

Consuelo Silva de Oliveira

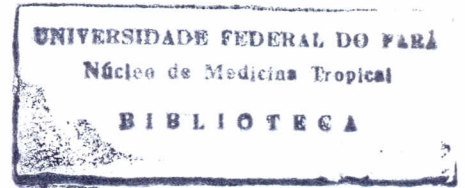
Eficácia Clínica da Vacina Tetravalente (RRV-TV)
contra Rotavírus em Belém, Pará

Belém
1999

CONSUELO SILVA DE OLIVEIRA

EFICÁCIA CLÍNICA DA VACINA TETRAVALENTE (RRV-TV) CONTRA
ROTAVÍRUS EM BELÉM, PARÁ

CONSUELO SILVA DE OLIVEIRA



EFICÁCIA CLÍNICA DA VACINA TETRAVALENTE (RRV-TV) CONTRA
ROTAVÍRUS EM BELÉM, PARÁ

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará, com a colaboração do Instituto Evandro Chagas, como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Tropical.

Orientador:

Prof. Dr. Nildo Alves Batista

Co-orientador:

Dr. Alexandre da Costa Linhares

Belém
1999

615.372
0482
DIS

(Ficha elaborada pela bibliotecária Maria Lúcia Almeida, CRB - 2 / 04)

Oliveira, Consuelo Silva de

Eficácia clínica da vacina tetravalente (RRV-TV) contra rotavírus em Belém – PA. / Consuelo Silva de Oliveira. – Belém, 1999.

122p.

Dissertação de mestrado para obtenção do grau de mestre em Medicina Tropical.

Bibliografia.

1. Rotavírus – vacina 2. Gastroenterite – rotavírus – vacina 3. Vacina tetravalente (RRV-TV) – eficácia clínica I. Dissertação – mestrado II. Título

CDU 615.371:576.858:616.34-002(811.51)

Índices para catálogo sistemático

1. Vacina 615.371
2. Rotavírus – vacina – Belém 576.858:615.371 (811.51)
3. Gastroenterite – vacina – Belém 616.34-002615.371 (811.51)

CLASS. CUTTER TOMBO 18 13/6/00

CONSUELO SILVA DE OLIVEIRA

EFICÁCIA CLÍNICA DA VACINA TETRAVALENTE (RRV-TV) CONTRA
ROTAVÍRUS EM BELÉM, PARÁ

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará, com a colaboração do Instituto Evandro Chagas, como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Tropical.

Banca Examinadora:

- Gabriel Wolf Oselka
- Eloísa Flora de Arruda Moura
- Cláudio Sérgio Carvalho de Amorim

Data: 17/06/99

Nota: 10 (dez) com distinção e louvor

Belém
1999

À Deus, que me concedeu a dádiva da vida.

Aos meus pais, Francisco e Clarice, mestres na arte da vida em família.

Ao Francimar, companheiro de todas as horas.

Aos meus filhos, Fabrício e Gabriel, pelo mágico sentimento da maternidade.

*Aos irmãos Simone e Cláudio Conde, pelo apoio decisivo às etapas finais da
dissertação,*

... e à criança, eterna inspiração de nossas vidas.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Alexandre Linhares, pelos profundos ensinamentos de ciência e de vida, exemplo de um verdadeiro homem de bem.

Ao Prof. Dr. Nildo Alves Batista, pela valiosa contribuição científica e disponibilidade fraterna ao legitimar a conclusão deste trabalho.

À Dra. Ermelinda Coutinho, pela luta na implantação da Pós-graduação em Medicina Tropical na nossa região.

Ao Dr. Cláudio Sérgio Amorim, Coordenador do Mestrado em Medicina Tropical, pelo empenho no fortalecimento do curso na nossa região, refletido na especial atenção dispensada a cada mestrando.

À Dra. Maria da Conceição Pinheiro, Diretora do Núcleo de Medicina Tropical, pela luta para o reconhecimento do Mestrado em Medicina Tropical pelos órgãos de pesquisa.

A todos os professores e funcionários do curso de Mestrado em Medicina Tropical, pela oportunidade de compartilhar conhecimentos e amizade.

Ao Dr. Jorge Travassos da Rosa, Diretor do Instituto Evandro Chagas, pelo apoio e incentivo na luta por uma pesquisa de qualidade na Amazônia.

À Nazária Higashi, bibliotecária do Instituto Evandro Chagas, pela valiosa orientação no projeto da dissertação e nas referências bibliográficas.

À bibliotecária Maria Lúcia Almeida, pela relevante ajuda na fase de normatização deste trabalho.

Aos funcionários da Biblioteca do Instituto Evandro Chagas, Sra. Glads Marins e Sr. Raimundo Nonato, pelo atendimento sempre fraterno à pesquisa bibliográfica.

Às Dras. Esther Castello Branco Miranda, Rita Uchôa, Rosana Libonati, Vera Barros e Helena Brígido, parceiras de turma e cúmplices na aventura da vida.

Às Dras. Vânia Cavalcante, Rosa Helena Gusmão e Ana Maria Ventura, pela participação científica e amiga em várias etapas desta dissertação.

À Dra. Maria dos Remédios, pelo incentivo nos momentos decisivos da elaboração do trabalho.

À Dra. Iracina Maura de Jesus, pela valiosa colaboração na área da informática.

Aos estagiários do Serviço de Virologia do IEC, Maurício Almeida, Daniele Martins e Telma Vitorino, pela prestimosa ajuda nas fases finais da dissertação.

“Para encontrar novos horizontes, é preciso ter novos olhos.”

Autor desconhecido

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1	HISTÓRICO.....	15
2.2	AGENTE ETIOLÓGICO.....	16
2.3	EPIDEMIOLOGIA.....	18
2.4	FISIOPATOLOGIA.....	22
2.5	IMUNIDADE.....	25
2.6	MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS.....	29
2.7	DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL.....	32
2.8	DIAGNÓSTICO LABORATORIAL.....	32
2.9	TRATAMENTO.....	35
2.10	PREVENÇÃO E CONTROLE.....	38
3	CASUÍSTICA E MÉTODOS	46
3.1	POPULAÇÃO DE ESTUDO.....	46
3.2	PARÂMETROS CLÍNICOS.....	48
3.3	PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS.....	50
3.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS.....	53
4	RESULTADOS	54
5	DISCUSSÃO	84
6	CONCLUSÕES	96
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99
	APÊNDICES	119
	TERMO DE CONSENTIMENTO.....	120
	CASOS DE DIARRÉIA AGUDA.....	121
	VIGILÂNCIA INTENSIVA DE DIARRÉIAS.....	122

LISTA DE TABELAS

	p.
Tabela 1	Escore clínico para avaliar a severidade dos episódios de diarréia em estudos com a vacina contra rotavírus..... 50
Tabela 2	Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) contra todos os episódios diarréicos, os episódios puros e em relação aos sorotipos específicos de rotavírus no período de julho de 1990 a junho de 1992..... 56
Tabela 3	Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) contra todos os episódios diarréicos, os episódios puros e em relação aos sorotipos específicos de rotavírus no período de julho de 1990 a junho de 1991..... 57
Tabela 4	Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) contra todos os episódios diarréicos, os episódios puros e em relação aos sorotipos específicos de rotavírus no período de julho de 1991 a junho de 1992..... 57
Tabela 5	Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) quanto à duração da diarréia no período de julho de 1990 a junho de 1992..... 58
Tabela 6	Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) quanto à duração da diarréia no período de julho de 1990 a junho de 1991..... 59
Tabela 7	Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) quanto à duração da diarréia no período de julho de 1991 a junho de 1992..... 60
Tabela 8	Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação ao número máximo de evacuações por dia, no período de julho de 1990 a junho de 1992..... 61
Tabela 9	Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação ao número máximo de evacuações por dia, no período de julho de 1990 a junho de 1991..... 62
Tabela 10	Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação ao número máximo de evacuações por dia, no período de julho de 1991 a junho de 1992..... 63

Tabela 11	Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) quanto à duração dos vômitos no período de julho de 1990 a junho de 1992.....	64
Tabela 12	Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) quanto à duração dos vômitos no período de julho de 1990 a junho de 1991.....	65
Tabela 13	Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) quanto à duração dos vômitos no período de julho de 1991 a junho de 1992.....	66
Tabela 14	Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação ao número máximo de vômitos por dia, no período de julho de 1990 a junho de 1992.....	67
Tabela 15	Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação ao número máximo de vômitos por dia, no período de julho de 1990 a junho de 1991.....	68
Tabela 16	Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação ao número máximo de vômitos por dia, no período de julho de 1991 a junho de 1992.....	69
Tabela 17	Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação à febre, no período de julho de 1990 a junho de 1992.....	70
Tabela 18	Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação à febre, no período de julho de 1990 a junho de 1991.....	71
Tabela 19	Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação à febre, no período de julho de 1991 a junho de 1992.....	72
Tabela 20	Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) quanto à desidratação no período de julho de 1990 a junho de 1992....	73
Tabela 21	Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) quanto à desidratação no período de julho de 1990 a junho de 1991....	74
Tabela 22	Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) quanto à desidratação no período de julho de 1991 a junho de 1992....	75

Tabela 23	Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação à necessidade de tratamento no período de julho de 1990 a junho de 1992.....	76
Tabela 24	Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação à necessidade de tratamento no período de julho de 1990 a junho de 1991.....	77
Tabela 25	Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação à necessidade de tratamento no período de julho de 1991 a junho de 1992.....	78
Tabela 26	Resumo das condições clínicas em que a vacina tetravalente (RRV-TV) revelou eficácia.....	79
Tabela 27	Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação aos escores clínicos de severidade.....	80

RESUMO

Acumulam-se evidências presentemente, indicando que o efetivo controle das gastroenterites por rotavírus só poderá ser alcançado com o advento de um imunizante eficaz para uso nos primeiros meses de vida. Com o objetivo de avaliar a eficácia da vacina geneticamente rearranjada, rhesus-humana, tetravalente (RRV-TV, 4×10^4 pfu/dose) frente aos parâmetros clínicos mais relevantes das gastroenterites por rotavírus, procedeu-se ao reexame de 91 episódios diarréicos em crianças no âmbito de uma investigação prévia conduzida em Belém, Pará, Brasil. As informações para o estudo foram obtidas a partir de dados contidos em fichas utilizadas na rotina de vigilância dos episódios diarréicos, bem como daquelas com registro clínico diário enquanto persistisse a diarreia. A eficácia relativa foi especificamente avaliada frente aos seguintes indicadores clínicos de gravidade: a) duração da diarreia; b) número máximo de evacuações líquidas/semilíquidas por dia; c) duração dos vômitos; d) número máximo de vômitos/24h; e) febre (temperatura retal); f) desidratação; e g) necessidade de tratamento. A gravidade clínica global das gastroenterites por rotavírus foi determinada por um sistema de escores (somatória máxima de 20 pontos) que permitiu classificar os episódios diarréicos em: leves (0 - 8), moderados a severos (9 -14) e muito graves (>14). Uma significativa ($p < 0,05$) proteção conferida pela RRV-TV foi observada em cinco das sete condições clínicas avaliadas, quais sejam: a) duração da diarreia (episódios puros, eficácia de 52%); b) número máximo de evacuações líquidas/semilíquidas por dia (todos os episódios, 42%, e os puros, 53%); c) número máximo de vômitos (todos, 56%, e os puros, 62%); d) desidratação (todos, 42%, e os puros, 48%); e e) necessidade de reidratação (todos, 42%, e os puros, 46%). Elevados índices de proteção foram obtidos frente aos episódios associados ao sorotipo G2, durante o segundo ano de acompanhamento, se considerados o número máximo e a duração dos vômitos: 90% e 100%, respectivamente. Ainda em relação ao tipo G2, a eficácia cumulativa foi de 100% contra os episódios com escore clínico >14. Taxas similares de eficácia frente às infecções mistas (35%) e puras (37%), foram registradas nos dois anos de estudo. Embora não se tenha registrado proteção quanto aos casos leves (escores de 0 a 8), a RRV-TV foi 75% ($p=0,02$) eficaz contra os episódios mais graves de gastroenterites por rotavírus; houve tendência à proteção contra todos os quadros diarréicos e os puros, com escores clínicos de 9 a 14: 44% ($p=0,06$) e 45% ($p=0,08$), respectivamente. Os resultados do estudo sustentam o conceito vigente de que a RRV-TV parece proteger seletivamente contra os quadros diarréicos revestidos de maior gravidade clínica.

1 INTRODUÇÃO

As gastroenterites agudas constituem um grave problema de impacto mundial em termos de saúde pública, principalmente nos países em desenvolvimento, onde se registra cerca de um bilhão de casos e a ocorrência de três milhões de óbitos por ano (Bern *et al.*, 1992a). Apesar da multiplicidade de fatores desencadeantes das diarreias no homem, os agentes infecciosos são os que prevalecem, principalmente em áreas tropicais (Guerrant *et al.*, 1990).

Diante da grande diversidade dos agentes enteropatogênicos, tem sido demonstrada a relevante participação dos vírus, principalmente após o advento da microscopia eletrônica (ME) como meio diagnóstico, com destaque para os rotavírus. Tais vírus assumem a maior expressão epidemiológica dentre os agentes virais, sendo responsáveis por 30-60% de todos os casos de diarreias severas infantis, resultando em aproximadamente 1.000.000 de óbitos por ano, em menores de 5 anos, com ênfase nas regiões tropicais (Cook *et al.*, 1990; Steinhoff, 1980). Mesmo nos países desenvolvidos, onde prevalecem condições satisfatórias de saneamento, os rotavírus se revestem de importância epidemiológica. Nos EUA (Estados Unidos da América), por exemplo, se associam a 3% de todas as hospitalizações envolvendo crianças menores de 5 anos (Glass, Gentsch, Ivanoff, 1996).

Há duas décadas, a partir dos estudos de Bishop *et al.* (1973) em Melbourne, Austrália, surgiram as primeiras evidências de diarreia aguda relacionada com os rotavírus, que se consolidaram com os estudos de Flewett, Bryden, Davies (1973) em Birmingham, Inglaterra. No Brasil, desde a sua descoberta em Belém, Pará (Linhares *et al.*, 1977), os estudos vêm se sucedendo em outras regiões do País

(Pereira *et al.*, 1993), confirmando a importância dos rotavírus na morbidade infantil por diarreia, com índices de 30% dos casos hospitalizados e 10% de ocorrência na comunidade (Linhares *et al.*, 1983; Linhares *et al.*, 1989).

Diante dessas evidências, a obtenção de uma vacina eficaz e inócua se tornou uma prioridade no âmbito da OMS (Organização Mundial de Saúde), com os estudos evoluindo desde os chamados procedimentos Jennerianos - aqueles que utilizam cepas de rotavírus oriundos de animais - até estratégias atuais que envolvem métodos da virologia molecular. Atualmente, a vacina tetravalente, que envolve rearranjo genético entre cepas de origens simia e humana (RRV-TV), é a mais promissora, principalmente após análise dos resultados obtidos de estudos de campo de países desenvolvidos (Hoshino & Kapikian, 1994; Kapikian & Chanock, 1996). Sua eficácia foi também avaliada na América do Sul (Peru, Brasil e Venezuela), com os resultados preliminares demonstrando uma proteção pouco expressiva, porém, confirmando a inocuidade da vacina, assim como indicando eficácia em relação aos episódios mais graves (Lanata *et al.*, 1996; Linhares *et al.*, 1996; Perez-Schael *et al.*, 1994; 1997). Portanto, o objetivo da vacina é, primordialmente, a prevenção dos quadros mais graves de diarreia durante os dois primeiros anos de vida, os quais, via de regra, resultam em desidratação e óbito (Kapikian & Chanock, 1996).

Após duas décadas de estudos sobre os rotavírus na região amazônica, envolvendo os aspectos clínico-epidemiológicos, reveste-se de particular interesse, atualmente, a análise acerca da eficácia clínica produzida pela RRV-TV, no âmbito de um recente estudo conduzido em Belém (Linhares *et al.*, 1996). Os resultados obtidos poderão ampliar os conhecimentos sobre as modificações produzidas pela vacina na história natural da doença, identificar os sintomas atenuados pela vacina,

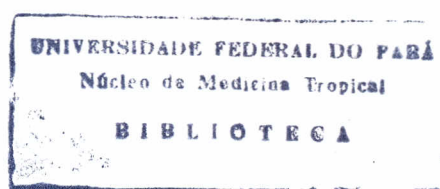
além de demonstrar a proteção conferida às crianças no primeiro ano de vida, em relação aos episódios mais graves.

Este estudo tem por objetivo geral avaliar a eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) nos parâmetros clínicos mais relevantes das gastroenterites por rotavírus em um segmento da população infantil de Belém, Pará.

Os objetivos específicos compreendem:

- a) avaliar a eficácia da vacina quanto aos seguintes parâmetros clínicos: duração da diarreia, número máximo de evacuações em um período de 24h, duração dos vômitos, número máximo de vômitos em um período de 24h, febre, estado de hidratação e necessidade de reidratação e/ou hospitalização;
- b) caracterizar a eficácia da vacina em relação aos episódios diarréicos de maior e menor gravidade associados aos rotavírus;
- c) avaliar a eficácia clínica da vacina nos episódios de gastroenterite associados apenas aos rotavírus e naqueles em que esses agentes ocorrem concomitantemente a outros enteropatógenos;
- d) relacionar a eficácia clínica com os sorotipos prevalentes de rotavírus na região.

2 REVISÃO DA LITERATURA



2.1 Histórico

Coube a Bishop *et al.* (1973), na Austrália, a descoberta dos rotavírus, realizando estudos de natureza enzimática na mucosa duodenal de crianças diarréicas através da ME. Achados posteriores, como os de Flewett, Bryden, Davies (1973), na Inglaterra, e os de Middleton *et al.* (1974), no Canadá, consolidaram a associação desses vírus com os quadros de diarréia aguda na infância, enquanto os inúmeros estudos que se sucederam em regiões temperadas e tropicais indicavam a ampla distribuição de tais agentes.

Pela semelhança morfológica com integrantes do gênero *Orbivirus*, esta foi a denominação inicial dos referidos vírus, que, posteriormente, passaram a chamar-se de duovírus (camada protéica dupla) e, definitivamente, rotavírus, pelo aspecto radiado das partículas.

O primeiro registro no Brasil dos rotavírus foi feito por Linhares *et al.* (1977), no Pará, durante as investigações dos quadros de diarréia em crianças acompanhadas em um ambulatório público. Estudos subseqüentes em outras regiões do país (Candeias, Rosemberg, Rácz, 1978; Coiro *et al.*, 1985; Pereira *et al.*, 1993) demonstraram a importância desses vírus na gênese das diarréias infantis no Brasil. Atualmente, a partir de estudos de campo, as investigações concentram-se na obtenção, a curto prazo, de um imunizante eficaz. A par disso, é imperativo que se estabeleça um sistema de vigilância dos tipos de rotavírus circulantes na comunidade.

2.2 Agente Etiológico

Os rotavírus pertencem à família *Reoviridae* (Ramig, 1994) e constituem um gênero único. As partículas completas medem 75-90 nm de diâmetro, apresentam configuração icosaédrica, sem envelope lipo-protéico, com um *core* de forma hexagonal que se encontra na parte mais interna da partícula, envolvido com uma dupla camada protéica, que constituem os capsídeos interno e externo; este último, responsável pelo contorno regular e delicado das partículas -*smooth particles*. O *core* mede cerca de 37 nm, contendo o genoma viral com 11 segmentos de RNA (ácido ribonucleico) de dupla cadeia, com diferentes pesos moleculares, reunindo, em média, 18.500 pares de nucleotídeos (Estes, 1996). Esses segmentos regulam a síntese de proteínas virais, com cinco delas sendo denominadas de não estruturais, por persistirem apenas na morfogênese viral - NSP1, NSP2, NSP3, NSP4 e NSP5. As proteínas restantes são designadas estruturais, sendo as VP1, VP2 e a VP3 componentes do *core* viral. A VP6 constitui o capsídeo interno e as VP4 e VP7 formam a camada protéica externa.

A VP6 representa 50% de todo o peso viral, é codificada pelo gene 6 e define a especificidade de grupo e subgrupo. A VP7 constitui 30% da massa viral e está relacionada à capacidade de induzir anticorpos neutralizantes sorotipo-específicos G (glicoproteína) e se associa aos genes 7, 8 e 9. A VP4, associada ao gene 4, é indutora da resposta imune específica para o sorotipo P (sensível à protease), e relaciona-se com a virulência, propriedade biológica inerente à proteína, que, uma vez clivada pela tripsina em VP5 e VP8, promove a exacerbação da infectividade viral. A fração VP8 parece estar relacionada com a penetração do vírus nas células suscetíveis, mediada por receptores de superfície celular (Estes & Cohen, 1989).

Até o momento são reconhecidos sete diferentes grupos de rotavírus, com expressão antigênica bem definida, designados de A a G, com a caracterização podendo ser reconhecida pelos perfis genômicos - chamados de eletroferotipos. Esses perfis podem ser classificados em curtos e longos, conforme a velocidade de migração em gel de poliacrilamida (PAGE) (Hoshino *et al.*, 1985; Gorziglia *et al.*, 1990). Os rotavírus do grupo A destacam-se como os de maior importância epidemiológica e são classificados em função dos determinantes antigênicos básicos que são: o subgrupo (VP6), e os sorotipos G (VP7) e P (VP4). Os subgrupos são classificados em I, II, não I-não II e I+II. No que se refere aos sorotipos, atualmente estão identificados 14 tipos G, sendo os G1 a G6, G8 a G10 e G12 (total de 10) com capacidade de infectar o homem; os tipos P (VP4), caracterizados por métodos moleculares, reúnem 20 genótipos, enquanto os identificados através de anticorpos monoclonais são em torno de 11 sorotipos (Estes, 1996; Hoshino & Kapikian, 1994). Os demais grupos antigênicos (B a G) envolvem os rotavírus atípicos ou não-grupo A.

Recentemente, a classificação dos sorotipos de rotavírus passou a basear-se no sistema binário - tipos G e P -, com possibilidade de até 80 diferentes combinações no que se refere às infecções humanas, com maior importância epidemiológica, entretanto, dos binômios P[8],G1 P[4],G2 P[8],G3 e P[8],G4 (Gentsch *et al.*, 1996; WU *et al.*, 1994).

O conhecimento detalhado e sistemático das cepas infectantes, no que diz respeito às características mencionadas (natureza dos grupos, subgrupos, sorotipos e eletroferotipos), é indispensável para a formulação de imunizantes eficazes.

Entre as características físico-químicas dos rotavírus, ressalte-se a estabilidade das partículas virais à exposição ao meio-ambiente, aquecimento a

56°C e ao pH 3.0. Atualmente, o etanol é reconhecido como o desinfetante mais eficaz (Flewett & Woode, 1978).

2.3 Epidemiologia

Os rotavírus são considerados atualmente os principais agentes etiológicos das diarreias severas em crianças abaixo de 5 anos de idade. Embora a morbidade seja elevada, tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento, a mortalidade assume maior impacto nestes últimos, pela expressiva ocorrência de diarreia em crianças desnutridas (Kapikian & Chanock, 1996).

Os rotavírus pertencentes ao grupo A apresentam ampla distribuição geográfica e maior importância epidemiológica entre crianças abaixo de 2 anos de idade, por induzirem quadros mais graves de diarreia aguda, com desidratação. Entre os chamados rotavírus atípicos, destacam-se os do grupo B, relacionados a extensos surtos de diarreia em adultos na China (Flewett & Woode, 1978), e os do C, que são associados primariamente a casos de gastroenterite em suínos, podendo acometer crianças de forma esporádica. Recentemente, esses últimos têm sido também detectados em comunidades fechadas (LeBaron *et al.*, 1990). Os grupos D, E, F e G estão envolvidos com infecções em aves ou suínos (Kapikian & Chanock, 1996).

Em países em desenvolvimento, a maior incidência das infecções por rotavírus se concentra na faixa etária de 6 a 24 meses, podendo, entretanto, ocorrer em idade mais tenra (Huilan *et al.*, 1991). Nos recém-nascidos, a forma assintomática é a que predomina, provavelmente por transferência passiva dos anticorpos maternos e/ou da circulação de cepas atenuadas em berçário (Haffejee, 1991). Não obstante, convém ressaltar recentes achados em países em

desenvolvimento, que revelam quadros graves de diarreia entre neonatos (Bresee, no prelo).

Estudos conduzidos em várias partes do mundo demonstram que mais de 90% das crianças, já aos 4 anos de idade, possuem anticorpos para rotavírus, independentemente do perfil sócio-econômico do país de origem e das condições de saneamento, confirmando o caráter universal da infecção (Ishak *et al.*, 1984; Pereira *et al.*, 1993). Admite-se, ainda, que infecções inaparentes com evolução clínica branda, similares às que ocorrem em adultos, decorram principalmente de contactos intrafamiliar e institucional (Silva, Linhares, Gabbay, 1984; Blacklow & Greenberg, 1991). Nos idosos há relatos de elevada taxa de ataque e de quadros clínicos mais graves, o que sugere declínio da imunidade (Cubitt & Holzel, 1980; Hrdy, 1987).

No caso específico da transmissão intrafamiliar, vale destacar os achados de Silva, Linhares, Gabbay, (1984), em que se confirmaram o caráter explosivo da infecção, a evolução autolimitada dos microsurto familiares, e que a principal fonte de infecção para os adultos são as crianças diarreicas.

A par desses conhecimentos, emergem os estudos sobre a participação dos rotavírus nas infecções nosocomiais, com os achados pioneiros de Pacini *et al.* (1987), que demonstram a participação dos rotavírus em 40% das diarreias adquiridas em hospital, com resultados similares a de outras investigações em vários países (Noone & Banatvala, 1983; Koopman *et al.*, 1984; Dutta *et al.*, 1993). Em nossa região, destaque-se o estudo piloto conduzido por Gusmão *et al.* (1995), que identificaram os rotavírus em 39% das diarreias adquiridas em hospital.

A maioria das investigações conduzidas na América Latina envolvendo crianças menores de 5 anos de idade atendidas em níveis hospitalar ou

ambulatorial, aponta para uma ampla variação nas taxas de prevalência, como se observa, por exemplo, na Argentina, 12,9 a 34% (Muchnik, Grinstein, Plaza, 1981), Brasil, 13 a 40% (Linhares *et al.*, 1983; Coiro *et al.*, 1985; Houly *et al.*, 1986), Chile, 11,4 a 40% (Avendãno *et al.*, 1982; Figueroa *et al.*, 1986), Costa Rica, 45,3 a 60% (Hieber *et al.*, 1978; Mata *et al.*, 1983) e Venezuela, 30 a 50% (Pérez-Schael, 1996).

Os resultados obtidos em vários estudos longitudinais na comunidade, por outro lado, indicam que as taxas de incidência da infecção por rotavírus variam de 0,15 a 0,8 episódio de diarreia por criança/ano (De Zoysa & Feachem, 1985; Bern *et al.*, 1992b). Vale ressaltar que as estimativas de ocorrência dos episódios diarreicos mais graves requerendo hospitalização, tanto em regiões tropicais como temperadas, variam de 11 a 74% (média de 34%) (Hung *et al.*, 1984; Cook *et al.*, 1990; Kapikian & Chanock, 1996). Em Belém, Pará, Linhares *et al.* (1989), em nível comunitário, associaram esses agentes a aproximadamente 10% dos casos de menor gravidade, consoante, portanto, com as taxas de outras investigações no mundo, que variam de 6 a 24% (Black *et al.*, 1982; Pérez-Schael, 1996).

A transmissão fecal-oral tem sido classicamente descrita, reforçada pela alta excreção - cerca de um trilhão de partículas virais por mL de fezes -, e com a dose mínima infectante de 10 vírions (Ward *et al.*, 1986). A propagação pela via aérea tem sido sustentada por alguns autores (Goldwater, Chrystie, Banatvala, 1979; Zheng *et al.*, 1991a), que se baseiam nos dados relativos à ocorrência universal da infecção, que independe da condição sócio-econômica do país e do predomínio nos meses mais frios, coincidindo com maior número das viroses de transmissão respiratória; porém, esse mecanismo alternativo de transmissão necessita de estudos complementares para melhor elucidação.

A sazonalidade das infecções por rotavírus nas regiões temperadas abrange

um amplo período, iniciando-se no outono e estendendo-se até a primavera, segundo os dados obtidos de uma recente pesquisa que abrangeu 23 países (Cook *et al.*, 1990). Nas regiões tropicais, entretanto, esse padrão sazonal é diferente, pois as infecções ocorrem durante todo o ano (Linhares *et al.*, 1989; Pereira *et al.*, 1993).

As reinfecções envolvendo adultos, particularmente os sujeitos a maior risco (indivíduos que lidam com creches ou enfermarias pediátricas, viajantes para países tropicais e idosos), são freqüentes e decorrem de exposição maciça que se sobrepõe à imunidade pré-existente (Wenman *et al.*, 1979).

A circulação dos 4 sorotipos G (G1 a G4) de importância epidemiológica na América Latina já está bem definida, assim como o conhecimento de que um sorotipo predomina por um a dois anos e que emerge, a seguir, uma nova cepa dominante, sugerindo que há uma seleção à conta da imunidade específica para o tipo prevalente (Houly *et al.*, 1986; Beards, Desselberger, Flewett, 1989; Pereira *et al.*, 1993). A correlação entre sorotipos e a gravidade clínica é controversa, embora alguns autores atribuam ao G2 maior virulência (Timenetsky *et al.*, 1996). Atualmente, a ocorrência do sorotipo G5 em vários estados do Brasil vem despertando grande interesse, uma vez que esse sorotipo não consta da composição das vacinas ora sob estudo no mundo, particularmente daquela em processo de licença para uso corrente em alguns países - a tetravalente de origens símia e humana (Gouvea *et al.*, 1994; Leite *et al.*, 1996; Midthun & Kapikian, 1996). Quanto à distribuição dos tipos P de rotavírus, os estudos ainda são restritos, sobressaindo-se, entretanto, os achados de Leite *et al.* (1996), que, após a análise de amostras oriundas de 9 estados brasileiros e do Distrito Federal, constataram que as características das cepas (com base no sistema binário) predominantes nestas regiões são idênticas às daquelas encontradas em outras partes do mundo,

como: P[8],G1, 41%; P[4],G2, 12%; e P[8],G3, 6%. Acrescente-se a isso a descoberta dos citados tipos não usuais, como o P[8],G5, e das misturas entre os tipos, em 12% e 21% dos casos, respectivamente (Timenetsky, Santos, Gouvea, 1994; Leite *et al.*, 1996). Outro dado relevante é a caracterização do genótipo P[6] envolvendo neonatos em berçário na Venezuela, e que apresenta especificidades antigênicas G1, G3 ou G4 (Gentsch *et al.*, 1996). Recentes investigações em Belém, Pará, indicam a ocorrência de ampla circulação em berçário, com a predominância do tipo P[6],G2 (J. Mascarenhas, comunicação pessoal).

