, como a tripsina, para ativação do inóculo viral aumentaram significativamente a frequência de isolamento do vírus. Porém, mesmo não sendo utilizada como técnica de diagnóstico de rotina, o cultivo de RV é uma metodologia indispensável para estudos e pesquisas das características antigênicas e

moleculares de amostras de RV e para a produção de antígenos empregados no diagnóstico e na elaboração de vacinas (Sato et al., 1981; Cukor & Blacklow, 1984).

O genoma segmentado, característico dos RV, permitiu a adaptação da técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida (EGPA) para a identificação desse vírus. A análise do RNA fd através de EGPA tem sido intensamente utilizada na identificação de amostras virais em estudos epidemiológicos das infecções. A técnica de EGPA apresenta ainda particular importância nas infecções humanas e animais ocasionadas por RV atípicos, ou RV não pertencentes ao grupo A (Kalica et al., 1976). A indisponibilidade de reagentes sorológicos para detecção, e mesmo identificação de RV atípicos, tornaram a EGPA a técnica mais empregada para esta função, principalmente considerando o seu baixo custo quando comparada, por exemplo, com a microscopia eletrônica (Kalica et al., 1976).

Contudo, a eletroferotipagem dos RV através de EGPA, apesar de ser extremamente importante na definição de grupo ou eletroferogrupo, não possibilita a definição do sorotipo viral. Amostras víricas de um mesmo sorotipo podem apresentar perfis eletroforéticos diferentes, enquanto que amostras com perfis semelhantes podem pertencer a diferentes sorotipos (Beards, 1982). Com isso, com o objetivo de caracterização dos sorotipos de RV circulantes em uma população foram desenvolvidas técnicas de neutralização cruzada.

Para a detecção de antígenos virais foram padronizadas várias metodologias como fixação de complemento, imunofluorescência, radioimunoensaio, hemaglutinação e látex aglutinação. Porém, os testes imunoenzimáticos (ELISA) constituem um dos métodos mais difundidos no diagnóstico da rotavirose humana e animal devido ao seu limiar de detecção, facilidade de execução, baixo custo e rapidez dos resultados finais. Vários métodos de ELISA foram desenvolvidos experimentalmente e alguns são inclusive comercializados. Essa metodologia, apesar de altamente sensível, pode apresentar em algumas situações resultados falso-positivos ou falso-negativos (Jure et al., 1988).

Os testes de ELISA utilizam anticorpos policlonais ou monoclonais para a identificação de antígenos de grupo ou sub-grupo (VP6) e sorotipos (VP4 e VP7). Entretanto, devido à perda do antígeno VP4 durante a preparação ou estocagem do vírus, a especificidade para este antígeno é muito reduzida. Conseqüentemente, até o momento, não existe disponibilidade comercial de imunobiológicos para identificação do sorotipo P (VP4) de RV grupo A (Estes & Cohen, 1989).

Embora a definição primária de qualquer sorotipo deva basear-se em reações sorológicas, a análise parcial ou total da seqüência de nucleotídeos dos genes VP4 e VP7 tem revelado um alto grau de homologia com antígenos relacionados à sorotipagem entre RV grupo A do mesmo sorotipo (G e P) (Estes & Cohen,

1989). Com isto, métodos moleculares como a hibridização molecular e a amplificação gênica pela técnica da reação em cadeia pela polimerase, precedida de uma etapa de transcrição reversa (RT-PCR), foram desenvolvidos para tipagem ou genotipagem de RV. Devido à sua boa correlação com a especificidade antigênica, relacionada a sorotipos, a genotipagem passou a ser utilizada como uma técnica alternativa à sorotipagem. Considerando que o estudo das características antigênicas e moleculares dos RV é essencial para o estabelecimento de bases epidemiológicas e, conseqüentemente, imunoproláticas das rotavirose humana e animal, atualmente a metodologia de RT-PCR vem sendo extensivamente utilizada com esta finalidade (Alfieri, 1996; Alfieri et al., 1996; Leite et al., 1996).