Os estudos pioneiros de Linhares *et al.* (1981) desenvolvidos na Amazônia, sobre a participação dos rotavírus na etiologia das diarreias em comunidades indígenas, apresentam alguns aspectos singulares. Nesse contexto, registrem-se o caráter explosivo dos surtos epidêmicos e o acometimento de todas as faixas etárias, com gravidade clínica mesmo entre adultos. Em termos sorológicos, são observadas conversões em todos os grupos de idade, com índice global, entre os Tiriyo, da ordem de 70%. Acredita-se que a contaminação da água e dos alimentos seja a responsável pela propagação do vírus nessas comunidades. Esses achados sugerem que os rotavírus têm um papel importante na etiologia das gastroenterites em populações isoladas, refletindo um padrão epidemiológico diferente do que é usualmente observado em comunidades urbanas. Por outro lado, postula-se a existência de reservatórios silvestres de rotavírus, o que sustentaria o caráter endêmico da infecção entre esses silvícolas (Linhares *et al.*, 1986).

2.4 Fisiopatologia

Os experimentos que adotam como base os modelos animais são os que mais têm contribuído para os avanços no conhecimento sobre os mecanismos

fisiopatológicos das infecções pelos rotavírus. Tais experimentos utilizando esses modelos, ensejaram a caracterização do ciclo replicativo viral, pois sabe-se que esses agentes penetram nas células epiteliais maduras que recobrem as microvilosidades do intestino delgado. Os dois mecanismos básicos de invasão celular seriam a penetração direta através da membrana plasmática e a endocitose (Suzuki *et al.*, 1986; Ruiz *et al.*, 1994). Admite-se que este último seja mediado por receptores, como as células M - área seletiva para os rotavírus -, situadas sobre os folículos linfóides da mucosa intestinal, e como a lactase, enzima das células absorptivas apicais (Riepenhoff *et al.*, 1982; Trier, 1991).

No jejuno é que se processa com maior intensidade a replicação viral, que pode estender-se até ao íleo (Davidson *et al.*, 1977; Snodgrass, Angus, Gray, 1977), com a infecção, em geral, limitando-se à região da lâmina própria (Guimarães *et al.*, 1994).

As alterações morfológicas resultantes da ação lítica viral incluem a metaplasia epitelial vilositária e a hiperplasia das criptas, além de moderada infiltração mononuclear da lâmina própria (Blacklow & Greenberg, 1991). Em nível ultra-estrutural são descritas a dilatação do retículo endoplasmático, a rarefação das microvilosidades, a vacuolização citoplasmática e a tumefação mitocondrial (Flewett & Woode, 1978; Thulin, Kuhlenschiimidt, Gelberg, 1991; Majerowicz *et al.*, 1994). Posteriormente, os enterócitos lisados pelos vírus são substituídos por outras células procedentes das criptas, prevalecendo, portanto, a capacidade secretora sobre a função absorptiva (Greenberg, Clark, Offit, 1994). Esses achados sustentam a hipótese de que o mecanismo osmótico determinaria o quadro diarréico associado a tais agentes. Os principais eventos fisiopatológicos que precedem o aparecimento da diarréia seriam: a) redução na atividade das dissacaridases; b) comprometimento

da digestão final dos açúcares; e c) acúmulo de carboidratos não absorvidos no lúmen intestinal. Isso acarretaria um aumento da osmolaridade e, conseqüentemente, do afluxo de líquidos, culminando com a diarreia de origem osmótica. Além disso, pode haver metabolização dos açúcares por bactérias que normalmente colonizam o intestino grosso, com produção de ácidos e gases, o que se traduz clinicamente por fezes líquidas, de eliminação explosiva e com pH ácido, produzindo a dermatite da região perianal (Maffei, 1991). Outra importante alteração descrita é a redução da enzima $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATPase (sódio potássio ATPase) localizada na membrana basolateral dos enterócitos, o que compromete o processo ativo de absorção intestinal do sódio acoplado à glicose (Nalin *et al.*, 1978; Starkey *et al.*, 1990).

O aumento da permeabilidade intestinal às macromoléculas, descrita na diarreia por rotavírus, pode estar envolvido na etiopatogenia da intolerância às proteínas heterólogas da dieta, cuja repercussão clínica se caracteriza pelo prolongamento da diarreia, além de desencadear ou agravar a desnutrição (Heyman *et al.*, 1987; Holm *et al.*, 1992).

A importância do mecanismo secretor na patogenia da diarreia por rotavírus evidenciou-se a partir dos anos 90, com a utilização de técnicas de perfusão intestinal em animais de experimentação. O aumento da secreção de cloro e água no sentido do lúmen intestinal observado nesses estudos, associado à proliferação das células secretoras das criptas, como resposta à atrofia vilositária, fundamentam este mecanismo (Spencer *et al.*, 1990; Osborne *et al.*, 1991). Contudo, as recentes investigações conduzidas por Ball *et al.* (1996) no Texas, EUA, revelaram que uma glicoproteína não estrutural (NSP4) inoculada em modelos murinos pode atuar como uma enterotoxina, induzindo diarreia secretora. A NSP4 é uma proteína

transmembrana, localizada no retículo endoplasmático rugoso das células infectadas pelos rotavírus, atuando na morfogênese viral como mediadora entre a partícula com membrana transitória (partícula subviral) e a proteína estrutural VP4, no processo de maturação (Nakagomi & Nakagomi, 1996). Por outro lado, admite-se que o cálcio seja importante na replicação e na integridade física da partícula viral, estando também associado com efeitos citopáticos nas células infectadas (Tian *et al.*, 1994). Entre os achados desses experimentos destacam-se: a) aparecimento de diarreia nas primeiras quatro horas após a inoculação; b) diarreia dependente da dose inoculada e idade do animal; c) declínio na incidência de diarreia no grupo de camundongos infectados que recebeu anticorpos anti-NSP4; e d) redução na frequência dos episódios diarreicos em animais nascidos de mães imunizadas. Segundo esses investigadores, haveria a participação de dois receptores intestinais: o primeiro, que se localiza na membrana apical da célula absorviva, permitindo a entrada do vírus e, o segundo, que estimula a liberação do cálcio a partir do retículo endoplasmático para o citoplasma da célula infectada, determinando o aumento na concentração citoplasmática desse íon. Sucedem-se o aumento da secreção de cloro para o lúmen intestinal e a diminuição de absorção de sódio e água, que resultam em diarreia.

Os conhecimentos atuais sobre a diarreia por rotavírus, mesmo em modelos animais, apontam para a necessidade de estudos complementares, inclusive em humanos, e para a perspectiva, a curto prazo, da obtenção de um imunógeno mais efetivo.

2.5 Imunidade

Os mecanismos envolvidos na resposta imune às infecções por rotavírus,

especialmente em humanos, não são completamente conhecidos. Entretanto, os experimentos em animais têm despertado particular interesse, por elucidarem o papel dos anticorpos e a importância da imunidade local e sistêmica naquelas infecções.

Os estudos de biologia molecular têm demonstrado a importante participação das proteínas VP4 e VP7 na indução dos anticorpos neutralizantes e, conseqüentemente, na proteção de hospedeiros suscetíveis (Offit, Shaw, Greenberg, 1986; Hoshino *et al.*, 1988; Ward, 1996). Vale ressaltar que inúmeros estudos atribuem a proteína VP4 papel mais expressivo que a proteína VP7 na produção desses anticorpos durante a infecção natural. A VP6, considerada a mais imunogênica das proteínas estruturais, também parece possuir capacidade neutralizante, como demonstrado nos experimentos em murinos, conduzidos por Burns *et al.* (1996), em que a IgA (imunoglobulina A) anti-VP6 promoveu a neutralização viral intracelular durante o processo de transcitose, que consiste na migração, mediada por endocitose, de moléculas de IgA. Essa imunoglobulina tem papel importante na resposta imune humoral, embora a sua real proteção a nível de mucosa intestinal seja o principal determinante da resistência às reinfecções (Mestecky & McGhee, 1987; McNabb & Tomasi, 1981). Não obstante, recentes pesquisas suscitam controvérsias acerca da proteção eventualmente conferida pela imunidade local (Brussow *et al.*, 1994).

Apesar de ainda não ter sido bem elucidado o tipo de resposta imune induzida pela infecção natural ou por vacina, vários estudos revelam o predomínio da resposta homotípica (sorotipo-específica) mediada pelos anticorpos neutralizantes. A imunidade heterotípica, por sua vez, estaria relacionada com as reinfecções que envolvem o mesmo sorotipo ou tipos diferentes (Linhares *et al.*,

1981; Brussow *et al.*, 1988; Hoshino *et al.*, 1988). No entanto, há relatos de ocorrência, tanto em humanos como em modelos animais, de resposta heterotípica mesmo na vigência de primo-infecção, o que sugere uma propriedade intrínseca da cepa (Arias *et al.*, 1994). É importante registrar que as reinfecções envolvendo os mesmos sorotipos confirmam a hipótese de que a proteção parece ser incompleta (DeChamps *et al.*, 1991; O’Ryan *et al.*, 1994).

O efeito protetor da infecção natural por esses agentes contra os quadros graves de reinfecções tem sido demonstrado em vários estudos (Bishop *et al.*, 1983; Bhan *et al.*, 1993). Tais investigações indicam que as infecções durante a fase neonatal (duas primeiras semanas) protegem contra os episódios subseqüentes de maior gravidade. Por outro lado, certos autores registram as mesmas observações, porém, envolvendo pré-escolares após a primo-infecção sintomática ou assintomática (Bernstein *et al.*, 1990). As reinfecções sintomáticas podem refletir uma imunidade fugaz, como é proposto em algumas investigações (Reeves *et al.*, 1989; Coulson *et al.*, 1990).

No curso de uma infecção primária, ou nas reinfecções, são produzidas imunoglobulinas do tipo IgM, seguidas de IgG e IgA, que estão presentes no suor, saliva e secreções intestinais (Grimwood *et al.*, 1988; Coulson *et al.*, 1990; Richardson & Bishop, 1990). A IgM, característica da fase aguda, é de aparecimento precoce e de curta duração (2-3 meses), enquanto que as demais surgem na fase de convalescença, com as concentrações séricas ascendendo gradativamente até 2-4 semanas após o início da infecção. A seguir, a IgG mantém-se em níveis estáveis, com tendência ao declínio, ao contrário da IgA, que assume um ritmo ascendente, em torno de um mês, atingindo níveis estacionários e duradouros. Embora algumas investigações (Chiba *et al.*, 1986; Clemens *et al.*,

1992) associem a presença dos anticorpos específicos circulantes à proteção contra os episódios de maior gravidade, os conhecimentos atuais identificam a IgA secretora presente na superfície da mucosa intestinal, como a de maior expressão na imunidade clínica contra as diarreias produzidas pelos rotavírus (Coulson *et al.*, 1992; Matson *et al.*, 1993; Ward, 1996). O papel da resposta imune mediada por células tem sido pouco elucidado, com os modelos animais constituindo-se na base dos estudos (Offit, 1996). Os achados que vêm despertando maior interesse são os que relacionam os linfócitos T - citotóxicos (CD8) à eliminação dos vírus, por conseguinte, promovendo a resolução do processo infeccioso agudo (Ward, 1996).

Acredita-se que a imunidade passiva, representada pelos anticorpos transferidos via placentária e pelo leite materno, desempenhe um papel importante na proteção contra a diarreia por rotavírus, já que a replicação viral se processa nas células epiteliais que revestem as microvilosidades intestinais (Yolken *et al.*, 1985; Matsui *et al.*, 1989). A par disso, inúmeros estudos têm assinalado que nos primeiros seis meses de idade as infecções por rotavírus são assintomáticas; esse fato se atribui aos anticorpos de origem materna, que permitem a neutralização dos vírus antes de atingirem os enterócitos, quando se encontram em concentração adequada (Ward, 1996). Sustentando tal condição, investigações conduzidas por Linhares *et al.* (1989) envolvendo crianças em Belém, Pará, registraram que, por volta dos três meses de idade, em geral, não se detectam anticorpos maternos, sobrevivendo assim as infecções sintomáticas em maior número. Acresçam-se a esses dados os de investigações que, embora controversos, apontam o leite materno como outro fator de proteção, com destaque para a IgA secretora e para os determinantes não imunológicos (glicoproteínas que inibem a replicação) contidos no leite (Yolken *et al.*, 1992). Os achados de Zheng *et al.* (1991b) demonstram que

mães de neonatos não infectados têm altos títulos de anticorpos neutralizantes no colostro e no leite. Por outro lado, os de Clemens *et al.* (1993) despertam particular interesse, por assinalarem que o leite materno protegeria no primeiro ano de vida, deslocando para os meses subseqüentes, porém, as infecções mais severas.

2.6 Manifestações clínicas

O quadro clássico se caracteriza, após um curto período de incubação (24-48hs), por início abrupto, com vômitos presentes em mais de 50% dos casos, sucedendo-se febre alta e diarréia profusa (Steinhoff, 1980). Esses sintomas, dependendo da intensidade, culminam com a desidratação do tipo isotônica (Linhares *et al.*, 1983; Kapikian & Chanock, 1996). Os vômitos em geral são intensos, podendo tornar-se incoercíveis, e precedem a diarréia em 1-2 dias, podendo, entretanto, manifestar-se isoladamente (Carr, Mckendrick, Sprydakis, 1976) e com duração prolongada (Wyatt *et al.*, 1979). Aliás, no que se refere aos vômitos, observa-se a sua maior freqüência nos episódios causados por rotavírus, se comparados àqueles de outra etiologia (Rodriguez *et al.*, 1977; Linhares *et al.*, 1989).

A febre é um dos principais sintomas entre as crianças que excretam rotavírus (Linhares *et al.*, 1994). Ocorrem em mais da metade dos casos, persistindo por 2 a 3 dias. Em geral é elevada, podendo atingir picos de 39-40°C que induzem a quadros convulsivos, o que se observa principalmente em crianças hospitalizadas (Rodriguez *et al.*, 1977).

A diarréia é de caráter explosivo, com alta freqüência de evacuações e com as fezes mostrando-se aquosas, amareladas e com muco em 25% dos casos (McCormack, 1982). Evolui em média por 5 a 8 dias, podendo tornar-se protraída em

lactentes jovens e desnutridos graves (Coelho *et al.*, 1983; Tavares-Júnior *et al.*, 1988; Black, 1993). Em indivíduos com imunodeficiência primária, principalmente a de células T, e entre indivíduos transplantados, os rotavírus podem produzir diarreia crônica, com prolongada excreção viral (mais de 6 semanas) (Saulsbury, Winkelstein, Yolken, 1980; Kapikian & Chanock, 1996).

Os achados laboratoriais que refletem o grau de desidratação se caracterizam, principalmente nos casos graves, por elevação da densidade urinária, acidose metabólica (resultado das perdas fecais de bicarbonato e água) e hiponatremia. Ao lado disso, observa-se a evidência de leucocitose fecal quando se utiliza a coloração de Wright (Rodriguez *et al.*, 1977). A relação direta entre as taxas de uréia sangüínea e a concentração de rotavírus nas fezes foi demonstrada por Carr, Mckendrick, Sprydakis, (1976), que a apontam como um indicador de gravidade.

O espectro clínico da gastroenterite por rotavírus pode ser influenciado pelo sorotipo envolvido bem como pela faixa etária e imunidade do hospedeiro. Quanto ao sorotipo, as infecções mais freqüentes em crianças de baixa idade estão relacionadas aos tipos G1-4, havendo, no entanto, evidências de que as infecções que sustentam o caráter mais virulento estão relacionados ao sorotipo G2 (Bishop, 1996; Timenetsky *et al.*, 1996). Os neonatos e lactentes até aos 3-4 meses, quando infectados, são assintomáticos ou apresentam sintomatologia leve em 13 a 80% dos casos (Chrystie *et al.*, 1975; Chrystie, Totterddell, Banatvala, 1978; Pérez-Schael *et al.*, 1984). O curso clínico da infecção nessa faixa etária é decorrente da interação de diversos fatores, destacando-se a presença dos anticorpos e inibidores virais específicos transferidos pelo leite materno, além da presença da imunidade passiva, via transplacentária. A par disso, registra-se a baixa virulência das cepas que

circulam em berçários (Bishop, 1996). Acredita-se que a infecção neonatal ocasionada por esses agentes confira significativa proteção contra os episódios subseqüentes graves (Bishop *et al.*, 1983; Bhan *et al.*, 1993).

A gravidade dos episódios diarréicos por rotavírus pode ser mensurada com o emprego de um escore que reúne a somatória de diversos parâmetros clínicos (Flores *et al.*, 1987), definindo-se de leve intensidade o escore menor que 9, e de moderada a severa, muito severa o escore igual ou maior que 9. Vários estudos têm confirmado a gravidade das diarréias por rotavírus, quando comparados com as de outros enteropatógenos, como o estudo demonstrado recentemente por Linhares *et al.* (1994) durante os testes de campo com uma vacina contra rotavírus. Nesse estudo, registrou-se maior freqüência da febre (65,9%) e do número médio de evacuações (7,4%), no grupo de casos relacionados aos rotavírus.

Quadros atípicos têm sido descritos associados aos sintomas gastrointestinais, sendo dignos de nota os que relacionam a encefalite, diagnosticada em bases clínicas, as alterações no LCR (líquido céfalo-raquidiano), o EEG (eletroencefalograma) e a detecção do RNA viral no LCR por PCR (reação de polimerização em cadeia), sugerindo invasão do SNC (sistema nervoso central) pelos vírus (Yoshida *et al.*, 1995; Pang, Joensuu, Vesikari, 1996). As manifestações respiratórias (tosse, taquipnéia) associadas aos vômitos também têm sido relatadas, com a recuperação dos rotavírus do orofaringe e do trato respiratório (Zheng *et al.*, 1991a).

Entre as condições mórbidas também associadas aos rotavírus, e mais comentadas descritas, figuram a síndrome de Reye (Salmi, Aristila, Koiviko, 1978), a doença de Kawasaki (Matsuno, Utagawa, Sugiura, 1983), o exantema súbito (Saitoh, Matsuno, Mukoyama, 1981), a intussuscepção (Konno *et al.*, 1977), o

abscesso hepático (Grunow, Dunton, Waner, 1985), a coagulação intravascular disseminada (Limbos & Lieberman, 1996), a hepatite transitória - crianças com imunodeficiência combinada - (Oishi *et al.*, 1991) e as síndromes de imunodeficiências (Gilger *et al.*, 1992; Oshitani *et al.*, 1994). Tais situações necessitando, até o momento, de comprovação científica. As situações que parecem fazer exceção a este caráter circunstancial são a diarreia prolongada nos imunodeprimidos (Saulsbury, Winkelstein, Yolken, 1980), a enterocolite necrotizante (Mogilner *et al.*, 1983) e a pneumatose intestinal da infância (Kapikian & Chanock, 1996).

2.7 Diagnóstico diferencial

A gastroenterite por rotavírus guarda semelhança com os quadros associados a vários outros agentes etiológicos, como, por exemplo, a *E. coli* enterotoxigênica e o vibrião colérico, tornando quase impossível estabelecer critérios clínicos bem definidos para diferenciação diagnóstica. A ordem de aparecimento dos principais sintomas (vômitos, febre e diarreia), a intensidade dos mesmos e a faixa etária envolvida (6 a 24 meses) suscitam uma forte suspeita da etiologia viral.

2.8 Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico laboratorial das gastroenterites por rotavírus permite confirmar um quadro clínico suspeito, promover a abordagem terapêutica correta, além de ampliar os conhecimentos sobre os aspectos clínico-epidemiológicos da infecção. Os métodos de diagnóstico envolvem a detecção do vírus e dos antígenos virais, bem como a resposta sorológica à infecção. Como a maioria desses métodos se

baseia na detecção dos vírus nas fezes, os espécimes coletados no período de maior excreção viral (primeiros 2-5 dias do início dos sintomas) oferecem maior probabilidade de confirmação diagnóstica (Stals, Walther, Bruggeman, 1984).

Os primeiros procedimentos diagnósticos envolveram a ME, que é considerado até hoje como o método de referência, principalmente diante de resultados conflitantes a partir de outros procedimentos laboratoriais. As vantagens desse procedimento incluem a alta especificidade (morfologia típica dos rotavírus), a rapidez diagnóstica e a detecção dos vírus em 80-90% dos espécimes (Brandt *et al.*, 1981). É possível incrementar a sensibilidade desse método com a adição prévia de anticorpos hiperimunes à preparação - imunomicroscopia eletrônica -, que permitem a identificação dos sorotipos e dos rotavírus atípicos - não pertencentes ao grupo A (Gerna *et al.*, 1985; Peñaranda *et al.*, 1989). Entretanto, fatores como o alto custo e a necessidade de pessoal qualificado restringem o uso desse recurso diagnóstico aos centros de pesquisa mais avançados (Brandt *et al.*, 1981).

Os testes sorológicos, e em escala crescente os moleculares, são os mais utilizados em todo o mundo, a partir do processamento de minúsculas quantidades de fezes, a fresco ou sob congelamento. São de baixo custo e fácil execução, bem como adequados a laboratórios de pequeno porte e até mesmo a hospitais, com relativa sensibilidade (70-100%). Esses testes constituem a rotina diagnóstica dos rotavírus. Faz-se restrição ao uso desses métodos para o exame de espécimes fecais de recém-nascidos e de crianças que estão em aleitamento materno, pela grande ocorrência de falso-positivos. Entre as técnicas mais comumente utilizadas destacam-se: APL (aglutinação de partículas de látex), ELISA (ensaio imunoenzimático) e PAGE.

O método de escolha para detecção do antígeno viral é o ELISA, atualmente

disponível em kits comerciais para o diagnóstico de rotavírus pertencentes ao grupo A (Pereira *et al.*, 1985; Flewett *et al.*, 1989). É um procedimento de fácil execução, acessível a laboratórios de rotina, e atende a grande demanda de amostras fecais. Recentemente foram desenvolvidos testes imunoenzimáticos para detecção dos grupos B e C, porém, são restritos a poucos centros de pesquisa (Tsunemitsu, Jiang, Saif, 1992). Digna de nota, ainda, é a utilização de anticorpos monoclonais dirigidos às proteínas VP6 e VP7, que ensejam a classificação das cepas virais em subgrupos e sorotipos, de grande importância epidemiológica (Taniguchi *et al.*, 1987). Vale ressaltar que a boa performance desse teste está vinculada à disponibilidade de reagentes de elevada pureza química e reconhecida especificidade biológica. Quando esses critérios não são observados, surgem resultados falso-positivos com frequência. Estudos conduzidos no Brasil por Pereira *et al.* (1985) permitiram o desenvolvimento de um sistema imunoenzimático para a detecção de rotavírus e de adenovírus, e que vem sendo utilizado em âmbito nacional com grande valor em estudos epidemiológicos.

A APL vem se tornando um recurso prático na rotina diagnóstica. É disponível em forma de kits comerciais de baixo custo e os resultados são rápidos - cerca de 20 minutos - (Ishak, Gabbay, Ishak, 1988), o que facilita sua utilização em consultórios e hospitais pediátricos. As reações falso-positivas são raras, com exceção dos espécimes fecais de recém-nascidos em aleitamento materno, sugerindo razoável especificidade (Pai, Shahrabadi, Ince, 1985).

A expressiva presença do genoma viral no conteúdo fecal, oriundo da intensa multiplicação no intestino delgado, enseja a utilização da técnica PAGE, procedimento diagnóstico com sensibilidade e especificidade elevadas, que possibilita a detecção de perfis genômicos, mesmo daqueles rotavírus atípicos (B,

C, D, E, e F). Com este método fica evidenciada a grande diversidade dos perfis (eletroferotipos) de cepas que circulam em crianças (Mascarenhas *et al.*, 1988). Esses perfis são estabelecidos principalmente com base na velocidade de migração dos segmentos genômicos 10 e 11, que são classificados como curtos e longos.

Com o advento da biologia molecular, as técnicas de maior importância são o *dot-blot* (hibridização) e o PCR. A primeira se baseia na utilização de sondas moleculares, que são complexos que agrupam segmentos de uma cadeia simples de RNA de rotavírus marcados com enzimas ou biotina. Esses segmentos acoplam-se a seqüências homólogas de ácido nucleico previamente desnaturado, contidas no espécime clínico sob exame, resultando em pares (híbridos) estáveis, de fácil identificação (Echeverria, Sethabutr, Serichantalergs, 1993). A segunda técnica, reconhecida como a mais sensível e específica, tem como fundamento a amplificação enzimática de um gene viral presente na amostra sob exame, com o propósito primário de atingir níveis de detecção não alcançados com outros testes (Gouvea *et al.*, 1990). Cabe assinalar que esses testes, atualmente, ainda se restringem a centros de investigação científica.

Os métodos alternativos que visam a detecção da resposta imune, em geral, são os que incluem os antígenos virais de origem animal, com destaque para o ELISA, que detecta as imunoglobulinas específicas da classe IgA em amostras de fezes, saliva e suor (Yolken *et al.*, 1978).

2.9 Tratamento

O principal objetivo do tratamento na gastroenterite por rotavírus é a reposição precoce das perdas provocadas pelos vômitos e pela diarreia, com soluções contendo concentrações adequadas de água e eletrólitos. Nos casos

graves com comprometimento da consciência, estado de choque ou vômitos incoercíveis, entretanto, está indicada a administração de soro pela via parenteral (Sack, Sack, Black, 1981). A eficácia dessa medida tem sido confirmada em diversas regiões de clima temperado e tropical, envolvendo o tratamento de crianças eutróficas hospitalizadas com quadro diarréico, e em desnutridos com diarréia (Sach *et al.*, 1978; Santosham *et al.*, 1982). Atualmente, as investigações avançam para o aperfeiçoamento da fórmula com a substituição da glicose pela sacarose e com o suplemento de aminoácidos e das D-hexoses, que objetivam reduzir o volume fecal e a duração da diarréia, além de restabelecer o equilíbrio hidro-eletrolítico (Nalin *et al.*, 1978).

Os estudos sobre a eficácia das drogas antivirais nas infecções por rotavírus encontram-se em fase de experimentação *in vitro*. Nesse particular destacam-se os resultados com a Ribavirina, que exerce uma ação inibidora *in vitro* na replicação de cepas de rotavírus símios. Os ensaios com os derivados da adenosina, porém, não têm indicado qualquer ação terapêutica em potencial (Kitaoka *et al.*, 1986). As investigações com o ácido acetilsalicílico, na tentativa de inibição da síntese de prostaglandinas, desencadeantes do fenômeno secretório intestinal, também não têm oferecido resultados convincentes (Dodge, Hamdi, Walker, 1977).

O manejo dietético reserva grande importância no tratamento dessa infecção, pois tem o objetivo de preservar o estado nutricional, impedindo a instalação ou o agravamento da desnutrição. Recomenda-se a manutenção do aleitamento materno em livre demanda e, no caso de alimentação mista, a dieta habitual corrigindo-se os erros alimentares. Na vigência de sinais e sintomas de intolerância à lactose, o que pode ocorrer 10-14 dias após o início da infecção, com curta duração na maioria dos casos, recomendam-se fórmulas lácteas isentas daquele dissacarídeo (LeBaron

et al., 1990).

Postula-se que a proteção conferida pelo leite materno às infecções por rotavírus seja pela presença, na sua composição, de IgA secretora e dos fatores não imunes (alfa-1-antitripsina, lisozima, nucleotídeos e lactoferrina, entre outros), além da transferência de anticorpos maternos (Totterdell *et al.*, 1982; Linhares *et al.*, 1989). Nos indivíduos imunodeficientes com diarreia crônica por esses agentes, o leite materno, especificamente o colostro contendo os anticorpos específicos, tem sido utilizado com sucesso (Saulsbury, Winkelstein, Yolken, 1980). Por outro lado, o tratamento de crianças imunocompetentes com colostro ou leite de vaca imunizadas com rotavírus humanos tem oferecido resultados contraditórios, embora se observe declínio na excreção viral (Brunser *et al.*, 1992).

A utilização de antibióticos está definitivamente proscrita, exceto em casos restritos, como nos quadros disentéricos, pois podem sugerir associação com patógenos bacterianos. Quanto aos sintomáticos (adsorventes e constipantes intestinais), estão contra-indicados, alertando-se sobre os riscos e a ineficácia desses produtos, por não corrigirem os mecanismos básicos da diarreia, eliminarem o peristaltismo intestinal e terem efeito puramente cosmético nas fezes.

Como perspectivas atuais de tratamento destacam-se os estudos com a utilização da imunoglobulina oral de origem humana em crianças hospitalizadas. Os efeitos desses imunobiológicos na duração da diarreia, na gravidade dos sintomas, no tempo de permanência hospitalar e na excreção viral indicam resultados promissores (Guarino *et al.*, 1994). O emprego de probióticos (*Bifidobacterium bifidum* e o *Streptococcus thermophilus*) também tem sido avaliado, com os resultados preliminares sugerindo declínio da excreção viral em crianças internadas, e da taxa de infecção hospitalar (Saavedra *et al.*, 1994). Contudo, esses ensaios

científicos necessitam de estudos complementares visando a maior consistência científica.

2.10 Prevenção e controle

As investigações epidemiológicas indicando que as taxas de incidência das diarreias por rotavírus são similares nos países desenvolvidos e naqueles em desenvolvimento suscitam a hipótese de que a melhoria do saneamento básico, o abastecimento de água e o estímulo às práticas de higiene são medidas insuficientes para o controle efetivo de tal agravo (Bishop, 1993). A par disso, uma das alternativas sugeridas com essa finalidade seria o emprego da vitamina A, embora tal medida ainda seja objeto de controvérsia, como assinalam os recentes estudos desenvolvidos na Índia, no Nepal e no Sudão, por não traduzirem o impacto dessa suplementação na morbi-mortalidade infantil por diarreia (WHO/CDC 92.38). No Brasil, apesar dos resultados de um estudo prospectivo empregando a vitamina A em crianças da região nordeste mostrarem redução na incidência dos episódios graves de diarreia, não se observou a correlação entre a eficácia dessa suplementação com os agentes etiológicos envolvidos, inclusive os rotavírus (Barreto *et al.*, 1994). Diante desses fatos, justificam-se os esforços atuais para a obtenção de um imunizante efetivo no controle da diarreia, com a perspectiva de redução anual do número de óbitos na ordem de 500.000 a 1.000.000 em todo o mundo (De Zoysa & Feachem, 1985).

Os estudos em modelos animais demonstram que a imunidade intestinal é mais importante do que a conferida por anticorpos circulantes na redução da incidência ou gravidade da infecção (Coulson *et al.*, 1992; Matson *et al.*, 1993). Considerando esse fato, as investigações no estágio atual dirigem-se ao

desenvolvimento de vacinas orais contendo vírus vivos atenuados (Hoshino & Kapikian, 1994). As estratégias para a obtenção desses imunizantes iniciaram com os métodos Jennerianos e, atualmente, envolvem as técnicas da biologia molecular. Seguindo os procedimentos iniciais, três candidatas, monotípicas, à vacina foram submetidas a avaliação em estudos de campo no mundo, com duas obtidas a partir de amostras virais bovinas (RIT 4237 e WC3, ambas sorotipo G6) e, outra, a partir de cepas de origem símia (RRV MMU 18006, sorotipo G3) (Vesikari *et al.*, 1983; Clark *et al.*, 1986; Kapikian *et al.*, 1986).

A RIT 4237 foi obtida em 1971, a partir da amostra NCDV (*Nebraska Calf Diarrhoea Vírus*), após passagens sucessivas em cultura de tecidos e adaptação a temperaturas progressivamente mais baixas. As investigações conduzidas por Vesikari *et al.* (1985), na Finlândia, envolveram crianças de 6-12 meses, com esquema de 1 ou 2 doses, e demonstraram 55%-62% de proteção contra as diarreias por rotavírus no geral e 80%-89% contra os episódios mais graves. Sucederam-se estudos de campo em Gambia (Hanlon *et al.*, 1987), onde se obteve proteção de 30% com o esquema de três doses. Em Ruanda (De Mol *et al.*, 1986) e em reserva indígena do Arizona (EUA) (Santosham *et al.*, 1991), a mesma vacina não exibiu eficácia. Finalmente, em Lima, Peru, nos ensaios clínicos sob esquema de três doses, a proteção foi de 40%, quanto ao total das diarreias por rotavírus, e de 75%, quanto aos episódios mais graves (Lanata *et al.*, 1989b). Apesar desses últimos resultados, as investigações com esse imunizante foram descontinuadas, pela fraca imunogenicidade e baixa eficácia observada em países tropicais.

Outra candidata monovalente submetida a teste de campo foi a WC3, obtida após passagens sucessivas em cultura de tecidos de uma cepa de rotavírus oriunda de fezes de um bezerro recém-nascido diarreico (Clark *et al.*, 1986). As primeiras

avaliações de campo, envolvendo crianças de 3-11 meses na Filadélfia, EUA, demonstraram 76% de eficácia no global dos episódios de diarreia por rotavírus e 100% nos casos mais graves, quando administrada uma única dose, havendo predomínio do sorotipo G1 nessa região (Clark *et al.*, 1988). Entretanto, graus variáveis de proteção (0-50% contra episódios moderados a graves) foram observados nos ensaios clínicos desenvolvidos na República Central Africana (Bangui), Cincinatti e China (Bernstein *et al.*, 1990; Offit & Clark, 1995). Estudos com essa cepa também foram descontinuados.

Ainda no contexto das vacinas chamadas Jennerianas, vale ressaltar os ensaios com a cepa de origem animal MMU 18006 (RRV1), isolada de fezes de macaco *Rhesus* diarréico (Stuker, Shiro, Schimidt, 1980). Cabe registrar que há uma identidade antigênica entre a VP7 do vírus símio com o sorotipo G3 de rotavírus humano. Em geral, essa vacina mostrou-se mais imunogênica e reatogênica em crianças com idade abaixo de seis meses do que as vacinas de origem bovina. Foi testada em estudos de campo empreendidos nos EUA, Finlândia, Suécia e Venezuela, com variações nas taxas de eficácia. Na Suécia (Gothefords *et al.*, 1989), alcançou-se proteção de 40% quanto ao total dos episódios de diarreia e 100% no tocante aos mais graves. Em estudos na Venezuela (Perez-Schael *et al.*, 1990) observaram-se níveis de 70% contra todos os casos de diarreia, e 100% nos mais graves. A circulação do sorotipo G3 na área sob estudo parece justificar esses resultados satisfatórios.

A grande variabilidade nos resultados dos diversos estudos de campo com tais vacinas monotípicas se atribui ao fato das mesmas não oferecerem proteção contra os quatro sorotipos epidemiologicamente importantes, principalmente se avaliadas as crianças sem infecção prévia pelos rotavírus (Hoshino & Kapikian,

1994). Diante dessas limitações, procedeu-se ao desenvolvimento de vacinas consideradas como de segunda geração (estratégias Jennerianas modificadas), de natureza antigênica polivalente e com rearranjo genético, na tentativa de ampliar a proteção frente aos sorotipos G1 a G4. Essas amostras possuem a especificidade antigênica G conferida por gene viral de origem humana e são construídas em uma base genômica (dez segmentos) da cepa bovina (WC3) ou símia (RRV) (Midthun *et al.*, 1985; Clark *et al.*, 1988). Embora os estudos de campo tenham sido empreendidos considerando cada uma das amostras obtidas a partir de rearranjo genético, as investigações nos últimos dois anos apontam como as mais promissoras aquelas que combinam cepas com especificidades antigênicas para G1, G2, G3 e G4, por meio de co-cultivos, e envolvem amostras de origens símia e humana, compondo a preparação tetravalente (RRV-TV) (Foster & Wagstaff, 1998; Midthun & Kapikian, 1996).

Estudos preliminares de inocuidade (fase I) da RRV-TV, realizados em países desenvolvidos e nos integrantes do chamado Terceiro Mundo, indicaram que, em geral, a RRV-TV é isenta de efeitos colaterais, embora um expressivo número de reações febris tenha sido observado após a primeira dose. Acresçam-se a esses dados aqueles obtidos dos testes de fase II (imunogenicidade), em que as taxas de soroconversão foram significativas (66%-83%), principalmente quando a IgA é mensurada (Bishop, 1993; Glass, Gentsch, Smith, 1994; Perez-Schael *et al.*, 1994).

Com relação à eficácia, a maioria das investigações está limitada aos EUA e à América Latina. Os resultados preliminares desses estudos indicam que a proteção conferida é mais expressiva nos países desenvolvidos. Nesse contexto, cabe ressaltar os dois ensaios clínicos conduzidos nos EUA (Bernstein *et al.*, 1995;

Rennels *et al.*, 1996). Um dos estudos, utilizando o esquema de três doses (4 x 10.000 pfu - unidades formadoras de placa -/dose), registrou uma taxa de proteção da ordem de 57% contra o total de casos de diarreia (principalmente pelo sorotipo G1), após dois anos de acompanhamento. A eficácia foi superior a 80% frente aos episódios de maior gravidade (Bernstein *et al.*, 1995). No tocante à imunogenicidade, foram detectados baixos níveis de anticorpos neutralizantes específicos para cada sorotipo (G1 a G4), em contraste com os elevados índices de soroconversão (90%) para o componente símio. Resultados similares foram alcançados em estudo ulterior, que abrangeu 1.278 crianças de 24 cidades nos EUA (Rennels *et al.*, 1996). Foram administradas três doses de RRV-TV mais concentrada (4×10^5 pfu/dose) ou placebo a crianças saudáveis de 2, 4 e 6 meses de idade. Com este esquema obtiveram-se os seguintes níveis de proteção: 49%, 80% e 100%, em relação a todos os episódios diarreicos, àqueles mais graves e aos que culminaram com desidratação, respectivamente. Outros achados concordantes com os da investigação anterior foram a febrícula após a primeira dose (único efeito adverso), os níveis reduzidos de anticorpos neutralizantes sorotipo-específicos (4% a 31%) e as taxas de soroconversão, que alcançaram 90% entre os vacinados.

Na América do Sul, a eficácia da RRV-TV foi avaliada no Peru, Brasil e Venezuela. Os primeiros testes de campo realizados nos países em desenvolvimento foram conduzidos por Lanata *et al.* (1996), em Lima, Peru, abrangendo um grupo de 700 crianças. Nesse estudo, o emprego de três doses consecutivas da vacina determinou uma eficácia promissora (35%-65%) em relação aos quadros mais graves, particularmente os associados ao sorotipo G1. Não houve registro de efeitos adversos e a RRV-TV induziu soroconversão em 75% das crianças vacinadas e em 24% daquelas que receberam placebo. A resposta imune

dirigida para um dos sorotipos G, o 1, foi detectada em 64% no grupo de crianças que receberam três doses de vacina, contra 12% no grupo placebo.

No Brasil, os estudos sobre a imunogenicidade, inocuidade e eficácia da RRV-TV (4×10^4 pfu/dose) foram realizados em Belém, Pará, envolvendo 540 crianças (Linhares *et al.*, 1996). A eficácia global nos dois anos de investigação foi de 35% ($p = 0,03$). Por outro lado, quando se analisa o desempenho da vacina ao final de cada etapa, observou-se que, no primeiro ano, tal proteção foi expressiva (57%, $p = 0,008$), principalmente contra o tipo G1. No segundo período de estudo, no entanto, houve um sensível declínio da eficácia para 12%. Observou-se uma tendência à proteção contra os episódios com uma média de 6 ou mais de evacuações líquidas ou semilíquidas em 24 horas. No tocante aos efeitos adversos, o imunizante se mostrou inócuo, exceção ao registro de febrícula nos primeiros dias subsequentes à vacinação com a primeira dose. As taxas de soroconversão expressas por IgA específica foram significativas: 60% entre os vacinados e 33% no grupo placebo. Em contrapartida, os níveis de anticorpos neutralizantes dirigidos aos sorotipos G1 a 4 não excederam 20%, fato similar ao que ocorreu em outros estudos.

Uma extensa investigação de vigilância passiva (*catchment trial*) no âmbito ambulatorial/hospitalar foi recentemente concluída em Caracas, Venezuela (Pérez-Schael *et al.*, 1997), em que se administraram três doses da RRV-TV (4×10^5 pfu/dose) a 2.223 crianças com início aos 2 meses de idade, obedecendo a intervalos de quatro semanas. Os resultados apontam para uma eficácia de 88% contra os episódios graves de diarreia por rotavírus, alcançando 75% de proteção em relação aos quadros que complicaram com desidratação e 70% de declínio no número de hospitalizações.

Outros estudos com a RRV-TV (4×10^5 pfu/dose) foram recentemente concluídos, com destaque para os de Joensuu *et al.* (1997), que registraram uma eficácia de 91% em relação aos casos graves de gastroenterites por rotavírus. Resultados menos expressivos foram obtidos por Santosham *et al.* (1997), comparando a eficácia, inocuidade e imunogenicidade da RRV-TV com a monovalente (RRV-S1) em uma população de índios americanos.

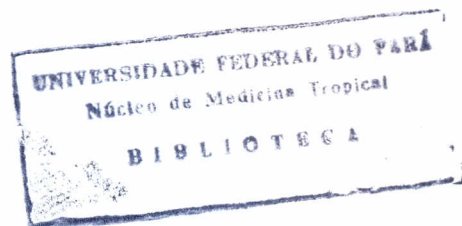
Informações adicionais de grande importância para futuras estratégias de vacinação são aquelas resultantes dos testes de campo desenvolvidos na Turquia (Ceyan *et al.*, 1993) e Tailândia (Migasena *et al.*, 1995). A contribuição do primeiro estudo refere-se à evidência de que o aleitamento materno não compromete a imunogenicidade da vacina; o segundo, por outro lado, conclui que não há fenômeno de interferência entre a vacina anti-pólio e a RRV-TV. Convém ressaltar, entretanto, que tais condições estão relacionadas ao esquema de três doses.

Cabe assinalar que, ao lado dos procedimentos acima mencionados, registram-se os designados não Jennerianos, que envolvem as cepas obtidas de berçário, as quais parecem naturalmente atenuadas (Bishop, 1993; Hoshino & Kapikian, 1994). O comportamento dessas cepas no recém-nascido produzindo infecções assintomáticas, e a proteção que parecem conferir contra as diarreias severas, pelo menos durante os três primeiros anos (Bishop, 1993), estimularam investigações de campo com as mesmas. Diversos estudos com finalidade de avaliar a inocuidade e a eficácia foram iniciados, com a maioria dos achados identificando a cepa como não indutora reações adversas, porém, com baixa imunogenicidade (Vesikari *et al.*, 1991).

Ao lado dos procedimentos referidos, registram-se as estratégias atuais com base na engenharia genética, com destaque para as chamadas sub-unidades de

vacinas como, por exemplo, os peptídeos virais (Matsui *et al.*, 1989) ou as proteínas expressas por um vetor (Midthun & Kapikian, 1996). Por outro lado, é imperativa a implantação de um sistema de vigilância das cepas circulantes, com o propósito de serem detectadas amostras virais eventualmente não integrantes das vacinas polivalentes em estudo (WHO/ CDC/ UNICEF, 1997).

As perspectivas atuais para obtenção de uma vacina eficaz contra os rotavírus, para uso em larga escala nos países em desenvolvimento, envolvem estudos adicionais com a RRV-TV, particularmente sobre a imunogenicidade, em áreas onde os níveis ideais de eficácia não foram alcançados.



3 CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 População de estudo

O presente estudo abrange 91 episódios de gastroenterite por rotavírus em crianças participantes de uma investigação conduzida em Belém, Pará, com o propósito de avaliar uma candidata a vacina contra rotavírus, tetravalente, produzida pelo laboratório Wyeth-Ayerst Research, Filadélfia, Pensilvânia, EUA. Tal investigação foi aprovada pelo Comitê de Ética Médica do Instituto Evandro Chagas, pelo Conselho Regional de Medicina, pela Secretaria Estadual de Saúde, pelo Ministério da Saúde do Brasil e pela Comissão de Ética da OMS, Genebra, Suíça.

A referida investigação foi desenvolvida na cidade de Belém, localizada no norte do Brasil, Amazônia oriental, na confluência dos rios Guamá e Pará. A região é de clima úmido e tropical, com intensas precipitações pluviométricas nos três primeiros meses do ano. A população é estimada em 1,5 milhão de habitantes, sendo que a metade vive sob precárias condições de saneamento básico. Os bairros envolvidos nessa investigação (Terra Firme, Guamá e Cremação) ocupam uma área de 8km², com elevadas densidades populacionais (350.000 habitantes no total), o que facilitou a operacionalização das atividades de campo no referido estudo. Vale ressaltar que estudos anteriores demonstraram a circulação dos quatro sorotipos de rotavírus nessa região, sendo o tipo G1 o mais freqüente (Linhares *et al.*, 1989).

O estudo básico transcorreu ao longo de dois anos, foi de carácter prospectivo, randomizado, duplo-cego, em que se administrou vacina ou placebo, na proporção de 1:1, a 540 crianças. O imunizante reunia quatro componentes a saber: a cepa-origem, RRV-TV, sorotipo G3, e três outras amostras geneticamente

rearranjadas, quais sejam: D x RRV, DS1 x RRV e ST3 x RRV, contendo genes 9 oriundos dos sorotipos humanos G1, 2 e 4, respectivamente, e os 10 restantes da amostra símia, a RRV. O placebo consistia de fluido de cultura de células não infectadas e, assim como a vacina, era mantido a 4°C. O esquema vacinal consistia de três doses, iniciando-se com uma no primeiro mês de vida, seguida de duas outras no terceiro e quinto meses, abrangendo 540, 513 e 495 crianças, respectivamente.

O cálculo do tamanho da amostra se fundamentou em estudos prévios sobre a incidência de rotavírus na região (Linhares *et al*, 1989) e foi estabelecido com base nas recomendações de Lanata & Black (1989a). A investigação foi concluída com 466 crianças, portanto, 86.3% das que efetivamente iniciaram o projeto, devido às perdas, ocorrendo principalmente em função de mudanças de residências das famílias. Em relação à eficácia, o estudo foi elaborado para detectar uma taxa mínima da ordem de 70% (nível de significância, α , de 5% e grau de confiança de 90%) em relação a todos os episódios de diarreia por rotavírus após dois anos de vigilância, sucedendo a vacinação. Para o cálculo do percentual de eficácia da vacina foram considerados apenas os episódios de diarreia por rotavírus registrados depois de decorridas duas semanas após a administração da 3ª dose, até completarem-se dois anos de observação (Lanata & Black, 1989a). Com isso, avaliou-se o impacto do esquema completo - 3 doses - e foram afastadas quaisquer respostas clínicas - efeitos colaterais - conseqüentes à administração da vacina.

A fórmula para o cálculo da eficácia está demonstrada abaixo:

$$\text{Eficácia (\%)} = 1 - \frac{\text{taxa de infecção no grupo vacina}}{\text{taxa de infecção no grupo placebo}} \times 100$$

3.2 Parâmetros clínicos

Os parâmetros clínicos que serão objeto de análise foram obtidos a partir das fichas clínicas utilizadas na vigilância dos episódios diarréicos do estudo básico. Nessa investigação, cada criança, transcorrida a primeira semana após a vacinação, era submetida a uma vigilância sistemática dos episódios diarréicos, o que consistia de duas visitas semanais até o final do estudo, com a finalidade de determinar a incidência dos episódios diarréicos e, posteriormente, estabelecer a eficácia da vacina. Frente a um caso de diarréia, procedeu-se a visitas diárias até o final do episódio, assim considerado quando a criança apresentava menos de três evacuações líquidas ou semilíquidas no intervalo de 48h ou mais. Para essa etapa do estudo foi treinado um grupo de visitantes domiciliares no reconhecimento dos diversos sinais e sintomas investigados, e que recebiam permanente supervisão. Quando identificada alguma condição clínica de maior gravidade (sinais de desidratação, por exemplo) era recomendada a avaliação por médico do *staff* do projeto e, se necessário, a criança era encaminhada para um atendimento de nível terciário, ou seja, hospitalar. Acresça-se que essas técnicas orientavam permanentemente as mães quanto à administração dos sais de reidratação oral às crianças diarréicas.

Os parâmetros indicativos de gravidade clínica figuram abaixo:

a) diarréia - três ou mais evacuações líquidas ou semilíquidas em um período de 24h, de acordo com a definição adotada pela OMS para estudos com a vacina contra os rotavírus;

- b) presença de vômitos;
- c) febre - temperatura retal $\geq 38^{\circ}\text{C}$;
- d) sinais de desidratação (critérios estabelecidos pela OMS);
- e) número máximo de evacuações líquidas ou semilíquidas ≥ 6 em 24h;
- f) número médio de evacuações líquidas ou semilíquidas ≥ 6 em 24h; e
- g) visita a hospitais ou centros de saúde.

A gravidade das diarreias por rotavírus foi determinada a partir de um sistema de escores clínicos que reúne sinais e sintomas como a duração e frequência da diarreia e vômitos, temperatura, desidratação e necessidade de tratamento, com a pontuação correspondente, e somatória máxima de 20 pontos (ver Tab. 1). Episódios com escores clínicos de 0 a 8, 9 a 14 e acima de 14, foram definidos como leves, moderados a graves e muito graves, respectivamente.

Tabela 1 - Escore clínico para avaliar a gravidade dos episódios de diarreia em estudos com a vacina contra rotavírus.

Sinais e sintomas clínicos	Escore
<i>Duração da diarreia</i>	
< 2 dias	1
2-3 dias	2
≥ 4 dias	3
<i>Número máximo de fezes diarréicas / 24h</i>	
< 3	0
3	1
4-5	2
≥ 6	3
<i>Duração dos vômitos</i>	
sem vômitos	0
1-2 dias	2
≥ 3 dias	3
<i>Número máximo de vômitos / 24h</i>	
1	1
2	2
≥ 3	3
<i>Febre (temp. retal)</i>	
< 38.1° C	0
38.1 -38.9	1
≥ 39.0° C	2
<i>Desidratação</i>	
Não	0
≤ 5%	2
> 5%	3
<i>Tratamento ambulatorial / hospitalar</i>	
Sim	3
Não	0

Fonte: modificado de Flores *et al*, 1987

3.3 Procedimentos laboratoriais

Durante o período do estudo original foram registrados 4.197 episódios diarréicos, e, em 1.990 (48%) foram coletadas amostras de fezes (ou swabs retais) para a detecção de rotavírus. Das 466 crianças que concluíram a investigação, houve registro de 131 episódios diarréicos por rotavírus, porém, somente 91 foram considerados para o referido estudo, por traduzirem os episódios que iniciaram

após 15 dias da terceira dose. Para a definição diagnóstica desses casos, os espécimes fecais e, em menor número os *swabs* retais, foram obtidos logo após a detecção de um episódio diarréico. As amostras foram transportadas para o laboratório dentro de 4 horas após a colheita, sob acondicionamento em caixas de isopor contendo gelo, e submetidas rotineiramente ao método ELISA para detecção de rotavírus (ou seus antígenos), utilizando-se o kit DAKOPATTS (Copenhague, Dinamarca), recomendado pela OMS (Flewett *et al.*, 1989). As etapas desse procedimento estão sucintamente descritas abaixo:

a) procede-se à adição de antisoro específico para rotavírus a um substrato rígido (microplacas ou tubos de plástico);

b) acresce-se o espécime sob teste, com possível antígeno viral, sob suspensão a 10-20%;

c) adicionam-se 75 μ L de conjugado enzimático (antisoro hiperimune para rotavírus produzido em coelho acoplado à peroxidase), diluído a 1:25 (v/v), em solução de cloreto de sódio a 0,085%, previamente clarificada a 2000-3000 rotações por minuto; paralelamente, se acresce o mesmo volume de controle positivo de antígeno, suprido com o kit. Assinale-se que, para cada espécime clínico, utilizam-se dois orifícios de uma determinada fileira (ex: A1 e A2);

d) procede-se a leve agitação da microplaca (ou *strips*), incubando-se por 15 minutos a temperatura ambiente (TA);

e) a seguir, aspira-se o conteúdo com o recurso de dispositivo semi-automático (*Nunc Immunowash*) e bomba de vácuo, observando-se o cuidado de descartá-lo em frasco contendo hipoclorito de sódio a 5%. Os orifícios são totalmente preenchidos com solução-tampão de fosfatos, pH 7,2 - 7,4, contendo Tween 20 (polisorbato) na concentração final de 0,1% (v/v) (P.B.S.-T),

permanecendo por 1 minuto à TA. Tal procedimento é repetido por mais quatro vezes e, entre cada lavagem, promove-se o esgotamento total dos orifícios, invertendo-se os *strips*, sob pressão, em papel espesso (tipo toalha);

d) sucede-se a deposição de 100 μ L/orifício da mistura correspondente ao substrato enzimático, qual seja, solução estabilizada de tetrametil-benzidina e peróxido de hidrogênio na proporção de 1:10;

e) após três minutos à TA, procede-se à leitura dos resultados à simples observação visual. As amostras positivas denotam cor azul intensa, comparável àquela do controle antigênico. As medidas de densidade óptica (efetuadas em leitor de ELISA "Flow, Multiskan", filtro de 450 nm) são sistematicamente precedidas do bloqueio da reação cromogênica enzima-substrato, a partir do acréscimo de 100 μ L, em todos os orifícios, de solução 1M de ácido sulfúrico. A coloração primária converte-se para o amarelo, sendo indicativa de positividade. O resultado positivo, quantitativamente, traduz-se por : a densidade óptica da amostra-problema menos a do controle é $\geq 0,1$; e a divisão do primeiro valor pelo segundo deve alcançar o quociente de $\geq 0,4$. Portanto, o diagnóstico da infecção por rotavírus se estabelece somente quando esses dois critérios são observados.

A determinação de sorotipos G de rotavírus foi estabelecida com base na utilização de anticorpos monoclonais, como descrito por Taniguchi *et al.* (1987), havendo confirmação dos resultados no *Department of Hygiene and Epidemiology, Sapporo Medical College, Sapporo, Japão*. As cepas não sorotipadas por essa técnica foram submetidas ao procedimento de imunomicroscopia eletrônica em fase sólida SPIEM (imunomicroscopia eletrônica em fase sólida), no *Instituto di Malattie Infettive, Universidade de Pavia, Itália* (Gerna *et al.*, 1985).

Somente os materiais positivos foram testados quanto à presença de outros

enteropatógenos, bactérias e parasitos, com base na metodologia que é descrita no *WHO Manual for Laboratory Investigation of Acute Enteric Infections*, Programa de Controle de Doenças Diarreicas, CDD/833. Todas as amostras de EPEC (*E. coli* enteropatogênica) identificadas nesse estudo foram submetidas a métodos específicos e sensíveis no *Enteric Diseases Laboratory, Center for Disease Control and Prevention*, Atlanta, EUA, e testadas quanto à presença do fator de enteroaderência (EAF) como previamente descrito (Levine *et al.*, 1988). Todas as amostras fecais positivas para rotavírus foram rotineiramente examinadas pelas técnicas convencionais de parasitoscopia, além do emprego do método modificado Ziehl-Nielsen para a detecção do *Cryptosporidium* sp. (Garcia *et al.*, 1983).

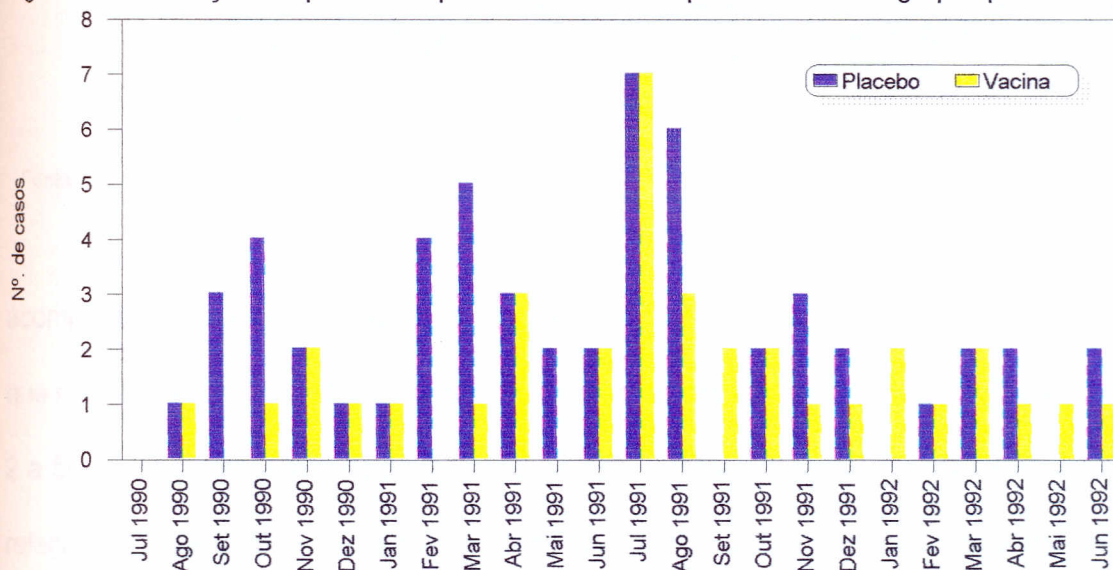
3.4 Análise estatística dos dados

Os métodos estatísticos utilizados para análise envolveram o teste do qui-quadrado (χ^2) com a correção de Mantel-Haenszel e o teste exato de Fisher, quando aplicável. Os resultados estatisticamente significativos foram considerados se o valor de p foi $\leq 0,05$ (grau de confiança de 95%). Na análise da eficácia foi utilizado o programa estatístico SPSS/PC+, *Statistical Data Analysis*, Chicago, IL, EUA.

4 RESULTADOS

Na distribuição mensal dos 91 episódios diarréicos considerados para avaliar a eficácia da RRV-TV observou-se que na primeira metade do período, em seis dos meses de observação as freqüências se equivaleram e, em cinco, predominaram nas crianças que receberam placebo. Em contrapartida, na segunda metade do período, em pelo menos três meses a freqüência de diarréia por rotavírus no grupo vacina foi superior a do placebo (ver Fig.1).

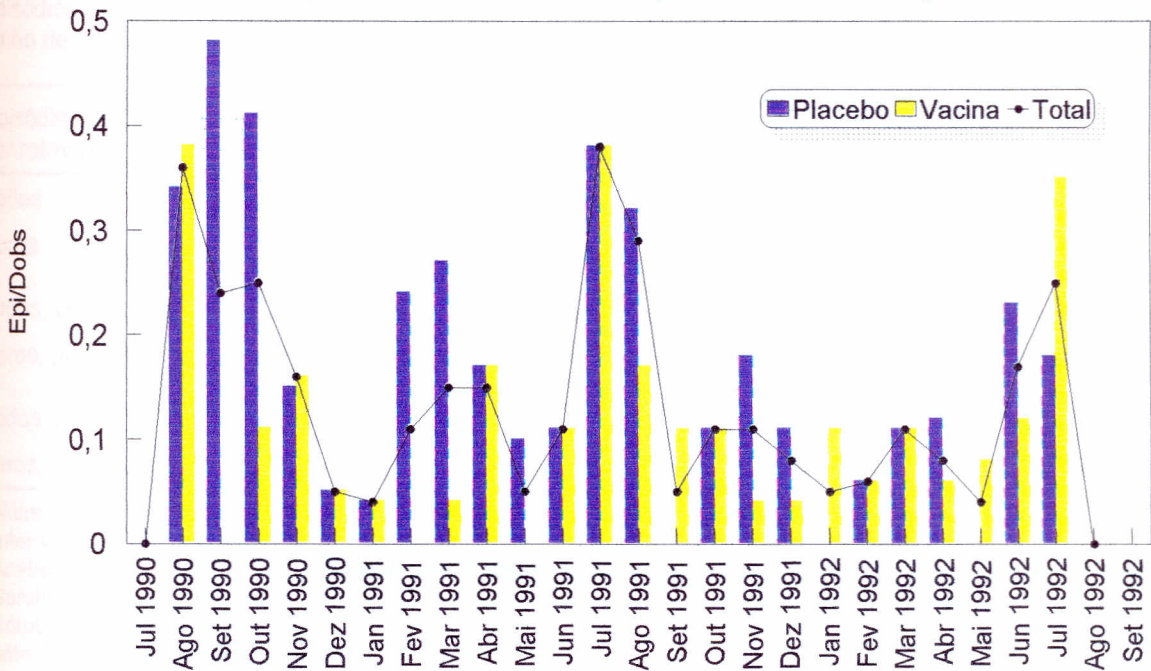
Figura 1 - Distribuição temporal dos episódios de diarréia por rotavírus nos grupos placebo e vacina.