4. CONTROLE E PROFILAXIA

Por meio de condutas de manejo sanitário é possível reduzir o índice e a intensidade das infecções, evitando assim perdas econômicas significativas devido à rotavirose suína. Para isto, algumas normas devem ser consideradas tais como: i) assistência ao parto e orientação dos leitões às primeiras mamadas; ii) criação de animais de mesma faixa etária, particularmente na creche; iii) regularidade de fluxo de partos na granja, com conseqüente uniformização da faixa etária; iv) limpeza e desinfecção rigorosas das instalações, com ênfase para maternidade e creche; v) utilização de produtos químicos, nos processos de desinfecção, com princípio ativo eficaz contra rotavírus; vi) adoção de vazios sanitários; e vii) manejo sanitário diferenciado para fêmeas primíparas e para as parições que ocorrem no meses secos do ano, onde a percentagem de umidade relativa do ar é baixa. Porém, apenas a adoção ou a intensificação de medidas de correção no manejo zootécnico-sanitário dos rebanhos não é capaz de reduzir o número de casos clínicos para índices não preocupantes no ponto de vista sanitário.

Como alternativa que deve ser melhor explorada no controle das rotavirose humanas e animais pode-se ainda citar o desenvolvimento de vacinas (Paul & Lyoo, 1993). Contudo, também no campo imunoprolático as rotavirose apresentam um complicador muito

importante para a elaboração de imunógenos que sejam capazes de induzir uma resposta imunológica plena e duradoura. As variabilidades antigênica e molecular dos RV, gerada pelo genoma constituído de RNA fd segmentado, e expressa nos vários grupos sorológicos (A-G), sorotipos e mesmo variantes de sorotipos circulantes, representam um grande desafio a ser vencido na busca de uma vacina eficiente, tanto para uso em humanos quanto em animais (Gentsch et al., 1996).

Outro agravante na imunoprolaxia das rotavirose é que vacinas monovalentes, testadas preliminarmente, não foram capazes de induzir imunidade heterotípica em crianças e em animais que não tenham sido previamente expostos aos RV. Para a obtenção de imunidade heterotípica, que proporcione proteção contra os principais sorotipos de RV circulantes, evidencia-se a necessidade da utilização de vacinas multivalentes (Hardy et al., 1991; Conner et al., 1994).

No mercado internacional, em particular nos Estados Unidos da América e em vários países europeus, há muitos anos existem vacinas para profilaxia da rotavirose suína. Com o objetivo de melhorar a qualidade do colostro em relação à concentração de imunoglobulinas específicas para RVS, as vacinas são administradas em fêmeas em estágio final de gestação.

A grande maioria das vacinas comerciais contém apenas uma amostra de RVS (protótipo OSU; genótipo G5 P[7]) inativado, que é apresentado de forma isolada (vacinas monovalentes) ou em associação com outros enteropatógenos víricos e bacterianos (vacinas polivalentes). Por induzirem imunidade homotípica estes imunógenos apresentam resultados apenas satisfatórios sob condições de campo. Porém, é reconhecido que mesmo não induzindo uma proteção plena as vacinas contra RVS contribuem com reduções na intensidade e no número de novos casos clínicos.

Esforços estão sendo realizados no sentido de desenvolver uma vacina que ofereça proteção heterotípica (Rosen et al., 1994). É evidente, contudo, que o prévio conhecimento dos sorotipos G e P de RV circulantes em uma região, bem como sua distribuição temporal e mesmo sazonal, são informações extremamente importantes para o sucesso de qualquer programa de vacinação (Conner et al., 1994).

ALFIERI, A.A.; ALFIERI, A.F.; BEUTTEMÜLLER, E.A. · Porcine rotaviruses: Etiology, infection and control topics. *Semina: Ci. Agr., Londrina*, v.20, n.1, p. 90-97, mar. 1999.

ABSTRACT: All over the world the rotavirus infections are the most important enteric viruses of the piglets. This revision has for objective to present topics relative to the etiological agent, clinical signals, methods of diagnosis, and control and prophylaxis of the infection.