Fonte: Pesquisa da autora

A análise de incidência (número de episódios/dias de observação) de diarreia por rotavírus, nos três anos de acompanhamento, revelou índices significativamente superiores nos meses de junho a setembro, se comparados aos de outros meses no mesmo período de estudo ($p < 0,0007$) (ver Fig. 2).

Figura 2 - Taxas de diarreia por rotavírus durante o acompanhamento das crianças.



Epi/Dobs = número de episódios por dias de observação

Fonte: Pesquisa da autora

A Tabela 2 resume a eficácia da RRV-TV nos dois anos de acompanhamento. Nesse período ocorreram 55 episódios no grupo placebo e 36 no que recebeu a vacina. Registraram-se níveis de proteção de 35% ($p=0,03$, I.C. 95%, 2 a 56) contra todos os episódios diarreicos e 37% ($p=0,04$, I.C. 95%, 1 a 59) em relação àqueles considerados puros (somente rotavírus detectados). Não se observaram eficácias significativas frente aos sorotipos G1 e G2.

Tabela 2 - Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) contra todos os episódios diarreicos, os episódios puros e em relação aos sorotipos específicos de rotavírus no período de julho de 1990 a junho de 1992.

Episódios de diarreia por rotavírus	Grupo Placebo (363) ¹	Grupo Vacina (361) ¹	% de eficácia (I.C., 95%) ²	p ³
Todos	55	36	35 (2 a 56)	0,03
Puros	46	29	37 (1 a 59)	0,04
Todos, por ST1 ⁴	32	24	25 (-25 a 55)	0,27
Puros, por ST1	27	19	29 (-25 a 60)	0,23
Todos, por ST2 ⁵	15	9	40 (-37 a 73)	0,22
Puros, por ST2	13	5	61 (-8 a 86)	0,06

¹ Números entre parênteses indicam nº de crianças / ano de observação

² Intervalo de confiança, 95%

³ Análise pelo qui-quadrado (significativo se < 0,05)

⁴ Sorotipo G1

⁵ Sorotipo G2

Fonte: Pesquisa da autora

A eficácia da RRV-TV no primeiro ano de observação está demonstrada na Tabela 3, em que se registrou maior proteção contra todos os episódios diarreicos e os puros (57%, p=0,008, I.C. 95%, 17 a 77 e 51%, p=0,03, I.C. 95%, 4 a 75, respectivamente). Quanto aos associados ao sorotipo G1, registraram-se níveis de eficácia de 55% (p=0,03, I.C. 95%, 2 a 78). Em relação ao sorotipo G2, observaram-se baixos níveis de eficácia, 32%, nos grupos analisados.

Tabela 3 - Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) contra todos os episódios diarreicos, os episódios puros e em relação aos sorotipos específicos de rotavírus no período de julho de 1990 a junho de 1991.

Episódios de diarreia por rotavírus	Grupo Placebo (160) ¹	Grupo Vacina (157) ¹	% de eficácia (I.C., 95%) ²	p ³
Todos	28	12	57 (17 a 77)	0,008
Puros	23	11	51 (4 a 75)	0,03
Todos, por ST1 ⁴	20	9	55 (2 a 78)	0,03
Puros, por ST1	17	8	52 (-8 a 79)	0,07
Todos, por ST2 ⁵	3	2	32 (-300 a 88)	1,00
Puros, por ST2	3	2	32 (-300 a 88)	1,00

¹ Números entre parênteses indicam nº de crianças / ano de observação

² Intervalo de confiança, 95%

³ Análise pelo qui-quadrado (significativo se < 0,05)

⁴ Sorotipo G1

⁵ Sorotipo G2

Fonte: Pesquisa da autora

A Tabela 4 denota a ausência de eficácia contra o sorotipo G1, assim como a falta de proteção conferida pela RRV-TV em relação aos episódios diarreicos associados ao sorotipo G2, no segundo ano de observação.

Tabela 4 - Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) contra todos os episódios diarreicos, os episódios puros e em relação aos sorotipos específicos de rotavírus no período de julho de 1991 a junho de 1992.

Episódios de diarreia por rotavírus	Grupo Placebo (203) ¹	Grupo Vacina (204) ¹	% de eficácia (I.C., 95%) ²	p ³
Todos	28	26	7 (-52 a 44)	0,75
Puros	23	18	22 (-39 a 57)	0,40
Todos, por ST1 ⁴	12	15	-25 (-156 a 40)	0,56
Puros, por ST1	10	11	-10 (-150 a 52)	0,83
Todos, por ST2 ⁵	12	7	42 (-45 a 77)	0,24
Puros, por ST2	11	7	37 (-61 a 75)	0,33

¹ Números entre parênteses indicam nº de crianças / ano de observação

² Intervalo de confiança, 95%

³ Análise pelo qui-quadrado (significativo se < 0,05)

⁴ Sorotipo G1

⁵ Sorotipo G2

Fonte: Pesquisa da autora

A Tabela 5 exibe a eficácia da RRV-TV quanto à duração da diarreia nos dois anos de acompanhamento. Nesse período registrou-se um efeito protetor

significativo em relação aos episódios diarréicos considerados puros, com duração superior a três dias, 52%, $p=0,03$, I.C. 95%, 3 a 76, além da tendência à proteção observada quando todos os episódios são considerados, 43%, $p=0,05$, I.C. 95%, 1 a 68. Não se observaram níveis expressivos de eficácia frente aos episódios relacionados aos sorotipos G1 e G2.

Tabela 5 - Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) quanto à duração da diarreia, no período de julho de 1990 a junho de 1992.

Duração da Diarreia (dias)	Grupo Placebo (n = 55)	Grupo Vacina (n = 36)	% de eficácia ¹ (I.C., 95%)	p ²
Todos os Episódios				
Média	5,0	4,2	-	-
> 3	30	17	43 (1 a 68)	0,05
Puros ³				
Média	5,1	3,1	-	-
>3	23	11	52 (3 a 76)	0,03
Todos os Episódios por ST1 ⁴				
média	5,3	4,9	-	-
>3	17	12	29 (-47 a 66)	0,35
Puros por ST1				
Média	5,3	3,3	-	-
> 3	14	7	50 (23 a 79)	0,12
Todos os Episódios por ST2 ⁵				
média	5,0	2,8	-	-
>3	8	4	50 (-66 a 85)	0,24
Puros por ST2				
Média	5,2	2,8	-	-
> 3	6	4	33 (-138 a 81)	0,75

¹ 363 e 361 crianças/ano de observação para placebo e vacina, respectivamente; intervalo de confiança, 95%.

² Análise pelo qui quadrado (significativo se $< 0,05$)

³ Somente rotavírus foram detectados

⁴ Sorotipo G1

⁵ Sorotipo G2

Fonte: Pesquisa da autora

A análise da eficácia no tocante à duração da diarreia no primeiro ano de estudo (ver Tab. 6) demonstrou maior proteção da RRV-TV quanto a todos os episódios (66%, $p=0,01$, I.C. 95%, 17 a 86), além de tendência à proteção àqueles

considerados puros (61%, $p=0,06$, I.C. 95%, 8 a 86) e aos relacionados ao sorotipo G1 (63%, $p=0,07$, I.C. 95%, -14 a 88). Quanto ao sorotipo G2, não se observou qualquer eficácia.

Tabela 6 - Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) quanto à duração da diarreia, no período de julho de 1990 a junho de 1991.

Duração da Diarreia (dias)	Grupo Placebo (n = 55)	Grupo Vacina (n = 36)	% de eficácia ¹ (I.C., 95%)	p ²
Todos os Episódios				
Média	5,8	4,9	—	—
> 3	18	6	66 (17 a 86)	0,01
Puros ³				
Média	5,8	3,8	—	—
>3	13	5	61 (8 a 86)	0,06
Todos os Episódios por ST1 ⁴				
média	6,0	4,7	—	—
>3	11	4	63 (-14 a 88)	0,07
Puros por ST1				
Média	6,0	3,1	—	—
> 3	9	3	66 (-23 a 91)	0,08
Todos os Episódios por ST2 ⁵				
média	6,0	6,5	—	—
>3	3	2	32 (-300 a 88)	1,00
Puros por ST2				
Média	8,0	6,5	—	—
> 3	1	2	-104 (2400 a 81)	0,62

¹160 e 157 crianças/ano de observação para placebo e vacina, respectivamente; intervalo de confiança, 95%.

²Análise pelo qui quadrado (significativo se $< 0,05$)

³Somente rotavírus foram detectados

⁴Sorotipo G1

⁵Sorotipo G2

Fonte: Pesquisa da autora

No segundo ano de acompanhamento a vacina apresentou baixos níveis de proteção em todos os grupos estudados (ver Tab. 7), não obstante as médias de duração da diarreia sejam expressivamente inferiores entre as crianças que receberam placebo, se comparadas às vacinadas, nos seguintes grupos: todos os episódios puros e aqueles associados ao sorotipo G2.

Tabela 7 - Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) quanto à duração da diarreia, no período de julho de 1991 a junho de 1992.

Duração da Diarreia (dias)	Grupo Placebo (n = 55)	Grupo Vacina (n = 36)	% de eficácia ¹ (I.C., 95%)	p ²
Todos os Episódios				
Média	4,2	3,9	-	-
> 3	12	11	9 (-100 a 59)	0,82
Puros ³				
Média	4,4	2,7	-	-
> 3	10	6	40 (-61 a 78)	0,30
Todos os Episódios por ST1 ⁴				
média	4,0	5,0	-	-
>3	6	8	-33 (-270 a 53)	0,59
Puros por ST1				
Média	4,1	3,4	-	-
> 3	5	4	21 (-194 a 78)	0,75
Todos os Episódios por ST2 ⁵				
média	4,7	2,0	-	-
>3	5	2	60 (-100 a 92)	0,28
Puros por ST2				
Média	5,0	2,0	-	-
> 3	5	2	60 (-100 a 92)	0,28

¹ 203 e 204 crianças/ano de observação para placebo e vacina, respectivamente; intervalo de confiança, 95%

² Análise pelo qui quadrado (significativo se < 0,05)

³ Somente rotavírus foram detectados

⁴ Sorotipo G1

⁵ Sorotipo G2

Fonte: Pesquisa da autora

A eficácia relativa da vacina em relação ao número máximo de evacuações superior a cinco nos dois anos de estudo (ver Tab. 8) foi significativa frente a todos os episódios e aos puros (42%, $p=0,04$, I.C. 95%, 0 a 66 e 53%, $p=0,01$, I.C. 95%, 13 a 75, respectivamente). Observou-se, ainda, tendência à proteção quanto aos considerados puros por sorotipo G1 (53%, $p=0,07$, I.C. 95%, -9 a 79). Nenhuma proteção contra os episódios causados pelo sorotipo G2 foi observada.

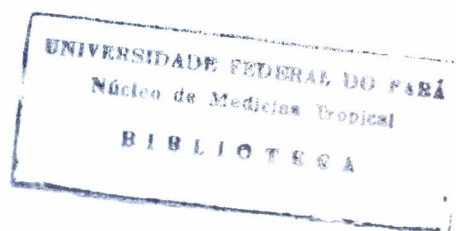


Tabela 8 - Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação ao número máximo de evacuações por dia, no período de julho de 1990 a junho de 1992.

Nº máximo de Evacuações	Grupo Placebo (n = 55)	Grupo Vacina (n = 36)	% de eficácia ¹ (I.C., 95%)	p ²
Todos os Episódios				
Média	7,6	6,0	—	—
> 5	33	19	42 (0 a 66)	0,04
Puros ³				
Média	8,1	5,4	—	—
> 5	30	14	53 (13 a 75)	0,01
Todos os Episódios por ST1 ⁴				
média	8,6	6,4	—	—
>5	19	12	36 (-28 a 69)	0,20
Puros por ST1				
Média	9,0	5,5	—	—
> 5	17	8	53 (-9 a 79)	0,07
Todos os Episódios por ST2 ⁵				
média	6,2	5,2	—	—
> 5	9	5	44 (- 64 a 81)	0,28
Puros por ST2				
Média	6,3	5,2	—	—
> 5	8	5	37 (- 89 a 79)	0,40

¹ 363 e 361 crianças/ano de observação para placebo e vacina, respectivamente; intervalo de confiança, 95%.

² Análise pelo qui quadrado (significativo se $< 0,05$)

³ Somente rotavírus foram detectados

⁴ Sorotipo G1

⁵ Sorotipo G2

Fonte: Pesquisa da autora

A Tabela 9 evidencia os níveis significativos de proteção conferidos pela RRV-TV frente a todos os episódios (57%, $p=0,03$, I.C. 95%, 5 a 81), e tendência a eficácia no tocante aos puros (55%, $p=0,06$, I.C. 95%, -5 a 81), durante o primeiro ano de acompanhamento. Com relação aos episódios associados aos sorotipos G1 e G2 não se observaram nítidos indicadores de proteção ($p>0,05$).

Tabela 9 - Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação ao número máximo de evacuações por dia, no período de julho de 1990 a junho de 1991.

Nº máximo de Evacuações	Grupo Placebo (n = 55)	Grupo Vacina (n = 36)	% de eficácia ¹ (I.C., 95%)	p ²
Todos os Episódios				
Média	8,3	6,2	—	—
> 5	19	8	57 (5 a 81)	0,03
Puros ³				
Média	8,8	6,1	—	—
> 5	16	7	55 (-5 a 81)	0,06
Todos os Episódios por ST1 ⁴				
média	9,0	6,1	—	—
> 5	13	6	53 (-20 a 82)	0,10
Puros por ST1				
Média	9,4	6,0	—	—
> 5	11	5	54 (-30 a 84)	0,13
Todos os Episódios por ST2 ⁵				
média	6,3	6,0	—	—
> 5	2	1	49 (-460 a 95)	0,57
Puros por ST2				
Média	6,0	6,0	—	—
> 5	1	1	-2 (-1567 a 94)	0,99

¹160 e 157 crianças/ano de observação para placebo e vacina, respectivamente; intervalo de confiança, 95%.

²Análise pelo qui quadrado (significativo se $< 0,05$)

³Somente rotavírus foram detectados

⁴Sorotipo G1

⁵Sorotipo G2

Fonte: Pesquisa da autora

No segundo período de acompanhamento, não se verificaram níveis significativos de eficácia em relação a todos os grupos investigados (ver Tab. 10).

Tabela 10 - Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação ao número máximo de evacuações por dia, no período de julho de 1991 a junho de 1992.

Nº máximo de Evacuações	Grupo Placebo (n = 55)	Grupo Vacina (n = 36)	% de eficácia ¹ (I.C., 95%)	p ²
Todos os Episódios				
Média	7,0	5,9	—	—
> 5	14	11	22 (-69 a 64)	0,53
Puros ³				
Média	7,4	5,1	—	—
> 5	14	7	50 (-20 a 80)	0,11
Todos os Episódios por ST1 ⁴				
média	7,8	6,5	—	—
> 5	6	6	0 (-203 a 67)	0,99
Puros por ST1				
Média	8,4	5,2	—	—
> 5	6	3	50 (-96 a 87)	0,31
Todos os Episódios por ST2 ⁵				
média	6,2	5,0	—	—
> 5	7	4	43 (-92 a 83)	0,35
Puros por ST2				
Média	6,4	5,0	—	—
> 5	7	4	43 (-92 a 83)	0,35

¹ 203 e 204 crianças/ano de observação para placebo e vacina, respectivamente; intervalo de confiança, 95%.

² Análise pelo qui quadrado (significativo se < 0,05)

³ Somente rotavírus foram detectados

⁴ Sorotipo G1

⁵ Sorotipo G2

Fonte: Pesquisa da autora

A eficácia da vacina RRV-TV no que se refere à duração dos vômitos não foi evidenciada nos dois anos de observação (ver Tab. 11), exceto frente aos episódios puros, em que se observou uma tendência à proteção (53%, p=0,07, I.C. 95%, -9 a 79).

Tabela 11 - Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) quanto à duração dos vômitos, no período de julho de 1990 a junho de 1992.

Duração dos Vômitos (dias)	Grupo Placebo (n = 55)	Grupo Vacina (n = 36)	% de eficácia ¹ (I.C., 95%)	p ²
Todos os Episódios				
Média	2,1	2,2	—	—
>2	19	12	36 (-28 a 69)	0,20
Puros ³				
Média	2,3	1,8	—	—
>2	17	8	53 (-9 a 79)	0,07
Todos os Episódios por ST1 ⁴				
média	1,9	2,8	—	—
>2	10	10	0 (-138 a 58)	0,99
Puros por ST1				
Média	1,9	2,2	—	—
>2	9	6	33 (-85 a 76)	0,44
Todos os Episódios por ST2 ⁵				
média	2,7	1,4	—	—
>2	7	2	71 (-37 a 94)	0,09
Puros por ST2				
Média	2,9	1,4	—	—
>2	6	2	66 (-64 a 93)	0,16

¹ 363 e 361 crianças/ano de observação para placebo e vacina, respectivamente; intervalo de confiança, 95%.

² Análise pelo qui quadrado (significativo se < 0,05)

³ Somente rotavírus foram detectados

⁴ Sorotipo G1

⁵ Sorotipo G2

Fonte: Pesquisa da autora

Resultados similares foram encontrados no primeiro ano de estudo (ver Tab.12). Entretanto, no segundo período de observação, registrou-se total proteção (100%, p=0,03), se considerados os casos de diarreia relacionados ao sorotipo G2 (ver Tab. 13). Aliás, eficácias que se refletem nas médias: 2,5 vs. 0,8 para placebo e vacina, respectivamente, em relação a todos os episódios, e 2,7 vs. 0,8, se tomados os puros.

Tabela 12 - Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) quanto à duração dos vômitos, no período de julho de 1990 a junho de 1991.

Duração dos Vômitos (dias)	Grupo Placebo (n = 55)	Grupo Vacina (n = 36)	% de eficácia ¹ (I.C., 95%)	p ²
Todos os Episódios				
Média	1,8	2,5	—	—
> 2	9	5	44 (-64 a 81)	0,29
Puros ³				
Média	1,8	2,1	—	—
> 2	7	4	42 (-96 a 83)	0,37
Todos os Episódios por ST1 ⁴				
média	2,4	1,5	—	—
>2	5	3	39 (-150 a 85)	0,49
Puros por ST1				
Média	1,4	1,7	—	—
> 2	4	2	49 (-178 a 91)	0,42
Todos os Episódios por ST2 ⁵				
média	3,3	4,5	—	—
>2	2	2	-2 (-614 a 86)	0,98
Puros por ST2				
Média	5,0	4,5	—	—
> 2	1	2	-104 (-2400 a 81)	0,55

¹ 160 e 157 crianças/ano de observação para placebo e vacina, respectivamente; intervalo de confiança, 95%.

² Análise pelo qui quadrado (significativo se < 0,05)

³ Somente rotavírus foram detectados

⁴ Sorotipo G1

⁵ Sorotipo G2

Fonte: Pesquisa da autora

Tabela 13 - Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) quanto à duração dos vômitos, no período de julho de 1991 a junho de 1992.

Duração dos vômitos (dias)	Grupo Placebo (n = 55)	Grupo Vacina (n = 36)	% de eficácia ¹ (I.C., 95%)	p ²
Todos os Episódios				
Média	2,4	2,1	-	-
> 2	10	7	31 (-79 a 73)	0,45
Puros ³				
Média	2,6	1,7	-	-
>2	10	4	60 (-25 a 87)	0,10
Todos os Episódios por ST1 ⁴				
média	2,4	3,0	-	-
> 2	5	7	39 (-335 a 55)	0,56
Puros por ST1				
Média	2,7	2,4	-	-
> 2	5	4	21 (-194 a 78)	0,73
Todos os episódios por ST2 ⁵				
média	2,5	0,8	-	-
> 2	5	0	100 -	0,03
Puros por ST2				
Média	2,7	0,8	-	-
> 2	5	0	100 -	0,03

¹ 203 e 204 crianças/ano de observação para placebo e vacina, respectivamente; intervalo de confiança, 95%.

² Análise pelo qui quadrado (significativo se < 0,05)

³ Somente rotavírus foram detectados

⁴ Sorotipo G1

⁵ Sorotipo G2

Fonte: Pesquisa da autora

A Tabela 14 exibe a eficácia da vacina em relação ao número máximo de vômitos por dia nos dois anos de estudo, com destaque para os níveis significativos de proteção, (56%, p=0,006, I.C. 95%, 19 a 76, e 62%, p=0,004, I.C. 95%, 25 a 81), frente a todos os episódios e aos puros, respectivamente. Com relação aos sorotipos, registrou-se uma expressiva proteção no que concerne a todos os episódios relacionados ao sorotipo G2, e aos puros, com número máximo de vômitos superior a dois (90%, p=0,006, I.C. 95%, 22 a 99, para ambos os grupos).

Tabela 14 - Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação ao número máximo de vômitos por dia, no período de julho de 1990 a junho de 1992.

Nº máximo de Vômitos	Grupo Placebo (n = 55)	Grupo Vacina (n = 36)	% de eficácia ¹ (I.C., 95%)	p ²
Todos os Episódios				
Média	3,4	2,6	—	—
> 2	32	14	56 (19 a 76)	0,006
Puros ³				
Média	3,8	2,5	—	—
> 2	29	11	62 (25 a 81)	0,004
Todos os Episódios por ST1 ⁴				
média	2,9	3,3	—	—
> 2	17	13	23 (-56 a 62)	0,46
Puros por ST1				
Média	3,1	3,2	—	—
> 2	14	10	28 (-59 a 68)	0,41
Todos os Episódios por ST2 ⁵				
média	4,1	1,5	—	—
> 2	10	1	90 (22 a 99)	0,006
Puros por ST2				
Média	4,9	1,5	—	—
> 2	10	1	90 (22 a 99)	0,006

¹ 363 e 361 crianças/ano de observação para placebo e vacina, respectivamente; intervalo de confiança, 95%.

² Análise pelo qui quadrado (significativo se $< 0,05$)

³ Somente rotavírus foram detectados

⁴ Sorotipo G1

⁵ Sorotipo G2

Fonte: Pesquisa da autora

No período de julho de 1990 a junho de 1991 houve tendência à proteção frente a todos os episódios diarréicos (57%, $p=0,09$, I.C. 95%, -18 a 85), enquanto que, nos demais grupos, a vacina não exibiu eficácia (ver Tab. 15).

Tabela 15 - Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação ao número máximo de vômitos por dia, no período de julho de 1990 a junho de 1991.

Nº máximo de Vômitos	Grupo Placebo (n = 55)	Grupo Vacina (n = 36)	% de eficácia ¹ (I.C., 95%)	p ²
Todos os Episódios				
Média	2,5	2,8	—	—
> 2	12	5	57 (-18 a 85)	0,09
Puros ³				
Média	2,8	2,9	—	—
> 2	10	5	49 (-45 a 82)	0,20
Todos os episódios por ST1 ⁴				
média	2,6	3,4	—	—
>2	9	5	44 (-64 a 81)	0,29
Puros por ST1				
Média	2,7	3,6	—	—
> 2	7	5	27 (-122 a 76)	0,58
Todos os episódios por ST2 ⁵				
média	1,3	2,0	—	—
>2	0	0	0 —	0
Puros por ST2				
Média	2,0	2,0	—	—
> 2	0	0	0 —	0

¹ 160 e 157 crianças/ano de observação para placebo e vacina, respectivamente; intervalo de confiança, 95%.

² Análise pelo qui quadrado (significativo se < 0,05)

³ Somente rotavírus foram detectados

⁴ Sorotipo G1

⁵ Sorotipo G2

Fonte: Pesquisa da autora

A Tabela 16, por sua vez, exibe os níveis significativos de eficácia em relação a todos os episódios e aqueles puros (55%, p=0,03, I.C. 95%, 4 a 79 e 69%, p=0,007, I.C. 95%, 23 a 87, respectivamente) no segundo ano de acompanhamento, assim como a proteção significativa frente aos episódios (todos e os puros) associados ao sorotipo G2 (90%, p=0,006, I.C. 95%, 23 a 99, para ambos os grupos).

Tabela 16 - Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação ao número máximo de vômitos por dia, no período de julho de 1991 a junho de 1992.

Nº máximo de Vômitos	Grupo Placebo (n = 55)	Grupo Vacina (n = 36)	% de eficácia ¹ (I.C., 95%)	p ²
Todos os Episódios				
Média	4,3	2,5	—	—
> 2	20	9	55 (4 a 79)	0,03
Puros ³				
Média	4,8	2,3	—	—
>2	19	6	69 (23 a 87)	0,007
Todos os episódios por ST1 ⁴				
média	3,4	3,3	—	—
> 2	8	8	0 (-163 a 62)	0,99
Puros por ST1				
Média	3,7	2,9	—	—
> 2	7	5	29 (-122 a 77)	0,55
Todos os episódios por ST2 ⁵				
média	4,8	1,4	—	—
> 2	10	1	90 (23 a 99)	0,006
Puros por ST2				
Média	5,2	1,4	—	—
> 2	10	1	90 (23 a 99)	0,006

¹ 203 e 204 crianças/ano de observação para placebo e vacina, respectivamente; intervalo de confiança, 95%.

² Análise pelo qui quadrado (significativo se < 0,05)

³ Somente rotavírus foram detectados

⁴ Sorotipo G1

⁵ Sorotipo G2

Fonte: Pesquisa da autora

Quanto ao parâmetro febre, a vacina não conferiu proteção nos dois anos de estudo, em relação a todos os grupos estudados, como exibido na Tabela 17.

Tabela 17 - Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação à febre, no período de julho de 1990 a junho de 1992.

Febre ¹	Grupo Placebo (n = 55)	Grupo Vacina (n = 36)	% de eficácia ² (I.C., 95%)	p ³
Todos os Episódios ≥ 38.1°C	7	9	-30 (-245 a 51)	0,61
Puros ⁴ ≥ 38.1°C	7	6	14 (-156 a 71)	0,79
Todos os episódios por ST1 ⁵ ≥ 38.1°C	3	8	-170 (-900 a 28)	0,13
Puros por ST1 ≥ 38.1°C	3	5	-67 (-614 a 60)	0,50
Todos os Episódios por ST2 ⁶ ≥ 38.1°C	4	1	75 (-122 a 97)	0,37
Puros por ST2 ≥ 38.1°C	4	1	75 (-122 a 97)	0,37

¹ Temperatura retal ≥ 38.1°C

² 363 e 361 crianças/ano de observação para placebo e vacina, respectivamente; intervalo de confiança, 95%.

³ Análise pelo qui quadrado (significativo se < 0,05)

⁴ Somente rotavírus foram detectados

⁵ Sorotipo G1

⁶ Sorotipo G2

Fonte: Pesquisa da autora

Achados similares foram observados na primeira e segunda fases do estudo

(ver Tab. 18 e 19).

Tabela 18 - Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação à febre, no período de julho de 1990 a junho de 1991.

Febre ¹	Grupo Placebo (n = 55)	Grupo Vacina (n = 36)	% de eficácia ² (I.C., 95%)	p ³
Todos os Episódios ≥ 38.1°C	3	4	-35 (-489 a 69)	0,72
Puros ⁴ ≥ 38.1°C	3	3	- 2 (-400 a 79)	1,00
Todos os episódios por ST1 ⁵ ≥ 38.1°C	3	4	-35 (-489 a 69)	0,72
Puros por ST1 ≥ 38.1°C	3	3	- 2 (-400 a 79)	1,00
Todos os episódios por ST2 ⁶ ≥ 38.1°C	0	0	0 -	-
Puros por ST2 ≥ 38.1°C	0	0	0 -	-

¹ Temperatura retal ≥ 38.1°C

² 160 e 157 crianças/ano de observação para placebo e vacina, respectivamente; intervalo de confiança, 95%.

³ Análise pelo qui quadrado (significativo se < 0,05)

⁴ Somente rotavírus foram detectados

⁵ Sorotipo G1

⁶ Sorotipo G2

Fonte: Pesquisa da autora

Tabela 19 - Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação à febre, no período de julho de 1991 a junho de 1992.

Febre ¹	Grupo Placebo (n = 55)	Grupo Vacina (n = 36)	% de eficácia ² (I.C., 95%)	p ³
Todos os Episódios ≥ 38.1°C	4	5	-25 (-355 a 66)	1,00
Puros ⁴ ≥ 38.1°C	4	3	25 (-233 a 83)	0,72
Todos os episódios por ST1 ⁵ ≥ 38.1°C	0	4	0 -	0,12
Puros por ST1 ≥ 38.1°C	0	2	0 -	0,50
Todos os episódios por ST2 ⁶ ≥ 38.1°C	4	1	75 (-122 a 97)	0,22
Puros por ST2 ≥ 38.1°C	4	1	75 (-122 a 97)	0,22

¹ Temperatura retal ≥ 38.1°C

² 203 e 204 crianças/ano de observação para placebo e vacina, respectivamente; intervalo de confiança, 95%.

³ Análise pelo qui quadrado (significativo se < 0,05)

⁴ Somente rotavírus foram detectados

⁵ Sorotipo G1

⁶ Sorotipo G2

Fonte: Pesquisa da autora

Durante os dois anos de avaliação, observou-se expressiva eficácia da RRV-TV quanto à desidratação, em todos os episódios diarreicos e naqueles puros (42%, p=0,02, I.C. 95%, 8 a 63, e 48%, p=0,01, I.C. 95%, 12 a 70, respectivamente). A vacina não exibiu proteção no que se refere aos casos relacionados com o sorotipo G1. Nos episódios com desidratação causados pelo sorotipo G2 houve tendência à proteção (57%, p=0,07, I.C. 95%, -11 a 83) (ver Tab. 20).