KEY WORDS: rotavirus, porcine, diarrhea.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFIERI, A.A. *Contribuição ao estudo da rotavirose suína no Brasil: Prevalência, ensaio imunoenzimático e eletroferotipagem*. Belo Horizonte, 1989. 150p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais.
- ALFIERI, A.A. *Padronização de métodos para caracterização genotípica de rotavírus grupos A e C de origem humana e animal*. Rio de Janeiro, 1996. 351p. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) - Fundação Instituto Oswaldo Cruz.
- ALFIERI, A.A.; CONTE, L.E.; RESENDE, M.; ALFIERI, A.F. Evidências do envolvimento do rotavírus na diarreia do pré e pós desmame dos suínos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.43, p.291-300, 1991.
- ALFIERI, A.A.; ALFIERI, A.F.; FREITAS, J.C.; SILVA, C.A.; FREIRE, R.L.; BARROS, A.R.; BARREIROS, M.A.B.; MÜLLER, E.E. Ocorrência de *Escherichia coli*, rotavírus, picobirnavírus e *Cryptosporidium parvum* em um foco de diarreia do pós-desmame em suínos. *Semina: Ci. Agr.*, v.15, p.5-7, 1994.
- ALFIERI, A.A.; LEITE, J.P.G.; NAKAGOMI, O.; KAGA, E.; WOODS, P.A.; GLASS, R.I.; GENTSCH, J.R. Characterization of human rotavirus genotype P[8]G5 from Brazil by probe-hybridization and sequence. *Arch. Virol.*, v.141, p.2353-2364, 1996.
- ANTHONY, I.D.; BULLIVANT, S.; DAYAL, S.; BELLAMY, A.R.; BERRIMAN, J.A. Rotavirus spike structure and polypeptide composition. *J. Virol.* v.65, p.4334-4340, 1991.
- BACHMANN, P.A.; BISHOP, R.F.; FLEWETT, T.H.; KAPIKIAN, A.Z.; MATHAN, M.M.; ZISSIS, G. Nomenclature of human rotaviruses: designation of subgroups and serotypes. *Bull WHO*, v.62, p.501-503, 1984.
- BALL, J.M.; TIAN, P.; ZENG, C.Q.-Y.; MORRIS, A.P.; ESTES, M.K. Age-dependent diarrhea induced by a rotaviral nonstructural glycoprotein. *Science*, v.272, p.101-104, 1996.
- BEARDS, G.M. Polymorphism of genomic RNAs within rotavirus serotypes and subgroups. *Arch. Virol.*, v.7, p.465-470, 1982.
- BISHOP, R.F.; DAVIDSON, G.P.; HOLMES, I.H.; RUCK, B.J. Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute non-bacterial gastroenteritis. *Lancet*, v.2, p.1281-1283, 1973.
- BOHL, E.H.; KOHLER, E.M.; SAIF, L.J.; CROSS, R.F.; AGNES, A.G.; THEIL, K.W. Rotavirus as a cause of diarrhea in pigs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.172, p.458-463, 1978.
- BOHL, E.H. Rotaviral diarrhea in pigs: Brief Review. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.174, p.613-615, 1979.
- BONADUCE, L.M. Bovine diarrhea and a longitudinal survey on aetiology viruses agents. *Vet. Rec.*, v.23, p.45-49, 1990.
- CHAUHAN, R.S. & SINGH, N.P. Rapid diagnosis of rotavirus infection in calves by dot immunobinding assay. *Vet. Rec.*, v.130, p.381-389, 1992.
- CONNER, M.E.; MATSON, D.O.; ESTES, M.K. Rotavirus vaccines and vaccination potencial. In: Raming, R. F. (Ed), *Curr. Top. Microbiol. Immun.* (Rotaviruses), v.185, p.81-785, 1994.
- CUKOR, G.; BLACKLOW, N.R. Human viral gastroenteritis. *Microbiol. Rev.*, v.48, p.157-179, 1984.
- DEA, S.; VAILLANCOURT, Y.J.; ELAZHARY, Y.; MARTINEAU, G.P. An outbreak of diarrhea in piglets caused by a coronavirus antigenically distinct from transmissible gastroenteritis virus. *Can. Vet. J.*, v.26, p.108-111, 1985.