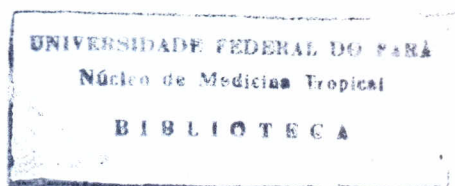


Tabela 20 - Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) quanto à desidratação, no período de julho de 1990 a junho de 1992.

Desidratação	Grupo Placebo (n = 55)	Grupo Vacina (n = 36)	% de eficácia ¹ (I.C., 95%)	p ²
Todos os Episódios c/ desidratação severa (≥ 6%)	45 5	26 4	42 (8 a 63) 19 (-194 a 78)	0,02 1,00
Puros ³ c/ desidratação severa (≥ 6%)	37 5	19 2	48 (12 a 70) 60 (-104 a 92)	0,01 0,45
Todos os episódios por ST1 ⁴ c/ desidratação severa (≥ 6%)	24 2	17 4	29 (-30 a 61) -100 (-1010 a 63)	0,27 0,45
Puros por ST1 c/ desidratação severa (≥ 6%)	20 2	12 2	40 (-22 a 70) 0 (-614 a 86)	0,15 1,00
Todos os episódios por ST2 ⁵ c/ desidratação severa (≥ 6%)	14 2	6 0	57 (-11 a 83) 100 -	0,07 0,50
Puros por ST2 c/ desidratação severa (≥ 6%)	12 2	6 0	50 (-33 a 81) 100 -	0,15 0,50

¹ 363 e 361 crianças/ano de observação para placebo e vacina, respectivamente; intervalo de confiança, 95%.

² Análise pelo qui quadrado (significativo se < 0,05)

³ Somente rotavírus foram detectados

⁴ Sorotipo G1

⁵ Sorotipo G2

Fonte: Pesquisa da autora

Na primeira fase do acompanhamento, registrou-se um nível protetor significativo (51%, p=0,04, I.C. 95%, 0 a 76) contra todos os episódios com desidratação, o que não se observou nos demais grupos. Aliás é notório o número reduzido de casos diarreicos com desidratação severa (ver Tab. 21).

Tabela 21 - Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) quanto à desidratação, no período de julho de 1990 a junho de 1991.

Desidratação	Grupo Placebo (n = 55)	Grupo Vacina (n = 36)	% de eficácia ¹ (I.C., 95%)	p ²
Todos os Episódios				
c/ desidratação severa (≥ 6%)	21 1	10 1	51 (0 a 76) -2 (-1566 a 94)	0,04 1,00
Puros ³				
c/ desidratação severa (≥ 6%)	15 1	9 1	39 (-35 a 72) -2 (-1566 a 94)	0,22 1,00
Todos os Episódios por ST1 ⁴				
c/ desidratação severa (≥ 6%)	14 1	7 1	49 (-23 a 79) -2 (-1566 a 94)	0,12 1,00
Puros por ST1				
c/ desidratação severa (≥ 6%)	11 1	6 1	44 (-47 a 79) -2 (-1566 a 94)	0,23 1,00
Todos os episódios por ST2 ⁵				
c/ desidratação severa (≥ 6%)	3 0	2 0	32 (-300 a 88) 0 -	1,00 -
Puros por ST2				
c/ desidratação severa (≥ 6%)	1 0	2 0	-104 (-2400 a 81) 0 -	0,62 -

¹ 160 e 157 crianças/ano de observação para placebo e vacina, respectivamente; intervalo de confiança, 95%.

² Análise pelo qui quadrado (significativo se < 0,05)

³ Somente rotavírus foram detectados

⁴ Sorotipo G1

⁵ Sorotipo G2

Fonte: Pesquisa da autora

Analisando os resultados do segundo ano, a vacina demonstrou expressiva eficácia em relação aos episódios considerados puros (55%, p=0,03, I.C. 95%, 7 a 78), além de tendência à proteção àqueles associados ao sorotipo G2, todos e puros (64%, p=0,06, I.C. 95%, -12 a 88) (ver Tab. 22).

Tabela 22 - Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) quanto à desidratação, no período de julho de 1991 a junho de 1992.

Desidratação	Grupo Placebo (n = 55)	Grupo Vacina (n = 36)	% de eficácia ¹ (I.C., 95%)	p ²
Todos os Episódios c/ desidratação severa (≥ 6%)	24 4	16 3	34 (-20 a 64) 25 (-233 a 83)	0,18 0,72
Puros ³ c/ desidratação severa (≥ 6%)	22 4	10 1	55 (7 a 78) 75 (-122 a 97)	0,03 0,22
Todos os episódios por ST1 ⁴ c/ desidratação severa (≥ 6%)	10 1	10 3	0 (-132 a 58) -203 (-2400 a 69)	0,99 0,62
Puros por ST1 c/ desidratação severa (≥ 6%)	9 1	6 1	34 (-82 a 76) 0 (-1566 a 94)	0,42 1,00
Todos os Episódios por ST2 ⁵ c/ desidratação severa (≥ 6%)	11 2	4 0	64 (-12 a 88) 100 -	0,06 0,25
Puros por ST2 c/ desidratação severa (≥ 6%)	11 2	4 0	64 (-12 a 88) 100 -	0,06 0,25

¹ 203 e 204 crianças/ano de observação para placebo e vacina, respectivamente; intervalo de confiança, 95%.

² Análise pelo qui quadrado (significativo se $< 0,05$)

³ Somente rotavírus foram detectados

⁴ Sorotipo G1

⁵ Sorotipo G2

Fonte: Pesquisa da autora

Eficácias expressivas foram registradas em relação à necessidade de tratamento em todos os episódios (42%, $p=0,01$, I.C. 95%, 12 a 62), nos puros (46%, $p=0,01$, I.C. 95%, 12 a 67) e tendência à proteção naqueles puros associados ao sorotipo G1 (48%, $p=0,05$, I.C. 95%, 0 a 73), no período de julho de 1990 a junho de 1992. No que se refere à hospitalização, nessa mesma fase, configurou-se efeito protetor da vacina frente a todos os episódios analisados (56%, $p=0,06$, I.C. 95%, -5 a 82), e em relação aos quadros considerados puros (60%, $p=0,05$, I.C. 95%, -2 a

84) (ver Tab. 23).

Tabela 23 - Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação à necessidade de tratamento, no período de julho de 1990 a junho de 1992.

Tratamento	Grupo Placebo (n = 55)	Grupo Vacina (n = 36)	% de eficácia ¹ (I.C., 95%)	p ²
Todos os Episódios				
Reidratação	52	30	42 (12 a 62)	0,01
Hospitalização	16	7	56 (-5 a 82)	0,06
Puros ³				
Reidratação	43	23	46 (12 a 67)	0,01
Hospitalização	15	6	60 (-2 a 84)	0,05
Todos os Episódios por ST1 ⁴				
reidratação	29	18	37 (-10 a 65)	0,10
hospitalização	10	5	50 (-45 a 83)	0,20
Puros por ST1				
Reidratação	25	13	48 (0 a 73)	0,05
Hospitalização	9	4	55 (-43 a 86)	0,17
Todos os episódios por ST2 ⁵				
reidratação	15	9	40 (-37 a 73)	0,22
hospitalização	3	2	33 (-300 a 89)	1,00
Puros por ST2				
Reidratação	12	9	25 (-75 a 68)	0,52
Hospitalização	3	2	33 (-300 a 89)	1,00

¹ 363 e 361 crianças/ano de observação para placebo e vacina, respectivamente; intervalo de confiança, 95%.

² Análise pelo qui quadrado (significativo se < 0,05)

³ Somente rotavírus foram detectados

⁴ Sorotipo G1

⁵ Sorotipo G2

Fonte: Pesquisa da autora

Durante o primeiro período da análise, os resultados apontaram para níveis de eficácia expressivos em relação à necessidade de tratamento, que se refletem nos grupos que reúnem todos os episódios (61%, p=0,006, I.C. 95%, 21 a 80), puros (54%, p=0,04, I.C. 95%, p= 2 a 78) e aqueles associados ao sorotipo G1 (60%, p=0,03, I.C. 95%, 7 a 83). Em relação aos puros por G1, denota-se tendência à proteção (59%, p= 0,05, I.C. 95%, -2 a 84). Quanto à internação hospitalar, efeitos similares de proteção foram assinalados no tocante a todos os episódios e aos classificados como puros (80%, p= 0,02, I.C. 95%, 8 a 95, para ambos os grupos)

(ver Tab. 24).

Tabela 24 - Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação à necessidade de tratamento, no período de julho de 1990 a junho de 1991.

Tratamento	Grupo Placebo (n = 55)	Grupo Vacina (n = 36)	% de eficácia ¹ (I.C., 95%)	p ²
Todos os Episódios				
Reidratação	26	10	61 (21 a 80)	0,006
Hospitalização	10	2	80 (8 a 95)	0,02
Puros ³				
Reidratação	20	9	54 (2 a 78)	0,04
Hospitalização	10	2	80 (8 a 95)	0,02
Todos os episódios por ST1 ⁴				
reidratação	18	7	60 (7 a 83)	0,03
hospitalização	6	1	83 (-39 a 98)	0,12
Puros por ST1				
Reidratação	15	6	59 (-2 a 84)	0,05
Hospitalização	6	1	83 (-39 a 98)	0,12
Todos os episódios por ST2 ⁵				
reidratação	3	2	32 (-300 a 88)	1,00
hospitalização	1	1	-2 (-1567 a 94)	1,00
Puros por ST2				
Reidratação	1	2	-104 (-2400 a 81)	0,62
Hospitalização	1	1	-2 (-1567 a 94)	0,66

¹ 160 e 157 crianças/ano de observação para placebo e vacina, respectivamente; intervalo de confiança, 95%.

² Análise pelo qui quadrado (significativo se < 0,05).

³ Somente rotavírus foram detectados.

⁴ Sorotipo G1

⁵ Sorotipo G2

Fonte: Pesquisa da autora

No segundo ano (ver Tab. 25), entretanto, a vacina não conferiu proteção se analisados todos os grupos.

Tabela 25 - Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação à necessidade de tratamento, no período de julho de 1991 a junho de 1992.

Tratamento	Grupo Placebo (n = 55)	Grupo Vacina (n = 36)	% de eficácia ¹ (I.C., 95%)	p ²
Todos os Episódios				
Reidratação	26	20	24 (33 a 56)	0,34
Hospitalização	6	5	17 (-170 a 74)	0,75
Puros ³				
Reidratação	23	14	39 (-15 a 68)	0,12
Hospitalização	5	4	21 (-194 a 78)	0,75
Todos os episódios por ST1 ⁴				
reidratação	11	11	0 (-122 a 56)	0,99
hospitalização	4	4	0 (-300 a 75)	1,00
Puros por ST1				
Reidratação	10	7	31 (-79 a 73)	0,45
Hospitalização	3	3	0 (-376 a 80)	1,00
Todos os episódios por ST2 ⁵				
reidratação	12	7	42 (-45 a 77)	0,24
hospitalização	2	1	50 (-456 a 95)	0,62
Puros por ST2				
Reidratação	11	7	37 (-61 a 75)	0,33
Hospitalização	2	1	50 (-456 a 95)	0,62

¹ 203 e 204 crianças/ano de observação para placebo e vacina, respectivamente; intervalo de confiança, 95%.

² Análise pelo qui quadrado (significativo se $< 0,05$).

³ Somente rotavírus foram detectados.

⁴ Sorotipo G1

⁵ Sorotipo G2

Fonte: Pesquisa da autora

A Tabela 26 sumaria as condições clínicas em que a RRV-TV exibiu expressiva eficácia ($p < 0,05$). Vale ressaltar que o efeito protetor nos referidos parâmetros clínicos registrou-se contra todos os episódios e aqueles puros, exceto na duração da diarreia, em que a eficácia se refletiu apenas nesse último grupo.

Tabela 26 - Resumo das condições clínicas em que a vacina tetravalente (RRV-TV) revelou eficácia.

Parâmetros clínicos	Número no grupo placebo (363) ¹	Número no grupo vacina (361) ¹	% de eficácia (I.C. 95%) ²	p ³
Duração da diarreia (>3 dias)				
Puros	23	11	52 (3 a 76)	0,03
Nº máximo de evacuações (>5)				
Todos	33	19	42 (0 a 66)	0,04
Puros	30	14	53 (13 a 75)	0,01
Nº máximo de vômitos (> 2)				
Todos	32	14	56 (19 a 76)	0,006
Puros	29	11	62 (25 a 81)	0,004
Desidratação				
Todos	45	26	42 (8 a 63)	0,02
Puros	37	19	48 (12 a 70)	0,01
Tratamento Reidratação				
Todos	52	30	42 (12 a 62)	0,01
Puros	43	23	46 (12 a 67)	0,01

¹ Números entre parênteses indicam nº de crianças / ano de observação

² Intervalo de confiança, 95%

³ Análise pelo qui-quadrado (significativo se < 0,05)

Fonte: Pesquisa da autora

A eficácia da RRV-TV (4×10^4 pfu/dose) frente a todos os episódios diarreicos e aos puros, de acordo com as faixas de gravidade clínica, está sumariada na Tabela 27. A vacina não exibiu níveis protetores contra os episódios classificados como de leve intensidade (escore de 0 a 8), porém, ofereceu moderada proteção contra todos os casos e os puros com escores clínicos de 9 a 14 (44%, $p=0,06$, I.C. 95%, 0 a 70, e 45%, $p=0,08$, I.C. 95%, -9 a 73, respectivamente). Com relação aos quadros considerados muito graves (escore>14), a RRV-TV conferiu níveis expressivos de proteção, 75% ($p=0,02$, I.C. 95%, 12 a 93), se considerados os episódios diarreicos puros.

Tabela 27- Eficácia da vacina tetravalente (RRV-TV) em relação aos escores clínicos de gravidade¹

Episódios de diarreia por rotavírus	Número de episódios com escore clínico de						% de eficácia (I.C., 95%) ²		
	0 - 8		9 - 14		≥ 15		frente aos escores clínicos		
	Placebo	Vacina	Placebo	Vacina	Placebo	Vacina	0 - 8	9 - 14	≥ 15
Todos	9	8	27	15	12	6	11(-130-65)	44 (0-70)	50 (-33- 81)
Puros	6	7	22	12	12	3	-18(-245- 60)	45 (-9 -73)	75 (12-93) ³

¹ Sistema de escores clínicos modificado por Flores *et al.*, 1987

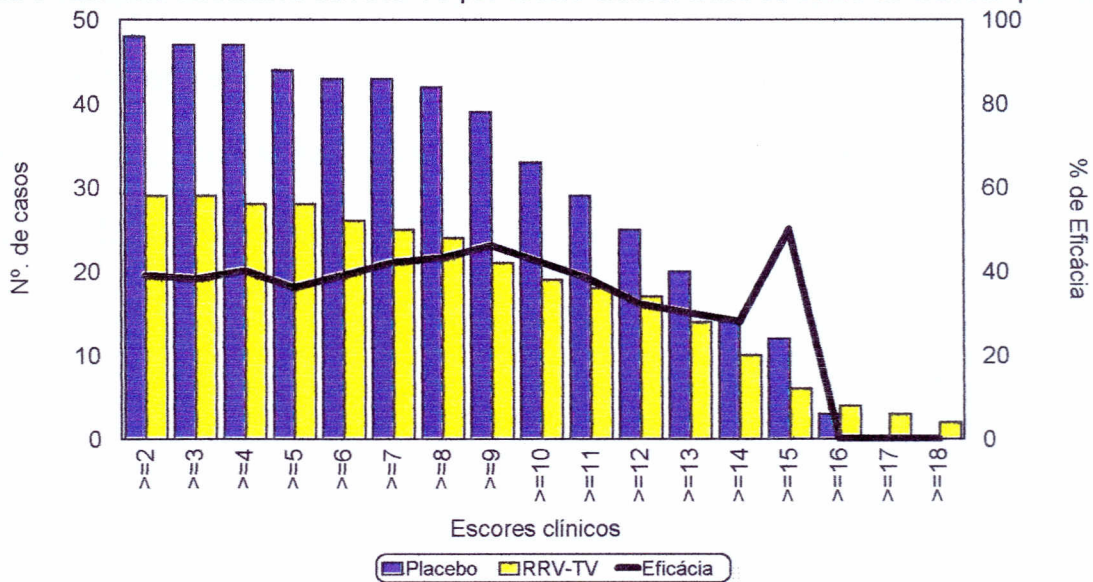
² 363 e 361 crianças/ano de observação para placebo e vacina, respectivamente; intervalo de confiança, 95%.

³ $p < 0,05$

Fonte: Pesquisa da autora

A curva da eficácia cumulativa da RRV-TV, em todos os casos de diarreia por rotavírus (Fig. 3), apresenta tendência a manter-se estável (39% a 46%), com base nos escores clínicos de ≥ 2 a ≥ 9 . Observa-se, a partir desse nível, um discreto decréscimo até o escore ≥ 14 (28%), seguida de uma nítida ascensão, com um nível máximo de 50%, nos casos que expressam maior gravidade (escore ≥ 15).

Figura 3 - Eficácia cumulativa da RRV-TV por escore clínico: todos os casos de diarreia por rotavírus.

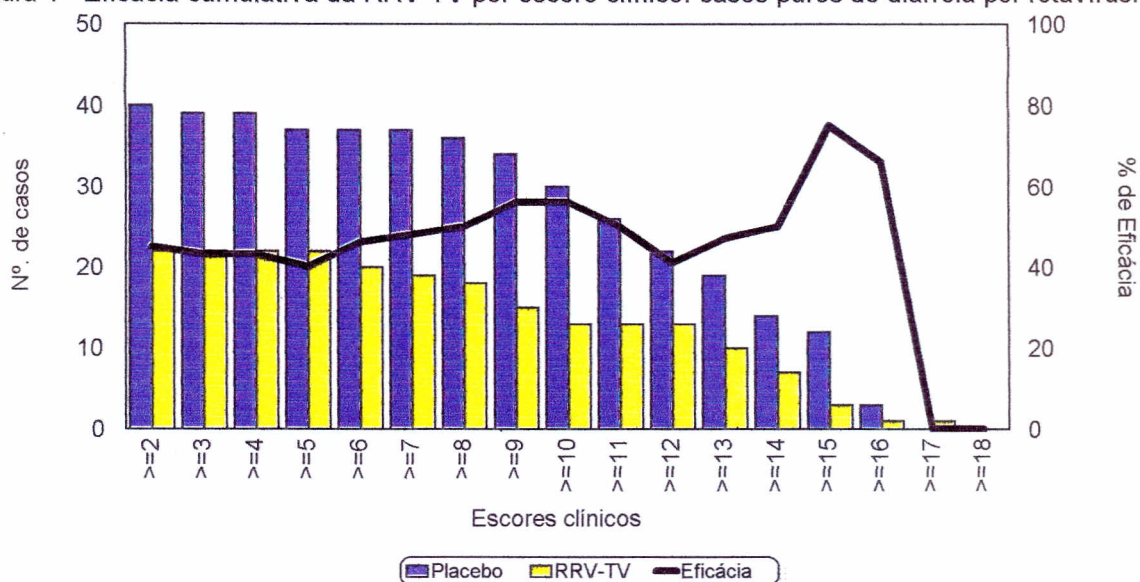


Fonte: Pesquisa da autora

Já na Figura 4, quando apenas os episódios puros são considerados, o intervalo entre os escores ≥ 2 e ≥ 5 mostra a curva da eficácia com níveis estáveis

(40% a 45%) até o escore ≥ 8 , e uma discreta ascensão até o escore ≥ 10 (56%). A seguir, após o decréscimo da eficácia para 41% (escore ≥ 12), a curva ascende, atingindo o nível máximo nos escores ≥ 15 e ≥ 16 (75% e 66%, respectivamente).

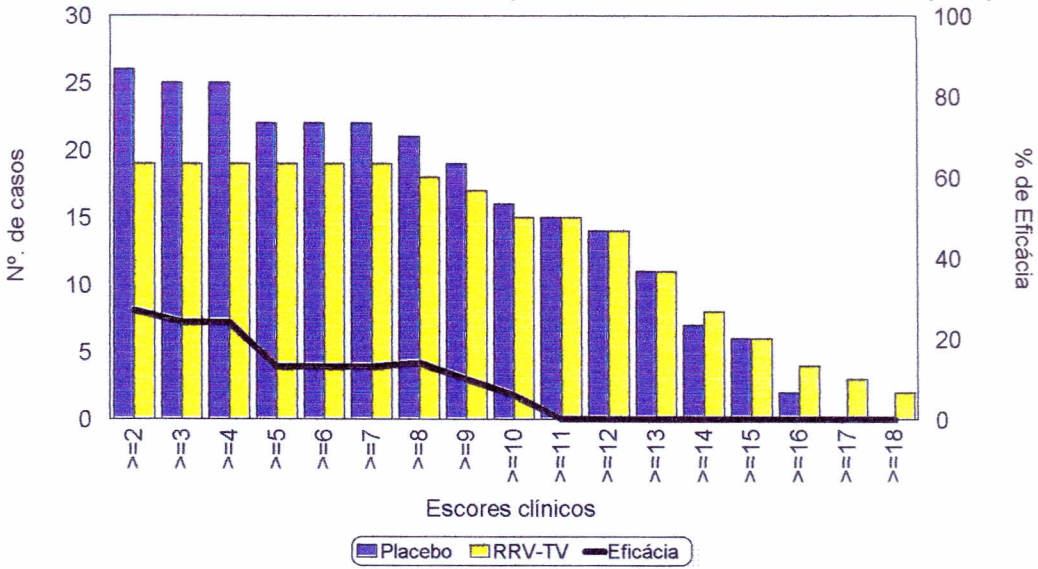
Figura 4 - Eficácia cumulativa da RRV-TV por escore clínico: casos puros de diarreia por rotavírus.



Fonte: Pesquisa da autora

A análise em relação a todos os casos associados ao sorotipo G1 (ver Fig. 5) se expressa por uma curva de eficácia com níveis variando de 27% a 24%, tomando por base os escores ≥ 2 a ≥ 4 , respectivamente, declinando gradativamente até tornar-se nula frente aos episódios considerados moderados a muito graves (escores clínicos a partir de ≥ 11).

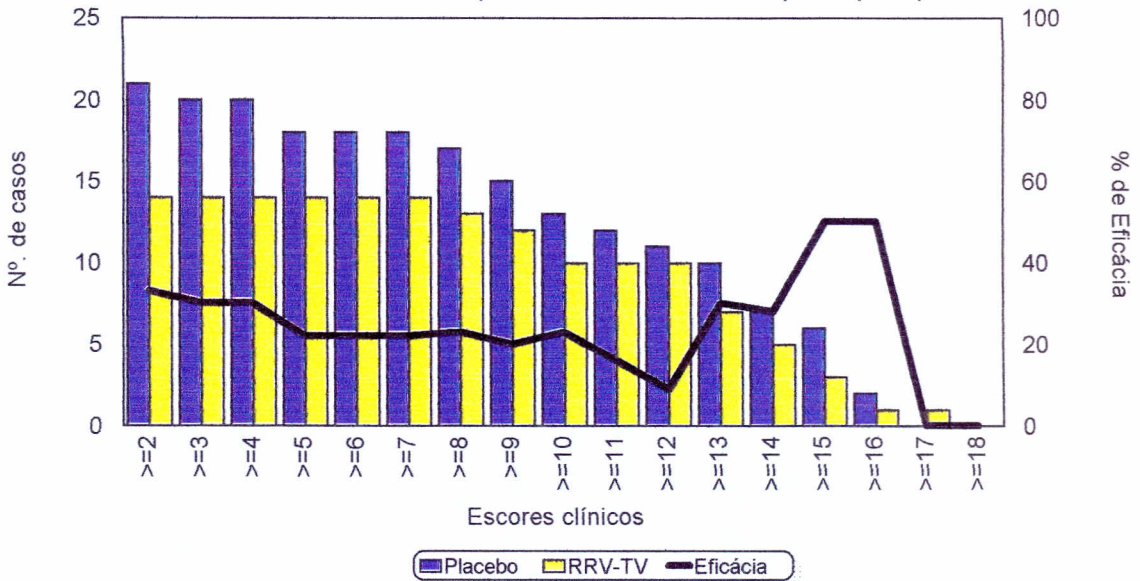
Figura 5 - Eficácia cumulativa da RRV-TV por escore clínico : todos os casos por tipo G1.



Fonte: Pesquisa da autora

Entretanto, quando somente os casos puros foram avaliados, os índices de proteção se mostraram mais estáveis, a partir do escore inicial até ≥ 10 , e após um discreto decréscimo nos dois escores seguintes, a curva ascende e alcança um nível máximo de 50% entre os escores ≥ 15 e ≥ 16 (ver Fig. 6).

Figura 6 - Eficácia cumulativa da RRV-TV por escore clínico: casos puros por tipo G1

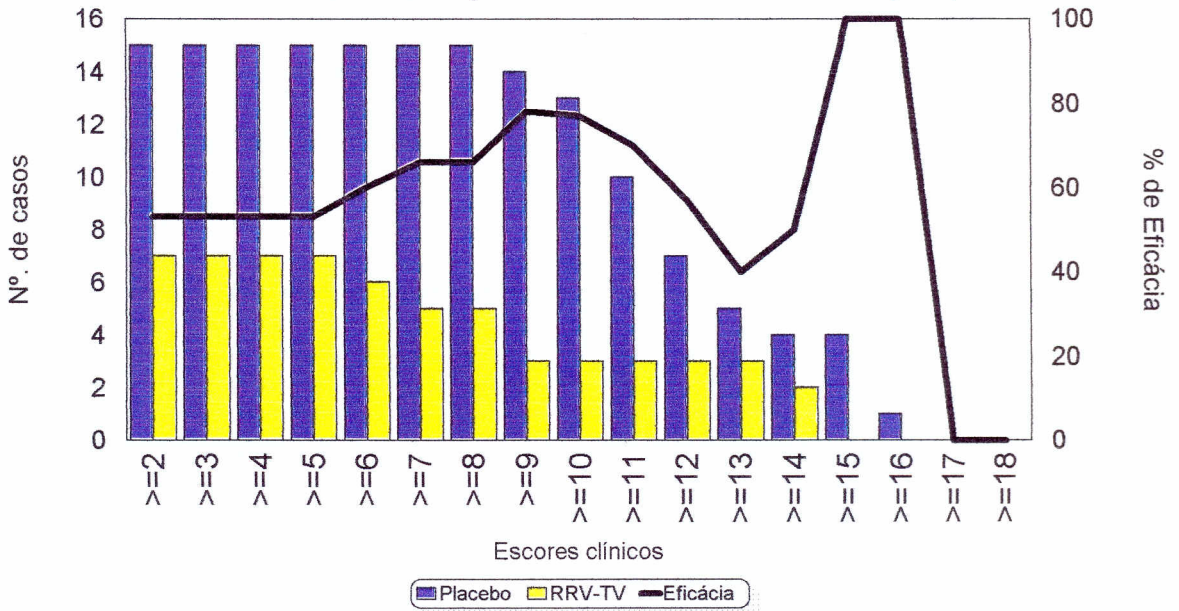


Fonte: Pesquisa da autora

A Figura 7 exibe a eficácia frente a todos os casos associados ao sorotipo G2, observando-se que a curva não exibe variações no intervalo entre os escores clínicos de ≥ 2 a ≥ 5 (53%), com ascensão a partir do escore ≥ 6 até ≥ 10 (60% a

77%, respectivamente), decrescendo a seguir a níveis de proteção de 40% (≥ 13). A partir dos escores ≥ 14 até ≥ 16 , a curva de eficácia volta a ascender, alcançando níveis máximos de 100% contra os casos revestidos de maior gravidade.

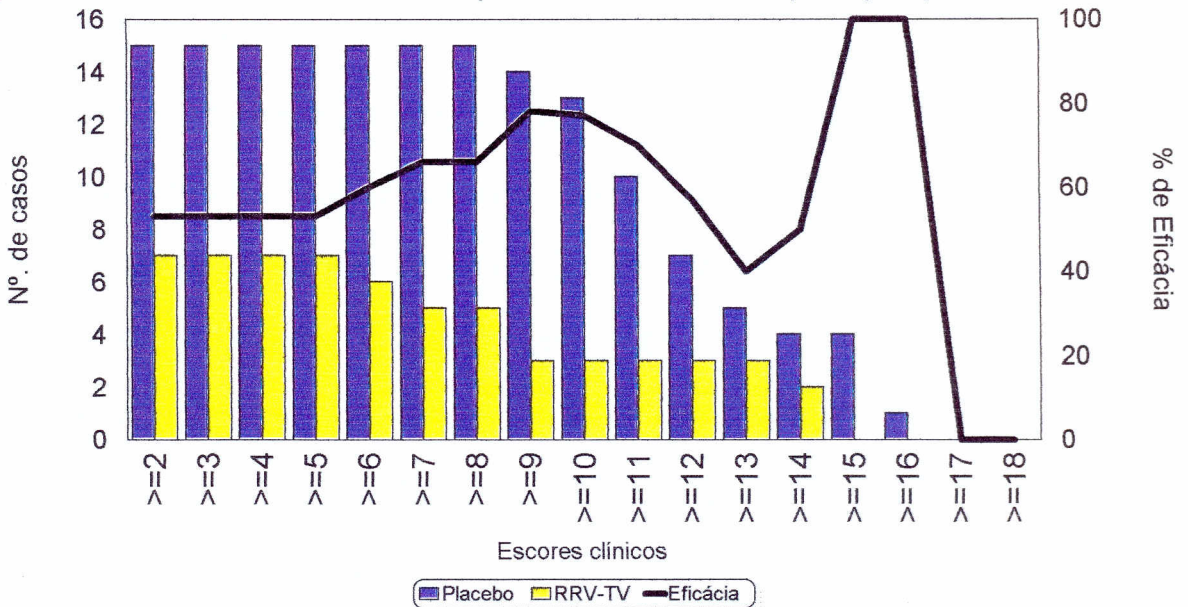
Figura 7 - Eficácia cumulativa da RRV-TV por escore clínico : todos os casos por tipo G2.



Fonte: Pesquisa da autora

Perfil similar foi observado em relação aos episódios considerados puros e associados ao tipo G2 (ver Fig. 8).

Figura 8 - Eficácia cumulativa da RRV-TV por escore clínico : casos puros por tipo G2.