- DESSELBERGER, U. Molecular epidemiology of rotaviruses. In: FARTHING, M.J.G. (Ed.) *Viruses and the gut*. Swan, London, p.55-69, 1989.
- DESSELBERGER, U.; McCRAE, M.A. The rotavirus genome In: RAMIG, R.F. *Rotaviruses*. Berlin: Springer-Verlag, p.9-29, 1994.
- ESTES, M.K. Rotaviruses and their replication . In: FIELDS, B.N.; KNIPE D.M.; HOWLEI P.M. (Ed.). *Fields Virology* 3 ed., v.2. New York: Lippincott- Raven Press, 1996. p.1625-1655.
- ESTES, M.K.; COHEN, J. Rotavirus gene structure and function. *Microbiol. Rev.*, v.53, p.410-449, 1989.
- ESTES, M.K.; GRAHAM, D.Y.; MASON, B.B. Proteolytic enhancement of rotavirus infectivity: molecular mechanisms. *J. Virol.* v.39, p.879-878, 1981.
- FITZGERALD, G.R.; BARKER, T.; WELTER, M.W.; WELTER, C.J. Diarrhea in young pigs: Comparing the incidence of the five most common infections agent. *Vet. Med.*, v.83, p.80-86, 1988.
- FLEWETT, T.H.; BRYDEN, A.S.; DAVIES, H. Relation between viruses in acute gastroenteritis of children and newborn calves. *Lancet*, v.2, p.61-63, 1974.
- GENTSCH, J.R.; GLASS, R.I.; WOODS, P.; GOUVEA, V.; GORZIGLIA, M.; FLORES, J.; DAS, B.K.; BHAN, M.K. Identification of group A rotavirus gene 4 types by polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.*, v. 30, p. 1365-1373, 1992.
- GENTSCH, J.R.; WOODS, P.A.; RAMACHANDRAN, M.; DAS, B.K.; LEITE, J.P.G.; ALFIERI, A.A.; KUMAR, R.; BHAN, M.K.; GLASS, R.I. Review of G and P typing results from a global collection os rotavirus strains: Implications for vaccine development. *J. Infect. Dis.*, v.174 (suppl.), p.S30-S36, 1996.
- GIROTTO, A.F.; SOBESTIANSKY, J.; MORES, N.; MARQUES, J.L.L.; WENTZ, I. Custo de um surto de rotavirose em uma granja de suínos. In: CONGRESS INTERNATIONAL OF PIG VETERINARY SOCIETY, 10., 1988, Rio de Janeiro. *Anais*. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, 1988. p.218.
- HALL, G.A.; BRIDGER, J.C.; PARSONS, K.R.; COOK, R. Variation in rotavirus virulence: comparison of pathogenesis in calves between two rotaviruses of different virulence. *Vet. Pathol.*, v.30, p.223-233, 1993.
- HARDY, M.E.; WOODS, G.N.; XU, A.; GORZIGLIA, M. Comparative amino acid sequence analysis of VP4 for VP7 serotype 6 bovine rotavirus strains NCDV, B641, and UK. *J. Virol.*, v.65, p. 5535-5538, 1991.
- HOSHINO, Y.; SERENO, M.M.; MIDTHUN, K.; FLORES, J.; KAPIKIAN, A.Z.; CHANOCK, R.M. Independent segregation of two antigenic especificities (VP3 and VP7) involved in neutralization of rotavirus infectivity. *Proct. Natl. Acad. Sci. USA*, v.82, p. 8701-8704, 1985.
- HOSHINO, Y.; KAPIKIAN, A.Z. Rotavirus antigens . In: RAMIG, R. F (Ed.). *Curr. Top. Microbiol. Immun.* (Rotaviruses). v.185, p.179-227, 1994.
- JANKE, B.H.; MOREHOUSE, L.G.; SALORZANO, R.F. Single and mixed infections of neonatal pigs with rotaviruses and enteroviruses: Clinical signs and microscopic lesions. *Can. J. Vet. Res.*, v.52, p.364-369, 1988.
- JURE, M.N.; MORSE, S.S.; STARK, D.M. Identification of nonspecific reaction in laboratory rodent specimens tested by rotazyme rotavirus ELISA. *Lab. Anim. Sci.*, v.38, p.273-278, 1988.