Fonte: Pesquisa da autora

5 DISCUSSÃO

A vacina contra os rotavírus tem sido objeto de avaliação em vários países do mundo, com a tetravalente rhesus-humana (RRV-TV) se configurando como a mais promissora entre as candidatas até então testadas. O presente estudo representa uma ampliação da análise prévia conduzida com a referida vacina (Linhares *et al.* 1996), com ênfase à eficácia frente aos parâmetros clínicos indicativos de gravidade, quais sejam: duração e número máximo dos episódios de diarreia e de vômitos, desidratação, febre e necessidade de tratamento.

A investigação ora sob análise segue a tendência das pesquisas atuais, que é de caracterizar a eficácia da RRV-TV em relação aos episódios mais graves, já que os conhecimentos acumulados até o momento sugerem que as estratégias vacinais contra os rotavírus objetivam, primariamente, assegurar proteção frente aos casos revestidos de maior gravidade, responsáveis pelos elevados índices de morbi-mortalidade na infância associados a esses agentes.

Considerando todos os parâmetros clínicos avaliados no presente estudo, verificamos que houve expressiva proteção da vacina em cinco das sete condições clínicas relacionadas, quais sejam: a duração da diarreia (episódios puros: eficácia, 52%, $p=0,03$), o número máximo de evacuações (todos os episódios: 42%, $p=0,04$ e os puros: 53%, $p=0,01$) e de vômitos (todos: 56%, $p=0,006$ e puros: 62%, $p=0,004$), a desidratação (todos: 42%, $p=0,02$ e puros: 48%, $p=0,01$) e a necessidade de reidratação (todos: 42%, $p=0,01$ e puros: 46%, $p=0,01$). A identificação desses parâmetros como indicadores de gravidade já foi registrada em estudos anteriores, ressaltando-se àqueles conduzidos em nossa região por Linhares *et al.* (1989), em que os vômitos, o número de evacuações líquidas e a desidratação nos episódios

associados aos rotavírus exibiram maior gravidade em comparação aos de outras etiologias. Resultados similares foram observados por Pérez-Schael *et al.* (1990), na Venezuela, durante a análise de eficácia com uma vacina de origem símia, monovalente (RRV-MMU18006, sorotipo 3).

Não obstante o número limitado de investigações que relacionam a eficácia da vacina tetravalente com as condições clínicas que traduzem gravidade, os resultados do presente estudo podem ser comparados àqueles obtidos em outras regiões do mundo. Dentre esses, destacam-se os estudos de Lanata *et al.* (1996) e os de Bernstein *et al.* (1995), pela metodologia similar àquela utilizada na análise em questão, envolvendo as seguintes características: o desenho do estudo (prospectivo e duplo-cego), a vacina oral tetravalente (4×10^4 pfu/dose) e o esquema de três doses no primeiro ano de vida.

Estabelecendo uma comparação com os achados de Lanata *et al.* (1996), no Peru, observamos que esses autores registraram níveis de proteção similares aos nossos, particularmente no tocante ao número máximo de evacuações e de vômitos nos casos de maior gravidade (40%, $p < 0,05$, para ambos os parâmetros), se todos os episódios de diarreia por rotavírus forem considerados. Quanto aos casos puros (somente rotavírus detectados), os índices de eficácia foram menos expressivos; porém, sob o esquema de uma dose, essas taxas se mostraram compatíveis às do presente estudo, em particular face a indicadores clínicos de gravidade como: os vômitos (56%, $p < 0,05$) e o número máximo de evacuações (59%, $p < 0,05$). Já os resultados encontrados por Bernstein *et al.* (1995), nos EUA, revelaram uma expressiva eficácia contra a duração da diarreia com mais de três dias (75%, $p < 0,001$) e a necessidade de tratamento (78%, $p < 0,001$), níveis superiores àqueles referentes a nossa casuística e à de Lanata *et al.* (1996). Não obstante tais

diferenças específicas, convém assinalar que, em termos de eficácia global quanto ao primeiro ano de acompanhamento, os resultados do estudo no Brasil e nos EUA se equivalem: 57% ($p=0,008$) e 64% ($p<0,001$), respectivamente. Entretanto, no segundo ano, os níveis de proteção declinaram sensivelmente nas primeiras investigações, o que não se verificou na segunda: 7% e 48%, respectivamente. Denotam-se, pois, indícios de que, nos países em desenvolvimento, a duração da eficácia é relativamente menor do que nos desenvolvidos. Contudo, a presença nas regiões em desenvolvimento de fatores como a exposição maciça aos rotavírus, predispondo à infecção natural precoce, a desnutrição e as infecções mistas, parece justificar essas diferenças (Breese, no prelo).

Outras investigações que permitem uma análise comparativa com os nossos resultados são as que utilizaram fórmulas mais concentradas da RRV-TV (4×10^5 pfu/dose) e que foram recentemente concluídas (Rennels *et al.*, 1996; Santosham *et al.*, 1997; Joensuu *et al.*, 1997; Pérez-Schael *et al.*, 1997).

Os índices expressivos de proteção assinalados nesses estudos (69% a 100%), frente aos episódios diarréicos revestidos de maior gravidade, confirmam a proteção seletiva da vacina. Esses níveis foram mais elevados no primeiro ano após a vacinação, fato que também se registrou na maioria dos estudos com a tetravalente (4×10^4 pfu/dose), incluindo o do Brasil, de 57% (Linhares *et al.*, 1996).

Com relação à eficácia clínica da preparação mais concentrada contra os principais parâmetros que denotam gravidade, destaquem-se as elevadas taxas contra a duração da diarreia, registradas por Pérez-Schael *et al.* (1997) e Joensuu *et al.* (1997), de 71% e 97%, respectivamente. O nível protetor alcançado em nosso estudo contra tal condição clínica foi inferior, 52%, embora refletindo diferença estatisticamente significativa, se os grupos vacina e placebo são comparados.

Quanto à eficácia em relação aos vômitos com mais de dois dias de duração, o nível registrado em nossa casuística (56%) é comparável aos de Pérez-Schael *et al.* (1997), na Venezuela, de 54%. Tal similaridade nos faz supor que, em regiões sob as mesmas condições de desenvolvimento, a RRV-TV pode alcançar níveis de proteção comparáveis quanto a determinados indicadores clínicos de gravidade, independentemente da concentração vacinal. Sustentam essa asserção os dados de Joensuu *et al.* (1997), indicando níveis protetores mais elevados, 91%, nos estudos realizados na Finlândia.

Ainda no contexto dos estudos com a RRV-TV (4×10^5 pfu/dose), a febre foi outra condição clínica em que se observou expressiva eficácia, como demonstraram os resultados de Joensuu *et al.* (1997) e Pérez-Schael *et al.* (1997), de 81% e 49%, respectivamente. Em contrapartida, os nossos indicadores de proteção frente a esse parâmetro foram nulos, não se identificando explicações plausíveis que justifiquem tais diferenças.

Índices significativos de eficácia frente aos quadros de desidratação foram registrados por Rennels *et al.* (1996), Joensuu *et al.* (1997) e Pérez-Schael *et al.* (1997), de 100%, 97% e 75%, respectivamente. Já os níveis inferiores registrados em nossa análise (42%, $p=0,02$), e naquela de Santosham *et al.* (1997) (ocorrência de poucos casos), podem refletir a intervenção precoce com os sais de reidratação oral diante de qualquer episódio diarréico, em observância aos protocolos de estudo, que contemplam a vigilância passiva dos episódios diarréicos.

São dignas de nota as expressivas eficácias quanto à admissão hospitalar, de 70% e 100%, referidos por Pérez-Schael *et al.* (1997) e por Joensuu *et al.* (1997), respectivamente. Na presente investigação, contudo, houve uma tendência à proteção, se considerado tal parâmetro (56%, $p=0,06$), já que o número de casos

requerendo hospitalização foi reduzido; aliás, situação similar à descrita por Rennels *et al.* (1996), em cujo estudo a baixa frequência de hospitalizações não permitiu a análise da eficácia nesse particular. É provável que tais diferenças se justifiquem face à metodologia de vigilância das diarreias adotadas nos estudos sob comparação. Com efeito, na Venezuela e Finlândia, somente as crianças hospitalizadas eram registradas, enquanto que no Brasil e EUA o acompanhamento era domiciliar e rotineiro, o que ensejava poucas internações hospitalares, face à intervenção terapêutica precoce.

As vacinas monovalentes, de origem símica ou obtidas por rearranjo genético, também têm sido objeto de estudo, pelo fato de serem relativamente seguras e induzirem, à semelhança da RRV-TV, maior proteção frente aos episódios mais graves. Portanto, no tocante a determinados parâmetros clínicos, é possível comparar os nossos resultados com os de ensaios clínicos envolvendo tais vacinas (Pérez-Schael *et al.*, 1994, Bernstein *et al.*, 1995, Rennels *et al.*, 1996, Lanata *et al.*, 1996, Santosham *et al.*, 1997).

No presente estudo, a RRV-TV reduziu a duração da diarreia em 52%, enquanto que Bernstein *et al.* (1995), com a RRV-S1 (vacina geneticamente rearranjada, símio-humana, com a especificidade para o sorotipo G1), registraram níveis inferiores de proteção (36%); Pérez-Schael *et al.* (1994), por sua vez, não detectaram proteção frente a tal parâmetro, com a MMU-18006. Quanto ao número máximo de vômitos, os índices de proteção conferidos pela RRV-TV em nosso estudo foram expressivos (56%, $p=0,006$), e no ensaio clínico conduzido por Pérez-Schael *et al.* (1994) há registro de que os níveis frente a tal condição clínica foram estatisticamente significativos ($p<0,05$). Nas demais investigações não há relato da eficácia vacinal contra o referido parâmetro. Os resultados desses estudos apontam

para a maior eficácia da RRV-TV em relação às vacinas monovalentes, provavelmente pelo seu espectro mais amplo de proteção (contempla os quatro sorotipos mais importantes para o homem, G1 a G4). Isso justifica a corrente recomendação de que a vacina ideal contra os rotavírus seja polivalente.

No que se refere à desidratação, Rennels *et al.* (1996) e Lanata *et al.* (1996) identificaram taxas de eficácia similares (85%), utilizando a RRV-S1 e a RRV-S2, respectivamente. Na presente investigação esses índices foram inferiores (42%), não obstante os níveis significativos registrados frente aos episódios puros no segundo período de investigação (55%, $p=0,03$). O aparente paradoxo que envolve a comparação entre os níveis de eficácia relativos à vacina tetravalente e a monovalente pode ser justificado pelo reduzido número de casos de desidratação registrados no estudo atual, bem como face ao provável predomínio de determinado sorotipo circulante à época dos *trials*, coincidente com o que compunha a vacina monovalente.

À luz das comparações acima enunciadas, reveste-se de particular interesse a análise da eficácia da RRV-TV contra os diversos sorotipos. Os conhecimentos atuais apontam o tipo G1 como o mais prevalente, embora diversos sorotipos possam variar em sua freqüência anualmente. Por conseguinte, a vacina deve oferecer proteção contra os episódios diarréicos pelos rotavírus causados por diferentes variedades antigênicas (Chiba *et al.*, 1986; Midthun & Kapikian, 1996).

Durante o primeiro ano do presente estudo, a RRV-TV exibiu níveis significativos de eficácia, de 55%, contra os episódios diarréicos relacionados ao sorotipo G1, embora não se tenham registrado diferenças estatisticamente significativas, se avaliados individualmente os diversos parâmetros clínicos. Estabelecendo-se comparação com os resultados obtidos por Bernstein *et al.*

(1995), nos EUA, observam-se índices similares aos nossos, de 57%. Contudo, Joensuu *et al.* (1997) assinalaram níveis mais elevados de proteção (70%), sugerindo a maior eficácia da RRV-TV em sua fórmula mais concentrada.

Em relação ao tipo G2 não foi possível definir os índices de proteção no primeiro ano do nosso estudo, pelo reduzido número de casos relacionados a esse sorotipo. Em contrapartida, no segundo período de acompanhamento, registramos eficácia mais expressiva da RRV-TV em relação aos episódios associados ao tipo G2, no que concerne à duração e ao número máximo de vômitos: 90% e 100%, respectivamente. Com efeito, tal achado se reveste de grande importância, por sustentar as hipóteses de observações anteriores, que relacionam esse sorotipo à maior gravidade dos sintomas, culminando com a desidratação (Bern *et al.*, 1992b; Timenetsky *et al.*, 1996). Vale ressaltar que nas demais investigações, essa análise específica não foi mencionada. A baixa incidência dos sorotipos G3 e G4 limitou sensivelmente as avaliações comparativas.

As diferenças de respostas observadas nos estudos acima comparados parecem mais relacionadas à duração da eficácia vacinal do que à proteção específica para cada sorotipo, provavelmente mercê de determinados fatores presentes nas regiões em desenvolvimento, quais sejam: a interferência de enterovírus, o estado nutricional e os níveis de anticorpos maternos (Breese, no prelo). A par disso, registra-se ainda a emergência de sorotipos não contemplados com a vacina tetravalente (como por exemplo, a detecção recente do G5 no Brasil), o que reforça a necessidade de investigações adicionais com a RRV-TV nas regiões do Terceiro Mundo.

Com relação às infecções puras e mistas, é pertinente comentar que, nos países em desenvolvimento, registram-se altas taxas de co-infecção envolvendo os

rotavírus e outros enteropatógenos, com a *E. coli* enteropatogênica (*EPEC*) e a *G. intestinalis* sendo os de maior frequência. No estudo sob avaliação, as infecções mistas representaram 30% dos casos, porém, para análise da eficácia foram considerados somente os episódios mistos associados à *EPEC* (18%). Nesse particular, a RRV-TV exibiu níveis de eficácia similares contra os episódios mistos e puros nos dois anos de estudo (35% e 37%, respectivamente). Entretanto, foram mais expressivos durante o primeiro ano de acompanhamento, quando os índices de proteção se revelaram superiores a 50%, se considerados os referidos grupos, assim como os episódios mistos associados ao sorotipo G1. A análise da proteção conferida pela RRV-TV frente aos indicadores clínicos relacionados aos episódios puros e mistos revelou taxas de eficácia mais expressivas contra a desidratação no primeiro ano de acompanhamento, nos casos considerados puros (55%, $p=0,03$), e uma tendência à proteção (53%, $p=0,07$) no tocante à duração dos vômitos nos dois anos de estudo, nesse grupo.

Comparando os nossos resultados com os de Pérez-Schael *et al.* (1997), na Venezuela, observam-se taxas similares de proteção frente às infecções mistas e puras (54% e 43%, respectivamente), não obstante esse último estudo envolver a fórmula vacinal mais concentrada. É importante assinalar que, embora a presença de outros enteropatógenos possa constituir-se em um dos fatores determinantes de falha vacinal primária nos países em desenvolvimento, as eficácias não diferiram se cotejados os índices relativos aos episódios puros e mistos.

Os parâmetros clínicos discutidos individualmente, até então, foram também analisados em conjunto, à luz de escores clínicos que avaliam a gravidade dos episódios e comumente se aplicam aos estudos de eficácia da RRV-TV (Flores *et al.*, 1987; Ruuska & Vesikari, 1990). A utilização dos sistemas de escores permite

efetuar análises comparativas que conferem maior precisão às informações, além de quantificar a gravidade clínica dos episódios diarréicos.

No estudo prévio conduzido por Linhares *et al.* (1996), a análise da eficácia da RRV-TV quanto à gravidade clínica envolveu apenas os episódios caracterizados, em conjunto, como moderados, graves e muito graves, ou seja aqueles com escores ≥ 9 . Nesse contexto, registraram-se níveis protetores de 46% e 56% em relação a todos os episódios e aos puros, respectivamente, nos dois anos de acompanhamento. Aliás, admitindo-se tal divisor de escores clínicos, observa-se que os níveis de proteção no Brasil foram superiores aos registrados em Lima, Peru, (30% e 18%, em relação a todos os casos e aos puros, respectivamente), utilizando o esquema de três doses (Lanata *et al.*, 1996). É possível que tais diferenças estejam associadas às taxas mais elevadas de incidência de diarreia no Peru (oito episódios de diarreia por criança/ano contra aproximadamente cinco no Brasil). Além disso, registre-se a maior frequência no primeiro país, dos determinantes de falha vacinal primária, tais como: a) os altos níveis de anticorpos maternos; b) a interferência de enterovírus; c) a desnutrição; e d) as infecções mistas.

Na presente investigação, essa análise foi ampliada visando a um maior espectro clínico, a partir de escores individuais. Assim sendo, observamos que a eficácia cumulativa da RRV-TV, por escore clínico, frente a todos os episódios diarréicos, exibiu uma curva cujo nível máximo foi de 50% nos casos de maior gravidade (escore clínico ≥ 15). Perfil similar se verificou com os episódios puros, em que a eficácia alcançou níveis de 66% e 75%, nos escores ≥ 15 e ≥ 16 , respectivamente. Nota-se, portanto, que as taxas de proteção se acentuaram consideravelmente, se comparadas àquelas antes definidas em relação a um único referencial de gravidade, qual seja o escore ≥ 9 . No que se refere aos sorotipos,

registraram-se níveis de proteção de 50% nos escores ≥ 15 e ≥ 16 , quando considerados os casos puros por G1. Em relação ao tipo G2, são dignos de nota os níveis máximos de 100% indicados pela curva de eficácia, a partir dos escores ≥ 14 , em relação a todos os casos e àqueles classificados como puros. Tais resultados consubstanciam o potencial protetor da vacina no segundo ano de vida, quanto ao tipo G2 como causa de gastroenterite grave.

Ainda no tocante ao espectro de gravidade clínica em sua maior amplitude, são pertinentes as comparações dos nossos resultados com os de outros ensaios clínicos envolvendo a RRV-TV nas fórmulas de menor e maior concentração. Aliás, estudos específicos a esse respeito vêm sendo realizados, visando a um maior conhecimento sobre a eficácia da vacina tetravalente, em menor concentração, frente às diferentes faixas de gravidade clínica (Linhares *et al.*, 1999). Vale ressaltar que, nesses estudos comparativos, os episódios diarréicos foram classificados segundo o escore clínico, em: leve (somatória de 0 a 8), moderado a severo (9 a 14) e muito severo (>14).

Analisando os nossos achados à luz desses critérios de gravidade, observamos que houve ausência de eficácia vacinal em relação aos casos considerados leves, e tendência à proteção frente a todos os episódios e aos puros (44%, $p = 0,06$ e 45%, $p = 0,08$, respectivamente) com escores entre 9 e 14. Já a reanálise (Linhares *et al.*, 1999) dos resultados obtidos no Peru (Lanata *et al.*, 1996) com a RRV-TV, na mesma concentração vacinal, exibiu índices protetores de 64% ($p = 0,04$) em relação aos casos puros, de moderada à grave intensidade, sob o esquema de uma dose. Cabe assinalar que os níveis de proteção registrados nos estudos referidos acima são comparáveis àqueles dos ensaios clínicos envolvendo a mesma faixa de gravidade com a vacina, sob menor concentração, em um estudo

nos EUA, 59% (Bernstein *et al.*, 1995). Também foram similares aos resultados das investigações conduzidas por Rennels *et al.* (1996) e Pérez-Schael *et al.* (1997), utilizando a fórmula mais concentrada da RRV-TV, cujos índices foram de 57% e 47%, respectivamente.

É de particular interesse assinalar, no entanto, os expressivos índices protetores conferidos pela RRV-TV frente aos episódios puros classificados como muito graves (75%, $p=0,02$), identificados em nosso estudo. A relevância desse achado deve-se ao fato de que eficácias similares foram registrados em três estudos conduzidos nos EUA: os de Bernstein *et al.* (1995) (com a RRV-TV, 4×10^4 pfu/dose), e os de Rennels *et al.* (1996) e Santosham *et al.* (1997), (RRV-TV na fórmula mais concentrada), com níveis de proteção de 82%, 80% e 69%, respectivamente. Já as investigações conduzidas por Pérez-Schael *et al.* (1997) e Joensuu *et al.* (1997) exibiram níveis mais elevados de eficácia (90% e 100%, respectivamente), provavelmente, pela metodologia desses estudos (vigilância passiva no âmbito hospitalar) favorecer a identificação de um maior número de casos graves. Portanto, essas análises comparativas evidenciam o potencial de eficácia da RRV-TV, mesmo em sua preparação menos concentrada, quanto aos quadros mais graves de gastroenterite por rotavírus, além de consubstanciarem os indicadores de proteção frente a determinados parâmetros clínicos sob exame em nosso estudo. Entretanto, a RRV-TV na fórmula mais concentrada acena como mais promissora nos países em desenvolvimento, se tal aspecto é considerado à luz de uma resposta imune mais expressiva (Foster & Wagstaff, 1998), assim favorecendo uma proteção mais completa e duradoura frente às infecções por rotavírus.

Os resultados da presente análise reforçam os conhecimentos atuais de que a RRV-TV não confere proteção quanto aos quadros diarréicos mais brandos associados aos rotavírus. Por conseguinte, sustentam que o principal objetivo deve ser o de proteger contra os episódios de gastroenterites revestidos de maior gravidade nas crianças abaixo de dois anos de vida. A par disso, esses achados ressaltam a importância de testes de campo complementares para definir o real impacto dessa vacina em países em desenvolvimento, com altas taxas de morbimortalidade por diarreia e quadros de desnutrição grave. Cabe assinalar que esses estudos devem visar à ampliação dos conhecimentos sobre a imunidade conferida pela vacina, além de contemplar mudanças na metodologia de campo, visando a um maior registro daqueles casos dotados de maior gravidade (vigilância passiva). Registre-se, ainda, a necessidade de avaliar esquemas vacinais reduzidos com fórmulas mais concentradas, paralelamente à monitoração quanto à ocorrência de sorotipos atípicos, não contemplados na composição da vacina atual. No que se refere a esse último aspecto, é digna de nota a ampla emergência, em várias regiões do Brasil, do tipo G5 (Leite *et al.*, 1996; Linhares, 1998) e, mais recentemente, dos genótipos G8 e G10 (Santos *et al.*, 1998).

A recente inclusão da RRV-TV (4×10^5 pfu/dose) no calendário vacinal das crianças americanas, não obstante o seu custo elevado (38 dólares/dose), acena para que, a curto/médio prazo, várias questões que permanecem obscuras sobre a vacina contra os rotavírus possam ser esclarecidas. A expectativa maior, entretanto, é vê-la inserida efetivamente no programa de imunizações dos países em desenvolvimento, daí sobrevivendo a redução em 50% na incidência das diarreias por rotavírus, o que se refletiria em um declínio de 25% dos óbitos por gastroenterites na infância (De Zoysa & Feachem, 1986).

6 CONCLUSÕES

Os resultados do nosso estudo permitiram estabelecer as conclusões a seguir enunciadas:

6.1 A RRV-TV exibiu níveis expressivos de proteção quanto à duração da diarreia por rotavírus com mais de três dias (52%, frente aos episódios considerados puros).

6.2 A eficácia relativa da vacina em relação ao número máximo de evacuações superior a cinco foi significativa contra todos os episódios e os puros: 42% e 53%, respectivamente.

6.3 Registraram-se eficácias expressivas com relação a todos os casos diarréicos e aos puros (56% e 62%, respectivamente), quanto ao número máximo de vômitos (>2).

6.4 A RRV-TV não conferiu proteção quanto ao parâmetro febre, em relação aos grupos estudados.

6.5 Observou-se significativa eficácia da RRV-TV quanto à desidratação, em todos os quadros diarréicos e os puros (42% e 48%, respectivamente).

6.6 No que se refere à necessidade de reidratação, configurou-se efeito protetor da vacina frente a todos os episódios e em relação àqueles considerados puros (42% e 46%, respectivamente).

6.7 Índices significativos de proteção foram registrados no tocante a todos os episódios e aos classificados como puros (80%, para ambos os grupos), quanto à admissão hospitalar, no primeiro ano de acompanhamento.

6.8 A RRV-TV não exibiu eficácia em relação aos episódios diarréicos de leve intensidade, porém, registraram-se tendência à proteção frente a todos os

episódios e aos puros (44% e 45%, respectivamente) e nível expressivo de proteção, 75%, frente aos quadros puros considerados como muito graves.

6.9 Índices protetores similares foram registrados contra os episódios mistos e puros nos dois anos de estudo (35% e 37%, respectivamente). Entretanto, são dignas de nota as taxas de eficácia expressivas contra a desidratação, no primeiro ano do estudo (55%, frente aos casos classificados como puros), assim como níveis de eficácia moderados no tocante à duração dos vômitos (53%).

6.10 Taxas expressivas de eficácia foram alcançadas pela RRV-TV, 90% e 100%, no que concerne à duração e ao número máximo de vômitos, respectivamente, se considerados os casos de diarreia relacionados ao sorotipo G2, durante o segundo período de acompanhamento.

ABSTRACT

There is currently growing evidence that infantile rotavirus gastroenteritis will be controlled only through the development of an effective vaccine targeted for use in early childhood. This study was conducted with the aim of assessing the protective efficacy of the lower-titer rhesus-human reassortant rotavirus tetravalent vaccine (RRV-TV, 4×10^4) against the major clinical indicators of severity cases of rotavirus diarrhoea; for this, were re-examined 91 rotavirus-associated diarrhoeal episodes that were recorded during an efficacy trial carried out previously in Belém, Pará, Brazil. The source of information for study were the data recorded in field forms used to perform the routine surveillance for diarrhoeal episodes, as well as those forms in which daily clinical records were made while diarrhoea persisted. Relative efficacy was specifically against the following clinical parameters: a) duration of diarrhoea; b) maximum number of liquid /semiliquid stools per day; c) duration of vomiting episodes/24h; d) maximum number of vomiting episodes / 24h; e) fever (rectal temperature); f) dehydration; and g) need for treatment. The overall clinical severity of rotavirus gastroenteritis has been graded using a numerical twenty-point scoring system (i.e., maximum of 20 points) which allowed the classification of diarrhoeal cases in mild (0-6 scoring interval), moderate/severe (9-14) and very severe (>14). A significant ($p < 0.05$) protection conferred by RRV-TV was observed in five of the seven clinical parameters under analysis, as follows: a) duration of diarrhoea (52%, pure rotavirus diarrhoea; b) maximum number of liquid/semi-liquid stools per day (42% and 53% against all- and- pure diarrhoeal episodes, respectively); c) maximum number of vomiting (56% and 62% for all-and-pure diarrhoeal cases, respectively); d) dehydration (42% and 48% against all-and-pure cases of diarrhoea, respectively); and e) the need for rehydration (42% and 46% for all-and-pure cases, respectively). High protective efficacy levels were achieved against rotavirus type G2-related diarrhoea during the second year of follow-up, if considered both the number-and-the maximum number vomiting episodes: 90% and 100%, respectively. Also for G2 type, the overall cumulative protection of 100% against those episodes scored greater than 14. Similar rates of protection against mixed - (35%) and - pure (37%) rotavirus gastroenteritis were yielded after two years of follow-up. While no efficacy was achieved against mild (0-8 scored) diarrhoea, RRV-TV was 75% ($p = 0.02$) efficacious against the very severe cases of rotavirus gastroenteritis; there was a tendency for protection against all-and-pure diarrhoeal episodes with clinical scores ranging from 9 to 14: 44% ($p = 0.06$) and 45% ($p = 0.08$), respectively. The results of study support the view that RRV-TV appears to selectively protect against the most severe rotavirus disease.

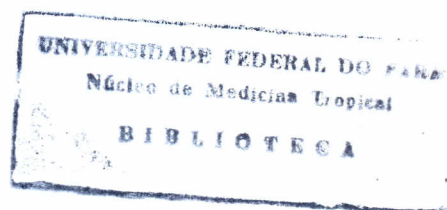
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARIAS, C.F.; LÓPEZ, S.; MASCARENHAS, J.D.P.; ROMERO, P.; CANO, P.; GABBAY, Y.B.; FREITAS, R.B. de; LINHARES, A.C. Neutralizing antibody immune response in children with primary and secondary rotavirus infections. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, Washington, v. 1, n. 1, p. 89-94, 1994.
- AVENDÃNO, L.F.; CALDERON, A.; MACAYA, J.; PRENZEL, I.; DUARTE, E. Rotavirus viral RNA electrophoresis in hospitalized infants with diarrhoea in Santiago, Chile. *Pediatric Research*, Baltimore, v. 16, n. 4 Pt 1, p. 329-330, 1982.
- BALL, J.M.; TIAN, P.; ZENG, CQ-Y.; MORRIS, A.P.; ESTES, M.K. Age-dependent diarrhea induced by a rotaviral nonstructural glycoprotein. *Science*, Washington, v. 272, n. 5258, p. 101-104, 1996.
- BARRETO, M.L.; SANTOS, L.M.P.; ASSIS, A.M.O.; ARAÚJO, M.P.N.; FARENZENA, G.G.; SANTOS, P.A.B.; FIACCONE, R.L. Effect of vitamina A supplementation on diarrhoea and acute lower-respiratory-tract infections in young children in Brazil. *The Lancet*, London, v. 344, n. 8917, p. 228-231, 1994.
- BEARDS, G.M.; DESSELBERGER, U.; FLEWETT, T.H. Temporal and geographical distribution of human rotavirus serotypes, 1983 to 1988. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 27, n. 12, p. 2827-2833, 1989.
- BERN, C.; MARTINES, J.; De ZOYSA, I.; GLASS, R.I. The magnitude of the global problem of diarrhoeal disease: a ten-year update. *Bulletin of the World Health Organization*, Geneva, v. 70, n. 6, p. 705-714, 1992a.
- BERN, C.; UNICOMB, L.; GENTSCH, J.R.; BANUL, N.; YUNUS, M.; SACK, R.B.; GLASS, R.I. Rotavirus diarrhea in Bangladeshi children: correlation of disease severity with serotypes. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 30, n. 12, p. 3234-3238, 1992b.
- BERNSTEIN, D.I.; GLASS, R.I.; RODGERS, G.; DAVIDSON, B.L.; SACK, D.A. Evaluation of rhesus rotavirus monovalent and tetravalent reassortant vaccines in US children. *Journal of the American Medical Association*, Chicago, v. 273, n. 15, p. 1191-1196, 1995.
- BERNSTEIN, D.I.; SMITH, V.E.; SANDER, D.S.; PAX, K.A.; SCHIFF, G.M.; WARD, R.L. Evaluation of WC3 rotavirus vaccine and correlates of protection in healthy infants. *The Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 162, n. 5, p. 1055-1062, 1990.

- BHAN, M.K.; LEW, J.F.; SAZAWAL, S.; DAS, B.K.; GENTSCH, J.R.; GLASS, R.I. Protection conferred by neonatal rotavirus infection against subsequent rotavirus diarrhea. *The Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 168, n. 2, p. 282-287, 1993.
- BISHOP, R.F. Development of candidate rotavirus-vaccines. *Vaccine*, Guildford, v. 11, n. 2, p. 247-254, 1993.
- BISHOP, R.F. Natural history of human rotavirus infection. *Archives of Virology*, Austria, v. 12, suppl., p. 119-128, 1996.
- BISHOP, R.F.; BARNES, G.L.; CIPRIANI, E.; LUND, J.S. Clinical immunity after neonatal rotavirus infection: a prospective, longitudinal study in young children. *The New England Journal of Medicine*, Boston, v. 309, n. 2, p. 72-76, 1983.
- BISHOP, R.F.; DAVIDSON, G.P.; HOLMES, I.H.; RUCK, B.J. Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with viral gastroenteritis. *The Lancet*, London, v. 2, n. 841, p. 1281-1283, 1973.
- BLACK, R.E. Persistent diarrhea in children of developing countries. *The Pediatric Infectious Diseases Journal*, Baltimore, v. 12, n. 9, p. 751-764, 1993.
- BLACK, R.E.; BROWN, K.H.; BECKER, S.; ALIM, A.R.M.A.; HUQ, I. Longitudinal studies of infectious diseases and physical growth of children in rural Bangladesh II. Incidence of diarrhoea and association with known pathogens. *American Journal of Epidemiology*, Baltimore, v. 115, p. 315-324, 1982.
- BLACKLOW, N.R.; GREENBERG, H.B. Viral gastroenteritis. *The New England Journal of Medicine*, Boston, v. 325, n. 4, p. 252-264, 1991.
- BRANDT, C.D.; KIM, H.W.; RODRIGUEZ, W.J.; THOMAS, L.; YOLKEN, R.H.; ARROBIO, J.O.; KAPIKIAN, A.Z.; PARROTT, R.H.; CHANOCK, R.M. Comparison of direct electron microscopy, immune electron microscopy, and rotavirus enzyme-linked immunosorbent assay for detection of gastroenteritis viruses in children. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 13, n.5, p. 976-981, 1981.
- BREESE J.S., GLASS R.I., IVANOFF B., GENTSCH J.R. Current status and future priorities for rotavirus vaccine development, evaluation, and implementation in developing countries. *Vaccine*, Guildford, v. 17, n. 18, p. 2207 – 22, 1999.
- BRUNSER, O.; ESPINOSA, J.; FIGUEROA, G.; ARAYA, M.; SPENCER, E.; HILPERT, H.; LINK-AMSTER, H.; BRÜSSOW, H. Field trial of an infant formula containing anti-rotavirus and anti-*Escherichia coli* milk antibodies from hyperimmunized cows. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, New York, v. 15, n. 1, p. 63-72, 1992.

- BRÜSSOW, H.; SIDOTI, J.; SURE, K.; WERCHAU, H. Coproantibodies to rotavirus serotype 1 infection in German children. *Journal of Diarrhoeal Diseases Research*, Dhaka, v. 12, n. 3, p. 194-199, 1994.
- BRÜSSOW, H.; WERCHAU, H.; LERNER, L.; MIETENS, C.; LIEDETKE, W.; SIDOTI, J.; SOTEK, J. Seroconversion patterns to four human serotypes in hospitalized infants with acute rotavirus gastroenteritis. *The Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v.158, n. 3, p. 588-595, 1988.
- BURNS, J.W.; SIDAT-PAJOUH, M.; KRISHNANEY, A.A.; GREENBERG, H.B. Protective effect of rotavirus V6-specific IgA monoclonal antibodies that lack neutralizing activity. *Science*, Washington, v. 272, n. 5, p. 104-107, 1996.
- CANDEIAS, J.A.; ROZEMBERG, C.P.; RÁCZ, M.L. Identificação por contraímunoeletroforese de rotavírus em caso de diarreia infantil. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, v. 12, p. 99-103, 1978.
- CARR, M.E.; MCKENDRICK, G.D.N.; SPRYDAKIS, T. The clinical features of infantile gastroenteritis due to rotavirus. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, Stockolm, v. 8, n. 4, p. 241-243, 1976.
- CEYHAN, M.; KANRA, G.; SEÇMEER, G.; MIDTHUN, K.; DAVIDSON, B.L.; ZITO, E.T.; VESIKARI, T. Take of rhesus-human reassortant rotavirus vaccine in breast-fed infants. *Acta Paediatrica*, Madrid, v. 82, n. 3, p. 223-227, 1993.
- CHIBA, S.; YOKOYAMA, T.; NAKATA, S.; MORITA, Y.; URUSAWA, T.; TANIGUCHI, K.; URUSAWA, S.; NAKAO, T. Protective effect of naturally acquired homotypic and heterotypic rotavirus antibodies. *The Lancet*, London, v. 2, n. 8504, p. 417-421, 1986.
- CHRYSTIE, I.L.; TOTTERDELL, B.; BAKER, M.J.; SCOPES, J.W.; BANATVALA, J.E. Rotavirus infections in a maternity unit. *The Lancet*, London, v. 2, n. 7924, p. 79, 1975.
- CHRYSTIE, I.L.; TOTTERDELL, B.M.; BANATVALA, J.E. Asymptomatic endemic rotavirus infections in the newborn. *The Lancet*, London, v. 1, n. 8075, p. 1176-1178, 1978.
- CLARK, H.F.; BORIAN, F.E.; BELL, L.M.; MODESTO, K.; GOUVEA, A.; PLOTKIN, S.A. Protective effect of WC3 vaccine against rotavirus diarrhea in infants during a predominantly serotype 1 rotavirus season. *The Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 158, n. 3, p. 570-587, 1988.

- CLARK, H.F.; FURUKAWA, T.; BELL, L.M.; OFFIT, P.A.; PERRELLA, P.A.; PLOTKIN, S.A. Immune response of infants and children to low passage bovine rotavirus (strain WC3). *American Journal of Diseases of Children*, Chicago, v. 140, n. 4, p. 350-355, 1986.
- CLEMENS, J.; RAO, M.; AHMED, F.; WARD, R.; HUDA, S.; CHAKRABORTY, J.; YUNUS, M.; KHAN, M.R.; ALI, M.; KAY, B.; VAN LOON, F.P.L.; SACK, D. Breast-feeding and the risk of life-threatening rotavirus diarrhea: prevention or postponement? *Pediatrics*, Evanston IL, v. 92, n. 5, p. 680-685, 1993.
- CLEMENS, J.D.; WARD, R.L.; RAO, M.R.; SACK, D.A.; KNOWLTON, D. R.; VAN LOON, F.P.L.; HUDA, S.; McNEAL, M.; AHMED, F.; SCHIFF, G. Seroepidemiologic evaluation of antibodies to rotavirus as correlates of risk of clinically significant rotavirus diarrhea in rural Bangladesh. *The Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 165, n.1, p. 161-165, 1992.
- COELHO, C.A.R.; MOREIRA, F.L.; MAFFEI, H.V.L.; COELHO, K.I.R. Incidência de partículas virais em crianças com diarreia aguda ou protraída, atendidas no hospital das clínicas da faculdade de medicina de Botucatu, no período de fevereiro de 1980 a fevereiro de 1981. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 25, n. 3, p. 113-119, 1983.
- COIRO, J.R.R.; de ALMEIDA NETO, A.J.; HEUSER, M.C.F.; BENDATI, M.M.A.; VASCONCELOS, V.L. Acute enteritis associated with rotavirus presence in Brazilian children: evaluations on the prevalence, therapy and age group. *Journal of Diarrhoeal Diseases Research*, Dhaka, v. 3, n. 2, p. 78-83, 1985.
- COOK, S.M.; GLASS, R.I.; LEBARON, C.W.; HO, M.S. Global seasonality of rotavirus infections. *Bulletin of the World Health Organization*, Geneva, v. 68, n. 2, p. 171-177, 1990.
- COULSON, B.S.; GRIMWOOD, K.; HUDSON, I.L.; BARNES, G.L.; BISHOP, R.F. Role of coproantibody in clinical protection of children during reinfection with rotavirus. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 30, n. 7, p. 1678-1684, 1992.
- COULSON, B.S.; GRIMWOOD, K.; MASENDICZ, P.J.; LUND, J.S.; MERMELSTEIN, N.; BISHOP, R.F.; BARNES, G.L. Comparison of rotavirus immunoglobulin A coproconversion with other indices of rotavirus infection in a longitudinal study in childhood. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 28, n. 6, p. 1367-1374, 1990.
- CUBITT, W.D.; HOLZEL, H. An outbreak of rotavirus infection in a long-stay ward of a geriatric hospital. *Journal of Clinical Pathology*, London, v. 33, n.3, p. 306-308, 1980



- DAVIDSON, G.P.; GALL, D.P.; PETRIC, M.; BUTLER, D.G.; HAMILTON, J.R. Human rotavirus enteritis induced in conventional piglets: intestinal structure and transport. *Journal of Clinical Investigation*, New York, v. 60, n. 6, p. 1402-1409, 1977
- De MOL, P.; ZISSIS, G.; BUTZLER, J-P.; MUTWEWINGABO, A.; ANDRE, F.E; Failure of live, attenuated oral rotavirus vaccine. *The Lancet*, London, v. 2, n. 8498, p. 108, 1986.
- De ZOYSA, I. & FEACHEM, R.V. Interventions for the control of diarrhoeal diseases among young children: rotavirus and cholera immunization. *Bulletin of the World Health Organization*, Geneva, v. 63, n. 2, p. 569-583, 1985.
- DeCHAMPS, C.; LAVERAN, H.; PEIGUE-LAFEUILLE, H.; CHAMBON, M.; DEMEOCQ, F.; GUALME, J.; BOYTOUT, D. Sequential rotavirus infections: characterization of serotypes and electropherotypes. *Research in Virology*, Paris, v. 142, n. 1, p. 39-45, 1991.
- DODGE, J.A.; HAMDI, I.; WALKER, S. Prostaglandin-induced diarrhoea. *Archives of Disease in Childhood*, London, v. 52, n. 10, p. 800-802, 1977.
- DUTTA, P.; MITRA, U.; RASAILY, R.; BHATTACHARY, A.; DE, S.P.; SEN, D.; SAHA, M.R.; NAIR, G.B.; NIYOKI, S.K.; DAS, P.; JANA, A. Prospective study of nosocomial enteric infections in a pediatric hospital, Calcutta. *Indian-Pediatrics*, New Dehli, v. 30, n. 2, p. 187-194, 1993.
- ECHEVERRIA, P.; SETHABUTR, O.; SERICHANTALERGS, O. Modern diagnosis (with molecular tests) of acute infections diarrhea. *Gastroenterology Clinics of North America*, Philadelphia, v. 22, n. 3, p. 661-682, 1993.
- ESTES, M.K. Rotaviruses and their replication. In: Fields, B.N.; Knipe, D.M.; (eds) *Fields Virology*, 3rd ed., Philadelphia: Raven Press, 1996, p. 1625-1655.
- ESTES, M.K.; COHEN, J. Rotavirus gene structure and function. *Microbiological Reviews*, Washington, v. 53, n. 4, p. 410-449, 1989.
- FIGUEROA, G.; ARAYA, M.; IBANEZ, S.; CLERC, N.; BRUNSER, O. Enteropathogens associated with acute diarrhea in hospitalized infants. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, New York, v. 5, n. 2, p. 226-231, 1986.
- FLEWETT, T.H.; ARIAS, C.F.; AVENDÂNO, L.F.; GHAFOR, A.; MATHAN, M.M.; MENDIS, L.; MOE, K.; BISHOP, R.F. Comparative evaluation of the WHO and DAKOPATTS enzyme-linked immunoassay kits for rotavirus detection. *Bulletin of the World Health Organization*, Geneva, v. 67, n. 4, p. 369-374, 1989.

- FLEWETT, T.H.; BRYDEN, A.S.; DAVIES, H. Virus particles in gastroenteritis. *The Lancet*, London, v. 2, n. 844, p. 1497, 1973.
- FLEWETT, T.H. & WOODE, G.N. The rotaviruses. Brief review. *Archives of Virology*, Viena, v. 57, n. 1, p. 1-23, 1978.
- FLORES J.; PÉREZ-SCHAEEL, I.; GONZÁLEZ, D.; GARCIA, D.; PEREZ, M.; DAOUD, N.; CUNTO, W.; CHANOCK, R.M.; KAPIKIAN, A.Z. Protection against severe rotavirus diarrhoea by rhesus rotavirus vaccine in Venezuelan infants. *The Lancet*, London, v. 1, n. 8538, p. 882-884, 1987.
- FOSTER, R.H.; WAGSTAFF, A.J. Tetravalent human-rhesus reassortant rotavirus vaccine. A review of its immunogenicity, tolerability and protective efficacy against paediatric rotavirus gastroenteritis. *Biodrugs*, Auckland, v. 9, n. 2, p. 155-178, 1998.
- GARCIA, L.S.; BRUCKNER D.A.; BREWER, T.C.; SCHIMIZU, R.Y. Techniques for the recovery and identification of *Cryptosporidium* oocysts from stool specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 18, n. 1, p. 185-190, 1983.
- GENTSCH, J.R.; WOODS, P.A.; RAMACHANDRAN, M.; DAS, B.K.; LEITE, J.P.G.; ALFIERI, A.; KUMAR, R.; BHAN, M.K.; GLASS, R.I. Review of G and P typing results from a global collection of rotavirus strains: implications for vaccine development. *The Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 174, suppl. 1, p. S30-S36, 1996.
- GERNA, G.; PASSARANI, N.; SARASINI A.; BATTAGLIA, M. Characterization of serotypes of human rotavirus strains by solid-phase immune electron microscopy. *The Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 152, n. 6, p. 1143-1151, 1985.
- GILGER, M.A.; MATSON, D.O.; CONNER, M.E.; ROAENBLATT, H.M.; FINEGOLD, M.J.; ESTES, M.K. Extraintestinal rotavirus infection in children with immunodeficiency. *The Journal of Pediatrics*, St. Louis, v. 120, n. 6, p. 912- 917, 1992.
- GLASS, R.I.; GENTSCH, J.R.; SMITH, J.C. Rotavirus vaccine: success by reassortment? *Science*, Washington, v. 265, n. 5177, p. 1389-1391, 1994
- GLASS, R.I.; GENTSCH, J.R.; IVANOFF, B. New lessons for rotavirus vaccines. *Science*, Washington, v.272, n.5, p. 46 -48, 1996.
- GOLDWATER, P.N.; CHRYSTIE, I.L.; BANATVALA, J.E. Rotaviruses and respiratory tract. *British Medical Journal*, Londres, v. 2, n. 6204, p.1551, 1979.

- GORZIGLIA, M.; LARRALDE, G.; KAPIKIAN, A.Z.; CHANOCK, R.M. Antigenic relationships among human rotaviruses as determined by outer capsid protein VP4. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, v. 87, n. 18, p. 7155-7159, 1990.
- GOTHEFORDS, L.; WADELL, G.; JUTO, P.; TANIGUCHI, K.; KAPIKIAN, A.Z.; GLASS, R.I. Prolonged efficacy of rhesus rotavirus vaccine in Swedish children. *The Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 159, n. 4, p. 753-757, 1989.
- GOUVEA, V.; de CASTRO, L.; TIMENETSKY, M.C.; GREENBERG, H.; SANTOS, N. Rotavirus serotype G5 associated with diarrhea in Brazilian children. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 32, n. 5, p. 1408-1409, 1994.
- GOUVEA, V.; GLASS, R.I.; WOODS, P.; TANIGUCHI, K.; CLARK, H.F.; FORRESTER, B.; FANG, Z.Y. Polymerase chain reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 28, n. 2, p. 276-282, 1990.
- GREENBERG, H.B.; CLARK, H.F.; OFFIT, P.A. Rotavirus pathology and pathophysiology. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, Berlin, v. 185, p. 255-283, 1994.
- GRIMWOOD, K.; LUND, J.C.S.; COULSON, B.S.; HUDSON, I.L.; BISHOP, R.F.; BARES, G.L.; Comparison of serum and mucosal antibody responses following severe acute rotavirus gastroenteritis in young children. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 26, n. 4, p. 732-738, 1988.
- GRUNOW, J.E.; DUNTON, S.F.; WANER, J.L. Human rotavirus like particles in hepatic abscess. *The Journal of Pediatrics*, St. Louis, v. 106, n. 1, p. 73-76, 1985.
- GUARINO, A.; CANANI, R.B.; RUSSO, S.; ALBANO, F.; CANANI, M.B.; RUGGERI, F.M.; DONELLI, G.; RUBINO, A. Oral immunoglobulins for treatment of acute rotaviral gastroenteritis. *Pediatrics*, Evanston IL, v. 93, n. 1, p.12-16, 1994
- GUERRANT, R.L.; HIGHERS, J.M.; LIMA, N.L.; CRANE, J. Diarrhea in developed and developing countries: magnitude, special settings and etiologies. *Reviews of Infectious Diseases*, Chicago, v. 12, suppl. 1, p. S41-S50, 1990
- GUIMARÃES, M.A.; CHAGAS, V.; NOZAWA, C.; TAKIYA, C.; MAIA, P.C.; SOUZA, S.O. Experimental infection of newborn mice with murine EDIM rotavirus. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, São Paulo, v. 27, n. 3, p. 671-675, 1994.

- GUSMÃO, R.H.P.; MASCARENHAS, J.D.P.; GABBAY, Y.B.; LINS-LAINSON, Z.; RAMOS, F.L.P.; MONTEIRO, T.A.F.; VALENTE, S.A.; LINHARES, A.C. Rotaviruses as a cause of nosocomial, infantile diarrhoea in Northern Brazil: pilot study. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 90, n. 6, p. 743-749, 1995.
- HAFFEJEE, I.E. Neonatal rotavirus infections. *Reviews of Infectious Diseases*, Chicago, v. 13, n. 5, p. 957-962, 1991.
- HANLON, P.; HANLON, L.; MARSH, V.; BYASS, P.; SHENTON, F.; HASSAN-KING, M.; JOBE, O.; SILLAH, H.; HAYES, R.; M'BOGE, B.H.; WHITTLE, H.C.; GREENWOOD, B.M. Trial of an attenuated bovine rotavirus vaccine (RIT 4237) in Gambian infants. *The Lancet*, London, v. 1, n. 8546, p. 1342-1345, 1987.
- HEYMAN, M.; GORTHER, G.; PETIT, A.; MESLIN, J.C.; MOREAU, C.; DESJEUX, J.F. Intestinal absorption of macromolecules during viral enteritis: an experimental study of rotavirus-infected conventional and germ-free mice. *Pediatric Research*, Baltimore, v. 22, n. 1, p. 72-78, 1987.
- HIEBER, J.P.; SHELTON, S.; NELSON, J.D.; LEON, J.; MOHS, E. Comparison of human rotavirus disease in tropical and temperate settings. *American Journal of Diseases Children*, Chicago, v. 132, n. 9, p. 853-858, 1978.
- HOLM, S.; ANDERSON, Y.; GOTHEFORS, L.; LINDBERG, T. Increased protein absorption after acute gastroenteritis in children. *Acta Paediatrica*, Madrid, v. 81, n. 8, p. 585-588, 1992.
- HOSHINO, Y.; KAPIKIAN, A.Z. Rotavirus vaccine development for the prevention of severe diarrhea in infants and young children. *Trends in Microbiology*, Cambridge, v. 2, n. 7, p. 242-249, 1994.
- HOSHINO, Y.; SAIF, L.J.; SERENO, M.M.; CHANOCK, R.M.; KAPIKIAN, A.Z. Infection immunity of piglets to either VP3 or VP7 outer capsid protein confers resistance to challenge with a virulent rotavirus bearing the corresponding antigen. *Journal of Virology*, Washington, v. 62, n. 3, p. 744-748, 1988.
- HOSHINO, Y.; SERENO, M.M.; MIDTHUN, K.; FLORES, J.; KAPIKIAN, A.Z.; CHANOCK, R.M. Independent segregation of two antigenic specificities (VP3 and VP7) involved in neutralization of rotavirus infectivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America*, Washington, v. 82, n. 24, p. 8701-8704, 1985.
- HOULY, C.A.; UCHOA, M.M.; ZAIDAN, A.M.; GOMES-NETO, A.; de OLIVEIRA, F.M.; ATHAYDE, M.A.G.; ALMEIDA, M.F.L.M.; PEREIRA, H.G. Eletrophoretic study of the genome of human rotavirus from Maceió, Brazil. *Brazilian Journal of Medical Biological Research*, São Paulo, v. 19, n. 1, p. 33-37, 1986.

- HRDY, D.B. Epidemiology of rotaviral infection in adults. *Reviews of Infectious Diseases*, Chicago, v. 9, n. 3, p. 461-469, 1987.
- HUILAN, S.; ZHEN, L.G.; MATHAN, M.M.; MATHEW, M.M.; OLARTE, J.; ESPEJO, R.; MAUNG, U.K.; GHAFOR, M.A.; KHAN, M.A.; SAMI, Z.; SUTTON, R.G. Etiology of acute diarrhoea among children in developing countries: a multicentre study in five countries. *Bulletin of the World Health Organization*, Geneva, n. 69, n. 5, p. 549-555, 1991.
- HUNG, T.; CHEN, G.M.; WANG, C.G.; YAO, H.L.; FANG, Z.Y.; CHAO, T.X.; CHOU, Z.Y.; YE, W.; CHANG, X.J.; DEN, S.; LIONG, X.; CHANG, W. Waterborne outbreak of rotavirus diarrhoea in adults in China caused by a novel rotavirus. *The Lancet*, London, v. 1, n. 8387, p. 1139-1142, 1984.
- ISHAK, R.; GABBAY, Y.B.; ISHAK, M.O.G. Comparação entre a prova do látex (Biolab-Mérieux) e o teste imunoenzimático (ELISA) na detecção de rotavírus nas fezes de crianças com diarreia. *Revista Brasileira de Patologia Clínica*, Rio de Janeiro, v. 24, n. 3, p. 89-92, 1988.
- ISHAK, R.; LINHARES, A.C.; GABBAY, Y.B.; ISHAK, M.O.G.; CARDOSO, D.D.P. Soroepidemiologia de rotavírus em uma população infantil, Goiânia, Goiás, Brasil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 26, n. 5, p. 280-284, 1984.
- JOENSUU, J.; KOSKENNIEMI, E.; PANG, X-L.; VESIKARI, T. Randomised placebo-controlled trial of rhesus-human reassortant rotavirus vaccine for prevention of severe rotavirus gastroenteritis. *The Lancet*, London, v. 350, n. 9086, p. 1205-1209, 1997.
- KAPIKIAN, A.Z. & CHANOCK, R.M. Rotaviruses. In: Fields, B.N.; Knipe, D.M.; (eds). *Fields Virology*, 3rd. ed., Philadelphia: Raven Publishers, p. 1657-1708, vol 2, 1996.
- KAPIKIAN, A.Z.; FLORES, J.; HOSHINO, Y.; GLASS, R.I.; MIDTHUN, K.; GORZIGLIA, M.; CHANOCK, M.R. Rotavirus: the major etiologic agent of severe infantile diarrhoea may be controllable by a "Jennerian" approach to vaccination. *The Journal Infectious Diseases*, Chicago, v. 153, n. 5, p. 815-822, 1986.
- KITAOKA, S.; SUZUKI, H.; NUMAZAKI, Y.; KONNO, T.; ISHIDA, N. The effect of trypsin on the growth and infectivity of human rotavirus. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, Sendai, v. 149, n. 4, p. 437-447, 1986.
- KONNO, T.; SUZUKI, H.; KUTSUZAWA, T.; IMAI, A.; KATSUSHIMA, N.; SAKAMOTO, M.; KITAOKA, S. Human rotavirus and intussusception. *The New England Journal of Medicine*, Boston, v. 297, n. 17, p. 945, 1977.

- KOOPMAN, J.S.; TURKISH, J.V.; MONTO, A.S.; GOUVEA, V.; SRIVASTAVA, S.; ISAACSON, E.R. Patterns and etiology of diarrhea in three clinical settings. *American Journal of Epidemiology*, Baltimore, v. 119, n.1, p. 114-123, 1984.
- LANATA, C.F. & BLACK, R.E. Guideline for design, conduct and analysis of community-based Rotavirus vaccine field trials. Lima: Instituto de Investigación Nutricional, 1989a. 26 p. [Scientific Series, Publicacion n.1]
- LANATA, C.F.; BLACK, R.E.; del AGUILA, R.; GIL, A.; VERASTEQUI, H.; GERNA, G.; FLORES, J.; KAPIKIAN, A.Z.; ANDRE, F.E. Protection of peruvian children against rotavirus diarrhea of specific serotypes by one, two, or three doses of the RIT 4237 attenuated bovine rotavirus vaccine. *The Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 159, n. 3, p. 452-459, 1989b.
- LANATA, C.F.; MIDTHUN, K.; BLACK, R.E.; BUTRON, B.; HUAPAYA, A.; PENNY, M.E.; VENTURA, G.; GIL, A.; JETT-GOHEEN, M.; DAVIDSON, B.L. Safety, immunogenicity, and protective efficacy of one and three doses of the tetravalent rhesus rotavirus vaccine in infants in Lima, Peru. *The Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 174, n. 2, p. 268-275, 1996.
- LeBARON, C.W.; FURUTAN, N.P.; LEW, J.F.; ALLEN, J.R.; GOUVEA, V.; MOE, C.; MONROE, S.S.; Viral agents of gastroenteritis. Public health importance and outbreak management. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, Atlanta, v. 39, RR-5, p. 1-24, 1990.
- 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. *Archives of Virology*, Vienna, v.141, n. 12, p. 2365-2374, 1996.
- LEVINE, M.M.; PRADO, V.; ROBINS-BROWNE, R.; LIOR, H.; KAPER, J.B.; MOSELEY, S.L.; GICQUELAIS, K.; NATARO, J.P.; VIAL, P.; TALL, B. Use of DNA probes and Hep-2 cell adherence assay to detect diarrheagenic *Escherichia coli*. *The Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 158, n. 1, p. 224-228, 1988.
- LIMBOS, M.A.P. & LIEBERMAN, J.M. Disseminated intravascular coagulation associated with rotavirus gastroenteritis: report of two cases. *Clinical Infectious Diseases*, Chicago, v. 22, n. 5, p. 834-836, 1996.
- LINHARES, A.C. Rotavirus infection in Brazil: Epidemiology, immunity, and potencial vaccination. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, São Paulo, v. 1, n. 6, p. 284-293, 1997.

- LINHARES, A.C.; GABBAY, Y.B.; MASCARENHAS, J.D.P.; FREITAS, R.B. de; OLIVEIRA, C.S.; BELLESI, N.; MONTEIRO, T.F.; LINS-LAINSON, Z.; RAMOS, F.L.P.; VALENTE, S.A. Estudo prospectivo das infecções por rotavírus em Belém, Pará, Brasil: uma abordagem clínico-epidemiológica. *Jornal de Pediatria*, Rio de Janeiro, v. 70, n. 4, p. 220-225, 1994.
- LINHARES, A.C.; GABBAY, Y.B.; MASCARENHAS, J.D.P.; FREITAS de, R.B.; OLIVEIRA, C.S.; BELLESI, N.; MONTEIRO, T.A.F.; LINS-LAINSON, Z.; RAMOS, F.L.P.; VALENTE, S.A. Immunogenicity, safety and efficacy of tetravalent rhesus-human, reassortant rotavirus vaccine in Belém, Brazil. *Bulletin of the World Health Organization*, Geneva, v. 74, n. 5, p. 491-500, 1996.
- LINHARES, A.C.; GABBAY, Y.B.; FREITAS R.B. de; TRAVASSOS DA ROSA, E.S.; MASCARENHAS, J.D.P.; LOUREIRO, E.C.B. Longitudinal study of rotavirus infections among children from Belém, Brazil. *Epidemiology and Infection*, Cambridge, v. 102, n. 5, p.129-145, 1989.
- LINHARES, A.C.; MONÇÃO, H.C.; GABBAY, Y.B.; DE ARAÚJO, V.L.C.; SERRUYA, A.C.; LOUREIRO, E.C.B. Acute diarrhoea associated with rotavirus among children living in Belém, Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, London, v. 77, n. 3, p. 384-390, 1983.
- LINHARES, A.C.; PEREIRA, J.D.; NAKAUTH, C.M.; GABBAY, Y.B. Rotavirus infection in wild marsupials (*Didelphis marsupialis*) of the Amazon region. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, London, v. 80, n. 1, p. 20-24, 1986.
- LINHARES, A.C.; PINHEIRO, F.P.; FREITAS, R.B. de; GABBAY, Y.B.; SHIRLEY, J.A.; BEARDS, G.M. An outbreak of rotavirus diarrhea among a nonimmune, isolated South American Indian community. *American Journal of Epidemiology*, Baltimore, v. 113, n. 6, p. 703-710, 1981.
- LINHARES, A.C.; PINHEIRO, F.P.; SCHMETZ, C.; MULLER, G.; PETERS, D. Duovírus (rotavírus) em Belém do Pará (nota prévia). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 19, n.4, p. 278-279, 1977.
- LINHARES, A.C.; LANATA, C.F.; HAUSDORFF, W. P.; GABBAY, Y.B.; BLACK, R.E. Reappraisal of the Peruvian and Brazilian lower-titer tetravalent rhesus-human reassortant rotavirus vaccine efficacy trials: analysis by severity of diarrhea. *The Pediatric Infectious Diseases Journal*, Baltimore, v.18, n.11, p. 1001-1006, 1999.
- MAFFEI, H.V.L. Mecanismos fisiopatológicos de produção de diarréia. In: Fagundes-Neto, U.; Wehba, J.; Penna, F.J. (eds). *Gastroenterologia pediátrica*, 2a. ed., Rio de Janeiro: MEDSI, 1991, p. 155-162.