- KALICA, A.R.; GARON, C.F.; WYATT, R.G.; MEBUS, C.A.; VAN KIRK, D.H.; CHANOCK, R.M.; KAPIKIAN, A.Z. Differentiation of human and calf reoviruslike agents with diarrhea using polyacrylamide gel electrophoresis of RNA. *Virology*, v.74, p.86-92, 1976.
- KAPIKIAN, A.Z.; CHANOCK, R.N. Rotaviruses. In: FIELDS, B.N.; KNIPE, D.M.; HOWLEY P.M. (Ed.). *Fields Virology*. 3. ed., v. 2. New York: Lippincott- Raven Press, 1996. v. 2, p.1657-1708.
- KAPIKIAN, A.Z.; CLINE, W.L.; GREENBERG, H.B.; WYATT, R.G.; KALICA, A.R.; BANKS, C.E.; JAMES, H.D.Jr.; FLORES, J.; CHANOCK, R.M. Antigenic characterization of human and animal rotaviruses by immuno adherence hemagglutination assay (IAHA): evidence for distinctness of IAHA and neutralization antigens. *Infect. Immun.*, v.33, p.415-425, 1981.
- KASKE, M. Physiological functions of the gastrointestinal tract and pathophysiological changes in newborn calves with diarrhea. *Deutsche Tierarzt. Wochenschrift*, v.100, p.434-439, 1993.
- KURSTAK, E.; KURSTAK, C.; HURK, J. van den.; MORISSET, R. Animal Rotaviruses. *Comparative diagnosis of viral diseases*. New York: Academic Press, 1981. V.4, part II, Cap.3.
- LEITE, J.P.G.; ALFIERI, A.A.; WOODS, P.A.; GLASS, R.I.; GENTSCH, J.R. Rotavirus G and P types circulating in Brazil: characterization by RT-PCR, probe hybridization, and sequence analysis. *Arch. Virol.*, v.141, p.2365-2374, 1996.
- LOURENÇO, M.H.; NICOLAS, J.C.; COHEN, J.; SCHERRER, R.; BRIOCUT, F. Study of human rotavirus genome by electrophoresis: Attempt of classification among strains isolated in France. *Ann. Inst. Pasteur Virol.*, v.132, p.161-173, 1981.
- LUDERT, J.E.; KRISHNANEY, A.A.; BURNS, J.W.; VO, P.T.; GREENBERG, H.B. Cleavage of rotavirus *in vivo*. *J. Gen. Virol.*, v.77, p.391-395, 1996.
- MATTHEWS, R.E.F. The classification and nomenclature of viruses. Summary of results of meetings of the International Committee on Taxonomy of viruses in Hague. *Intervirology*, v.11, p.133-135, 1979.
- MEBUS, C.A. Rotavirus and coronavirus diseases of animal in the Americas. In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL SOBRE O IMPACTO DE DOENÇAS VIRAIS NO DESENVOLVIMENTO DOS PAÍSES LATINO-AMERICANOS E DA REGIÃO DO CARIBE, 1982, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro: Fundação Instituto Oswaldo Cruz, 1982. v.1, p.185-189.
- MEBUS, C.A.; UNDERHALL, N.R.; RHODES, M.W.; TWIEHAUS, M.J. Calf diarrhea (scours): reproduced with a virus from field outbreak. *Neb. Agric. Exp. St. Bull.*, v.223, p.1-16, 1969.
- PAUL, P.S.; LYOO, Y.S. Immunogens of rotaviruses. *Vet. Microbiol.*, v.37, p.299-317, 1993.
- PEDLEY, S.; BRIDGER, J.C.; BROWN, J.F.; McCRAE, M.A. Molecular characterization of rotavirus with distinct group antigens. *J. Gen. Virol.*, v.64, p.2093-2101, 1983.
- PEDLEY, S.; BRIDGER, J.C.; CHASEY, D.; McCRAE, M.A. Definition of two new groups of atypical rotavirus. *J. Gen. Virol.*, v.67, p.131-137, 1986.
- PRASAD, B.V.V.; CHIU, W. Structure of rotavirus. In: RAMIG, R.F. (Ed). *Curr. Top. Microbiol. Immun.* (Rotaviruses). [S.l: s.n.], 1994. v.185, p.1-27.
- RODGER, S.M.; CRAVEN, J.A.; WILLIAMS, I. Demonstration of reovirus-like particles in intestinal contents of piglets with diarrhoea. *Aust. Vet. J.*, v.51, p.536, 1975.
- RODGER, S.M.; SCHUNGL, R.D.; HOLMES, I.H. Further biochemical characterization including the detection of surface glycoproteins of human, calf and simian rotaviruses. *J. Virol.*, v.24, p.91-98, 1977.
- ROSEN, B.I.; PARWANI, A.V.; LOPEZ, S.; FLORES, J.; SAIF, L.J. Serotypic differentiation of rotaviruses in field samples from diarrheic pigs using nucleic acids probes specific for porcine VP4 and human and porcine VP7 gene. *J. Clin. Microbiol.*, v.32, p.311-317, 1994.
- RUBIO, P.; ALVAREZ, M.; CARMENES, P. Relacion entre la eliminacion de rotavirus por cerdas madres y sus camadas em condiciones de exploracion convencionales. In: CONGRESS INTERNATIONAL OF PIG VETERINARY SOCIETY, 10., 1988, Rio de Janeiro, RJ. *Anais*. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, 1988. p.215.
- SAIF, L.J. Nongroup A rotaviruses. In: SAIF, L. J.; THEIL, K. W. (Ed.) *Viral diarrheas of man and animals*. Boca Raton: CRC Press, 1990. p.73-95.
- SAIF, L. J.; JIANG, B. Nongroup A rotaviruses of humans and animals. In: RAMING, R. F. (Ed.). *Curr. Top. Microbiol. Immun.*, (Rotaviruses), v.185, p.339-371, 1994.
- SAIF, L.J.; THEIL, K.W. Antigenically distinct rotaviruses of human and animal origin. In: TZIPORI, S. (Ed.). *Proc. Infectious diarrhea in the young: Strategies of control in human and animals*. Amsterdam: Elsevier Science, 1985. p.208-214.
- SATO, K.; INABA, Y.; SHINOZAKI, T.; FUJII, R.; MATUMOTO, M. Isolation of human rotavirus in cell culture: Brief Report. *Arch. Virol.*, v.69, p.155-160, 1981.
- SHAW, D.P.; MOREHOUSE, L.G.; SOLORZANO, R.F. Experimental rotavirus infection in three-week-old pigs. *Am. J. Vet. Res.*, v.50, p.1961-1965, 1989.
- SHAW, A.L.; ROTHNAGEL, R.; CHEN, D.; RAMIG, R.F.; CHIU, W.; PRASAD, B.V.V. Three-dimensional visualization of the rotavirus hemagglutination structure. *Cell*, v.74, p.693-701, 1993.
- SNODGRASS, D. R. Calf scour. The Moredum Foundation. *News Sheet*, v.2, p.2-6, 1995.
- THEIL, K.W.; BOHL, E.H.; SAIF, L.J. Techniques for rotaviral propagation. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.173, p.548-551, 1978.
- TZIPORI, S.; CHANDLER, D.; SMITH, M.; MAKIN, T.; HENNESSY, D. Factors contributing to post weaning diarrhea in a large intensive piggery. *Aust. Vet. J.*, v.6, p.274-278, 1981.
- UTRERA, V.; DE ILJA, R.M.; GORZIGLIA, M.; ESPARZA, J. Epidemiological aspects of porcine rotavirus infection in Venezuela. *Res. Vet. Sci.*, v.36, p.310-315, 1984.
- WOODE, G.N.; BRIDGER, J.; HALL, G.A. The isolation of reovirus-like agents (rotaviruses) from acute gastroenteritis of piglets. *J. Med. Microbiol.*, v.9, p.203-209, 1976.
- WOODE, G.N.; CROUCH, C.F. Naturally occurring and experimentally induced rotaviral infections of domestic and laboratory animals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.173, p.522-526, 1978.