- MAJEROWICZ, S.; KUBELKA, C.F.; STEPHENS, P.; BARTH, O.M. Ultrastructural study on experimental infection on rotavirus in a murine heterologous model. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 89, n. 3, p. 395-402, 1994.
- MASCARENHAS, J.D.P.; GABBAY, Y.B.; FREITAS, R.B. de; LINHARES, A.C. Distribuição temporal de perfis eletroforéticos de ácido nucléico de rotavírus em fezes de crianças em Belém, Pará. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 83, n. 4, p. 415-419, 1988.
- MATA, L.; SIMHON, A.; URRUTIA, J.J.; KRONMAL, R.A.; FERNANDEZ, R.; GARCIA, B. Epidemiology of rotaviruses in a cohort of 45 Guatemalan Mayan Indian children observed from birth to the age of three years. *The Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 148, n. 3, p. 452-461, 1983.
- MATSON, D.O.; O'RYAN, M.L.; HERRERA, I.; PICKERING, L.K.; ESTES, M.K. Fecal antibody responses to symptomatic and asymptomatic rotavirus infections. *The Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 167, n. 3, p. 577-583, 1993.
- MATSUI, S.M.; OFFIT, P.A.; VO, P.T.; MACKOW, E.R.; BENFIELD, D.A.; SHAW, R.D.; PADILLA, N.L.; GREENBERG, H.B. Passive protection against rotavirus-induced diarrhea by monoclonal antibodies to the heterotypic neutralization domain of VP7 and the VP8 fragment of VP4. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 27, n. 4, p. 780-782, 1989.
- MATSUNO, S.; UTAGAWA, E.; SUGIURA, A. Association of rotavirus infection with Kawasaki syndrome. *The Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 148, n. 1, p. 177, 1983.
- McCORMACK, J.G. Clinical features of rotavirus gastroenteritis. *The Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 4, n. 2, p. 167-174, 1982.
- McNABB, P.C. & TOMASI, T.B. Host defense mechanisms at mucosal surfaces. *Annual Review of Microbiology*, Palo Alto CA, v. 35, p. 477-496, 1981
- MESTECKY, J. & McGHEE, J.R. Immunoglobulin A (IgA): molecular and cellular interactions involved in IgA biosynthesis and immune response. *Advances of Immunology*, New York, v. 40, p. 153-245, 1987.
- MIDDLETON, P.J.; SYZMANSKI, M.T.; ABBOTT, G.D.; BORTOLUSSI, R.; HAMILTON, J.R. Orbivirus acute gastroenteritis of infancy. *The Lancet*, London, v. 1, n. 7869, p. 1241-1244, 1974.
- MIDTHUN, K.; GREENBERG, H.B.; HOSHINO, Y.; KAPIKIAN, A.Z.; WYATT, R.G.; CHANOCK, R.M.; Reassortant rotaviruses as potential live rotavirus candidate vaccines. *Journal of Virology*, Washington, v. 53, n. 3, p. 949-954, 1985.

- MIDTHUN, K. & KAPIKIAN, A.Z. Rotavirus vaccines: an overview. *Clinical Microbiology Reviews*, Washington, v. 9, n. 3, p. 423-434, 1996.
- MIGASENA, S.; SIMASATHIEN, S.; SAMAKOSES, R.; PITISUTTIHAM, P.; SANGORON, P.; VAN STEENIS, G.; BEVEUTY, E.C.; BUGG, H.; BISHOP, R.F.; DAVIDSON, B.L.; VESIKARI, T. Simultaneous administration of oral rhesus-human reassortant tetravalent (RRV-TV) rotavirus vaccine and oral poliovirus vaccine (OPV) in Thai infants. *Vaccine*, Guildford, v. 13, n. 2, p. 168-174, 1995.
- MOGILNER, B.M.; BAR-YOCHAI, A.; MISKIN, A.; SHIF, I.; ABOUDI, Y. Necrotizing enterocolitis associated with rotavirus infection. *Israel Journal of Medical Sciences*, Tel Aviv, v. 19, n. 10, p. 894-896, 1983.
- MUCHINIK, G.R.; GRINSTEIN, S.; PLAZA, A. Rotavirus infection in children hospitalized for diarrhoea in Argentina. *Annals of Tropical Paediatrics*, Abingdon, v. 1, n. 3, p. 167-173, 1981.
- NAKAGOMI, O. & NAKAGOMI, T. Rotavirus vaccines: a perspective. *Microbiology and immunology*, Tokyo, v. 40, n. 10, p. 701-709, 1996.
- NALIN, D.R.; LEVINE, M.M.; MATA, L.; DE CESPEDES, C.; VARGAS, W.; LIZANO, C.; LORIA, A.R.; SIMHON, A.; MOHS, E. Comparison of sucrose with glucose in oral therapy of infant diarrhea. *The Lancet*, London, v. 2, n. 8084, p. 277-279, 1978.
- NOONE, C. & BANATVALA, J.E. Hospital acquired rotaviral gastroenteritis in a general paediatric unit. *Journal Hospital Infectious*, New York, v. 4, n. 3, p. 297-299, 1983.
- O'RYAN, M.L.; MATSON, D.O.; ESTES, M.K.; PICKERING, L.K. Anti-rotavirus G type-specific and isotype-specific antibodies in children with natural rotavirus infections. *The Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 169, n. 3, p.504-511, 1994.
- OFFIT, P.A.; SHAW, R.D.; GREENBERG, H.B. Passive protection against rotavirus-induced diarrhea by monoclonal antibodies to surface proteins VP3 and VP7. *Journal of Virology*, Washington, v. 58, n. 2, p. 700-703, 1986.
- OFFIT, P.A. Host factors associated with protection against rotavirus disease: the skies are clearing. *The Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 174, suppl 1, p. S59-S64, 1996.
- OFFIT P.A. & CLARK, H.F. Vaccines for enteric viral pathogens. In: Blaser, M.J.; Smith, P.D.; Ravdin, J.I.; Greenberg, H.B.; Guerrant, R.L. (eds.) *Infectious of the gastrointestinal tract*, 1 ed., New York: Raven Press, 1995, p. 1471-1478.

- OISHI, I.; KIMURA, T.; MURAKAMI, T.; HARUKI, K.; SETO, Y.; MINEKAWA, Y.; FUNAMOTO, H. Serial observations of chronic rotavirus infection in an immunodeficient child. *Microbiology and Immunology*, Tokyo, v. 35, n. 11, p. 953-961, 1991.
- OSBORNE, M.P.; HADDON, S.J.; WORTON, K.J.; SPENCER, A.J.; STARKEY, W.G.; THORNER, D.; STEPHEN, J. Rotavirus-induced changes in the microcirculation of intestinal villi of neonatal mice in relation to the induction and persistence of diarrhoea. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, New York, v. 12, n. 1, p. 111-120, 1991.
- OSHITANI, H.; KASOLO, F.C.; MPABALWANI, M.; LUO, N.P.; MATSUBAYASHI, N.; BHAT, G.H.; SUZUKI, H.; NUMAZAKI, Y.; ZUMULA, A.; DuPONT, H.L. Association of rotavirus and human immunodeficiency virus infection in children hospitalized with acute diarrhea, Lusaka, Zambia. *The Journal of Infectious Diseases*, Chiacago, v. 169, n. 4, p. 897-900, 1994.
- PACINI, D.L.; BRADY, M.T.; BUDDE, C.T.; CONNELL, M.J.; HAMPARIAN, V.V.; HUGHES, J.H. Nosocomial rotaviral diarrhea: pattern of spread on wards in a children's hospital. *Journal of Medical Virology*, New York, v. 23, n. 4, p. 359-366, 1987.
- PAI, C.H.; SHAHRABADI, M.S.; INCE, B. Rapid diagnosis of rotavirus gastroenteritis by a commercial latex agglutination test. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 22, n. 5, p. 846-850, 1985.
- PANG, X-L.; JOENSUU, J.; VESIKARI, T. Detection of rotavirus RNA in cerebrospinal fluid in a case of rotavirus gastroenteritis with febrile seizures. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, Baltimore, v. 15, n. 6, p. 543-544, 1996.
- PEÑARANDA, M.E.; CUBITT, W.D.; SINARACHATANANT, P.; TAYLOR, D.N.; LIKANONSAKUL, S.; SAIF, L.; GLASS, R.I. Group C rotavirus infections in patients with diarrhea in Thailand, Nepal and England. *The Journal Infectious Diseases*, Chicago, v. 160, n. 3, p. 392-397, 1989.
- PEREIRA, H.G.; AZEREDO, R.S.; LEITE, J.P.G.; ANDRADE, Z.P.; CASTRO, L.A. A combined enzyme immunoassay for rotavirus and adenovirus. *Journal Virology Methods*, Amsterdam, v. 10, n. 1, p. 21-28, 1985.
- PEREIRA, H.G.; LINHARES, A.C.; CANDEIAS, J.A.N.; GLASS, R.I. National laboratory surveillance of viral agents of gastroenteritis in Brazil. *Bulletin of the Pan American Health Organization*, Washington, v. 27, n. 3, p. 224-233, 1993.

- PÉREZ-SCHAEL, I.; BLANCO, M.; GARCIA, D.; WHITE, L.; ALFONSO, E.; CRESPO, I.; CUNTO, W.; PITTAN, A.L.; KAPIKIAN, A.Z. FLORES, J. Evaluation of the antigenicity and reactogenicity of varying formulations of the rhesus rotavirus-based quadrivalent and the M37 rotavirus vaccine candidates. *Journal of Medical Virology*, New York, v. 42, n. 4, p. 330-337, 1994.
- PÉREZ-SCHAEL, I.; DAOUD, G.; WHITE, L.; URBINA, G.; DAOUD, N.; PEREZ, M.; FLORES, J. Rotavirus shedding by newborn children. *Journal of Medical Virology*, New York, v. 14, n. 2, p. 127-136, 1984.
- PÉREZ-SCHAEL, I.; GARCIA, D.; GONZALEZ, M.; GONZALEZ, R.; DAOUD, N.; PÉREZ, M.; CUNTO, W.; KAPIKIAN, A.Z.; FLORES, J. Prospective study of diarrheal diseases in Venezuelan children to evaluate the efficacy of rhesus rotavirus vaccine. *Journal of Medical Virology*, New York, v. 30, n. 3, p. 219-229, 1990.
- PÉREZ-SCHAEL, I.; GUNTIÑAS, M.J.; PÉREZ, M.; PAGONE, V.; ROJAS, A.M.; GONZÁLEZ, R.; CUNTO, W.; HOSHINO, Y.; KAPIKIAN, A. Efficacy of the rhesus rotavirus- based quadrivalent vaccine in infants and young children in Venezuela. *The New England Journal of Medicine*, Boston, v. 337, n. 17, p. 1181-1187, 1997.
- PÉREZ-SCHAEL, I. The impact of rotavirus disease in Venezuela. *The Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 174, suppl. 1, p. S19-S21, 1996.
- RAMIG, R.F. Rotaviruses: introduction and overview. *Currents Topics in Microbiology and Immunology*, Berlin, v. 185, p. 1-7, 1994.
- REEVES, R.R.; MOHASSIN, M.M.; MIDTHUN, K.; KAPIKIAN, A.Z.; NAGUIB, T.; ZAQUI, A.M.; Du PONT, H.L. An observational study of naturally acquired immunity to rotaviral diarrhea in a cohort of 363 Egyptian children. Calculation of risk for second episodes using age-specific person-years of observation. *American Journal of Epidemiology*, Baltimore, v. 130, n. 5, p. 981-988, 1989.
- RENNELS, M.B.; GLASS, R.I.; DENNEHY, P.H.; BERNSTEIN, D.I.; PICHICHERO, M.E.; ZITO, E.T.; MACK, M.E.; DAVIDSON, B.L.; KAPIKIAN, A.Z. Safety and efficacy of high-dose rhesus-human reassortant rotavirus vaccines - report of the National Multicenter Trial. *Pediatrics*, Evanston IL, v. 97, n. 1, p. 7-13, 1996.
- RICHARDSON, S.C. & BISHOP, R.F. Homotypic serum antibody responses to rotavirus proteins following primary infection of young children with serotype 1 rotavirus. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 28, n. 9, p. 1891-1897, 1990.
- RIEPENHOFF-TALTY, M.; LEE, P-C.; CARMODY, R.J.; BARRETT, H.J.; OGRA, P.L. Age-dependent rotavirus-enterocyte interaction. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, Baltimore, v. 170, n. 2, p. 146-154, 1982.

- RODRIGUEZ, W.J.; KIM, H.W.; ARROBIO, J.O.; BRANDT, C.D.; CHANOCK, R.M.; KAPIKIAN, A.Z.; WYATT, R.G.; PARROTT, R.H. Clinical features of acute gastroenteritis associated with human reovirus-like agent in infant and young children. *The Journal of Pediatrics*, St. Louis, v. 91, n. 2, p. 188-193, 1977.
- RUIZ, M.C.; ALONSO-TORRE, S.R.; CHARPILLENNE, A.; VASSEUR, M.; MICHELANGELI, F.; COHEN, J.; ALVARADO, F. Rotavirus interaction with isolated membrane vesicles. *Journal of Virology*, Washington, v. 68, n. 6, p. 4009-4016, 1994.
- RUUSKA, T.; VESIKARI, T. Rotavirus disease in Finnish children: use of numerical scores for clinical diarrhoeal episodes. *Scandinavian Journal Infectious Diseases*, Stockolm, v.22, p.259-267, 1990.
- SAAVEDRA, J.M.; BAUMAN, N.A.; OUNG, I.; PERMAM, J.A.; YOLKEN, R.H. Feeding of Bifidobacterium bifidum and Streptococcus termophilus to infants in hospital for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus. *The Lancet*, London, v. 344, n. 15, p. 1046-1049, 1994.
- SACH, D.A.; CHOWDHURY, A.M.; EUSOF, A.; ALI, M.A.; MERSON, M.H.; ISLAM, S.; BLACK, R.E.; BROWN, K.H. Oral hydration rotavirus diarrhoea: A double blind comparison of sucrose with glucose electrolyte solution. *The Lancet*, London, v. 2, n. 8084, p. 280-283, 1978.
- SACK, D.A.; SACK, R.B.; BLACK, R.E. Treatment of diarrhoea caused by rotavirus (letter). *The New England Journal of Medicine*, Boston, v. 304, n. 20, p. 1239, 1981.
- SAITOH, Y.; MATSUNO, S.; MUKOYAMA, A. Exanthem subitum and rotavirus. *The New England Journal of Medicine*, Boston, v. 304, n.14, p. 845, 1981.
- SALMI, T.T.; ARISTILA, P.; KOIVIKO, A. Central nervous system involvement in patients with rotavirus gastroenteritis. *Scandinavian of Journal Infectious Diseases*, Stockolm, v. 10, n. 1, p. 29-31, 1978.
- SANTOSHAM, M.; DAUM, R.J.; DILLMAN, L.; RODRIGUEZ, J.L.; LUQUE, S.; RUSSEL, R.; KOURANY, M.; RYDER, R.W.; BARTLETT, A.V.; ROSENBERG, A.; BENENSON, A.S.; SACK, R.B. Oral rehydration therapy of infantile diarrhoea: a controlled study in the United States of Panama. *The New England Journal of Medicine*, Boston, v. 306, n. 18, p. 1070-1076, 1982.
- SANTOSHAM, M.; LETSON, G.W.; WOLFF, M.; REID, R.; GAHAGAN, S.; ADAMS, R.; CALLAHAN, C.; SACK, R.B.; KAPIKIAN, A.Z. A field study of the safety and efficacy of two candidate rotavirus vaccines in a Native American population. *The Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 163, n. 3, p. 483-487, 1991.

- SANTOSHAM, M.; MOULTON, L.H.; REID, R.; CROLL, J.; WEATHERHOLT, R.; WARD, R.; FORRO, J.; ZITO, E.; MACK, M.; BRENNEMAN, G.; DAVIDSON, B.L. Efficacy and safety of high-dose rhesus-human reassortant rotavirus vaccine in a Native American populations. *The Journal of Pediatrics*, St. Louis, v.131, n.4, p. 632-638, 1997.
- SANTOS, N.; LIMA, R.C.C.; PEREIRA, C.F.A.; GOUVEA, V. Detection of rotavirus types G8 and G10 among Brazilian children with diarrhea. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v.36, n.9, p.2727-2729, 1998.
- SAULSBURY, F.T.; WINKELSTEIN, J.A.; YOLKEN, R.H. Chronic rotavirus infection in immunodeficiency. *The Journal of Pediatrics*, St. Louis, v. 97, n. 4, p. 61-65, 1980
- SILVA, K.T.F.; LINHARES, A.C.; GABBAY, Y.B. Microsurto familiares de gastroenterite aguda associada a rotavírus na área de Belém, Pará. *Revista da Fundação SESP*, Rio de Janeiro, v. 29, n. 2, p. 129-136, 1984
- SNODGRASS, D.R.; ANGUS, K.W.; GRAY, E.W. Rotavirus infections in lambs: pathogenesis and pathology. *Archives of Virology*, Vienna, v. 55, n. 4, p. 263-274, 1977.
- SPENCER, A.J.; OSBORNE, M.P.; HADDON, S.J.; COLLINS, J.; STARKEY, W.G.; CANDY, D.C.; STEPHEN, J. X-ray microanalysis of rotavirus-infected mouse intestine: a new concept of diarrhoeal secretion. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, New York, v. 10, n. 4, p. 516- 529, 1990.
- STALS, F.; WALTHER, F.J.; BRUGGEMAN, C.A. Faecal and pharyngeal shedding of rotavirus and IgA rotavirus in children with diarrhoea. *Journal of Medical Virology*, New York, v. 14, n. 4, p. 333-339, 1984.
- STARKEY, W.G.; COLLINS, J.; CANDY, D.C.A.; SPENCER, A.J.; OSBORNE, M.P.; STEPHEN, J. Transport of water and electrolytes by rotavirus-infected mouse intestine: a time course study. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, New York, v. 11, n. 2, p. 254-260, 1990.
- STEINHOFF, M.C. Rotavirus: the first five years. *The Journal of Pediatrics*, St. Louis, v. 96, n. 4, p. 611-622, 1980.
- STUKER, G.; SHIRO, L.; SCHMIDT, N.H. Antigenic comparisons of two new rotaviruses from rhesus monkeys. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 11, n. 2, p. 202-203, 1980.
- SUZUKI, H.; KITAOKA, S.; SATO, T.; KONNO, T.; IWASAKI, Y.; NUMAZAKI, Y.; ISHIDA, N. Further investigation on the mode of entry of human rotavirus into cells. *Archives of Virology*, Vienna, v. 91, n. 1-2, p. 135-144, 1986.

- TANIGUCHI, K.; URUSAWA, T.; MORITA, Y.; GREENBERG, H.B.; URASAWA, S. Direct serotyping of human rotavirus in stools by enzyme-linked immunosorbent assay using serotype 1-, 2-, 3- and 4 specific monoclonal antibodies to VP7. *The Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 155, n. 6, p. 1159-1166, 1987.
- TAVARES-JÚNIOR, P.A.; CARVALHO, M.D.D.; BOECHAT, T.; NASCIMENTO, F.T. Rotavirus como agente associado a diarreia protraída em criança de baixa renda. *Arquivo Brasileiro de Medicina*, Rio de Janeiro, v. 62, p. 343-345, 1988.
- THULIN, J.D.; KUHLENSCHMIDT, M.S.; GELBERG, H.B. Development characterization and utilization of an intestinal xenograft model for infectious disease research. *Laboratory Investigation*, Baltimore, v. 65, n. 6, p. 719-731, 1991.
- TIAN, P.; HU, Y.; SCHILLING, W.P.; LINDSAY, D.A.; EIDEN, J.; ESTES, M.K. The nonstructural glycoprotein of rotavirus affects intracellular calcium levels. *Journal of Virology*, Washington, v. 68, n. 1, p. 251-257, 1994.
- TIMENETSKY, M.C.S.T.; GOUVEA, V.; SANTOS, N.; ALGE, M.E.; KISIELLIUS, J.J.; CARMONA, R.C.C. Outbreak of severe gastroenteritis in adults and children associated with type G2 rotavirus. *Journal of Diarrhoeal Diseases Research*, Bangladesh, v. 14, n. 2, p. 71-74, 1996.
- TIMENETSKY, M.C.S.T.; SANTOS, N.; GOUVEA, V. Survey of rotavirus G and P types associated with human gastroenteritis in São Paulo, Brazil, from 1986 to 1992. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 32, n. 10, p. 2622-2624, 1994.
- TOTTERDELL, B.M.; NICHOLSON, K.G.; MACLEOD, J.; CHRYSTIE, I.L.; BANATVALA, J.E. Neonatal rotavirus infection: role of lacteal neutralizing alfa 1-antitrypsin and nonimmunoglobulin antiviral activity in protection. *Journal of Medical Virology*, New York, v. 10, n. 1, p. 37-44, 1982.
- TRIER, J.S. Structure and function of intestinal "M" cells. *Gastroenterology clinics of North America*. Philadelphia, v. 20, n. 3, p. 531-547, 1991.
- TSUNEMITSU, H.; JIANG, B.; SAIF, L.J. Detection of group C rotavirus antigens and antibodies in animals and humans by enzyme-linked immunosorbent assays. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 30, n. 8, p. 2129-2134, 1992.
- VESIKARI, T.; ISOLAURI, E.; DELEM, A.; D'HONDT, E.; ANDRÉ, F.E.; BEARDS, G.M.; FLEWETT, T.H. Clinical efficacy of the RIT 4237 live attenuated bovine rotavirus vaccine in infants vaccinated before a rotavirus epidemic. *The Journal of Pediatrics*, St. Louis, v. 107, n. 2, p. 189-194, 1985.

- VESIKARI, T.; ISOLAURI, E.; DELEM, A.; D'HONDT, E.; ANDRÉ, F.E.; ZISSIS, G. Immunogenicity and safety of live oral attenuated bovine rotavirus vaccine strain RIT 4237 in adults and young children. *The Lancet*, London, v. 2, n. 8354, p. 807-811, 1983.
- VESIKARI, T.; RUUSKA, T.; DELEM, A.; ANDRÉ, F.E.; BEARDS, G.M.; FLEWETT, T.H. Efficacy of two doses of RIT 4237 bovine rotavirus vaccine for prevention of rotavirus diarrhoea. *Acta Paediatrica Scandinavica*, Stockholm, v. 80, n. 2, p. 173-180, 1991.
- WARD, R.L. Mechanisms of protection against rotavirus in humans and mice. *The Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 174, suppl 1, p. S51-58, 1996.
- WARD, R.L.; BERNSTEIN, D.I.; YOUNG, E.C.; SHERWOOD, J.R.; KNOWLTON, D.R.; SCHIFF, G.M. Human rotavirus studies in volunteers: determination of infectious dose and serological response to infection. *The Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 154, n. 5, p. 871-880, 1986.
- WENMAN, W.M.; HINDE, D.; FELTHAM, S.; GURWITH, M. Rotavirus infection in adults: results of a prospective family study. *The New England Journal of Medicine*, Boston, v. 301, n. 6, p. 303-306, 1979.
- WHO/CDC 92-38 Eight programme Report 1990-1991. Programme for Control of Diarrhoeal Diseases.
- WHO/CDC/UNICEF Consensus Workshop: Rotavirus Vaccines for the Immunization of Children in Developing Countries. Geneva, Organização Mundial de Saúde: UNICEF, [Report], 9-10 January, 1997.
- WU, H.; TANIGUCHI, K.; WAKASUGI, F.; UKAE, S.; CHIBA, S.; OHSETO, M.; HASEGAWA, A.; URASAWA, T.; URASAWA, S. Survey on the distribution of the gene 4 alleles of human rotaviruses by polymerase chain reaction. *Epidemiology and Infection*, Cambridge, v. 112, n. 3, p. 615-622, 1994.
- WYATT, R.G.; YOLKEN, R.H.; URRUTIA, J.J.; MATA, L.; GREENBERG, H.B.; CHANOCK, R.M.; KAPIKIAN, A.Z. Diarrhea associated with rotavirus in rural Guatemala. A longitudinal study of 24 infants and young children. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Lawrence KS, v. 28, n. 2, p. 325-328, 1979.
- YOLKEN, R.H.; LOSONSKY, G.A.; VONDERFECHT, S.; LEISTER, F.; WEE, S.B. Antibody to human rotavirus in cow's milk. *The New England Journal of Medicine*, Boston, v. 312, n. 10, p. 605-610, 1985.

- YOLKEN, R.H.; PETERSON, J.A.; VONDERFECHT, S.L.; FOUTS, E.T.; MIDTHUN, K.; NEWBURG, D.S. Human milk mucin inhibits rotavirus replication and prevents experimental gastroenteritis. *Journal of Clinical Investigation*, New York, v. 90, n. 5, p. 1984-1991, 1992.
- YOLKEN, R.H.; WYATT, R.G.; BARBOUR, B.A.; KIM, H.W.; KAPIKIAN, A.Z.; CHANOCK, R.M. Measurement of rotavirus antibody by enzyme-linked immunosorbent assay blocking assay. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 8, n. 3, p. 283-287, 1978.
- YOSHIDA, A.; KAWAMITU, T.; TANAKA, R.; OKUMURA, M.; YAMAKURA, S.; TAKASAKI, Y.; HIRAMATSU, H.; MOMOI, T.; IIZUKA, M.; NAKAGOMI, O. Rotavirus encephalitis: detection of the virus RNA in the cerebrospinal fluid. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, Baltimore, v. 14, n. 10, p. 914 -916, 1995.
- ZHENG, B.J.; CHANG, R.X.; MA, G.Z.; XIE, J.M.; LIU, Q.; LIANG, X.R.; NG, M.H. Rotavirus infection of the oropharynx and respiratory tract in young children. *Journal of Medical Virology*, New York, v. 34, n. 1, p. 29-37, 1991a.
- ZHENG, B.J.; MA, G.Z.; TAM, J.S.L.; LO, S.K.F.; HON, M.; LAM, B.C.C.; YEUNG, C.Y. The effects of maternal antibodies on neonatal rotavirus infection. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, Baltimore, v. 10, n. 11, p. 865-868, 1991b.

APÊNDICES

TERMO DE CONSENTIMENTO

IMUNIZAÇÃO DE CRIANÇAS COM UMA VACINA TETRAVALENTE CONTRA ROTAVIRUS

Eu (nome)

Pai () Mãe () ou Guardião legal () da criança de

Nome: _____

Residente (ENDEREÇO):

- fui devidamente informado sobre cada detalhe do projeto, e

- então, autorizo que meu (minha) filho (a), ou criança sob minha responsabilidade, participe dos estudos de campo com uma vacina preparada pelo Laboratório Wyeth-Ayerst, Estados Unidos, contra gastroenterites causadas por rotavírus.

Belém, _____ de _____ de 199 _____

Assinatura

Nota: Sua assinatura neste documento não isenta a Equipe do Projeto, sob hipótese alguma, das responsabilidades que assumiu ao desenvolver o projeto. De acordo com as recomendações que resultaram da Conferência Internacional de Helsinque (1964) e Tóquio (1975), o presente termo de consentimento apenas confirma sua aprovação, autorização e colaboração com respeito ao estudo que estamos propondo. Você receberá uma cópia assinada deste Termo de Consentimento.

CASOS DE DIARRÉIA AGUDA

CÓDIGO: ____ (1º DIA DA SEMANA) DATA: __/__/__

NOME: _____ ENDEREÇO: _____

DIA	DOM	SEG	TER	QUA	QUI	SEX	SAB
ESTAVAM	—	—	—	—	—	—	—
Nº FEZES LIQ/PAST.	—	—	—	—	—	—	—
FEZES COM MUÇO	—	—	—	—	—	—	—
Nº DE VÔMITOS	—	—	—	—	—	—	—
MÃE NOTA FEBRE	—	—	—	—	—	—	—
TEMP. RETAL	—	—	—	—	—	—	—
DESIDRATAÇÃO	—	—	—	—	—	—	—
TRATAMENTO	—	—	—	—	—	—	—
ANTIBIÓTICO	1.	—	—	—	—	—	—
	2.	—	—	—	—	—	—
	3.	—	—	—	—	—	—
ANTI-DIARRÉICO	1.	—	—	—	—	—	—
	2.	—	—	—	—	—	—
AMOSTRA DE FEZES	—	—	—	—	—	—	—
TEMPO DEFECAÇÃO	—	—	—	—	—	—	—
PROCUROU TRAT.	—	—	—	—	—	—	—

SUPERVISOR: _____ DATA DE ENTRADA DO DISQUETE: _____

ESTAVAM: 0. SEM INFORMANTE 1. MÃE 2. PAI OU OUTRO ADULTO
3. PESSOA JOVEM 4. VIZINHO 5. OUTROS 9. NÃO SABE.

GRAU DE DESIDRATAÇÃO:

0 - NÃO, OBSERVAÇÃO INDIRETA; 1 - LEVE, OBSERVAÇÃO INDIRETA;
 2 - MODERADA, OBSERVAÇÃO INDIRETA; 3 - SEVERA, OBSERVAÇÃO INDIRETA;
 4 - NÃO, OBSERVAÇÃO DIRETA; 5 - LEVE, OBSERVAÇÃO DIRETA;
 6 - MODERADA, OBSERVAÇÃO DIRETA; 7 - SEVERA, OBSERVAÇÃO DIRETA;
 8 - NÃO PROCEDE 9 - NÃO SABE

ANTIBIÓTICOS

0- SEM ANTIBIÓTICOS
 1- AMPICILINA
 2- CLORAFENICOL
 4- ERITROMICINA
 5- FURAZOLIDONA
 6- SULFAS
 7- NEOMICINA OU ESTREPTOMICINA
 8- OUTROS (especificar em comentários)
 9- NÃO SABE

ANTI-DIARRÉICOS

0- SEM ANTI-DIARRÉICOS
 1- LOPERAMIDE
 2- ANTI-ESPASMÓDICOS
 4- CAOLIM-PECTINA
 5- MEDICINA TRADICIONAL
 6- OPIÁCEOS
 7- OUTROS (ESPECIFICAR EM COMENTÁRIOS)
 8- DESCONHECIDO (não sabe)

TEMPO DEFECAÇÃO (ESPAÇOS CORRESPONDENTES ÀS HORAS DESDE A DEFECAÇÃO): 0- 30 min.; 01- 31 min - 2 h;
02- 2-3 h; 03- 3 - 4 h.PROCUROU TRATAMENTO: 0- NÃO; 1 - ATENDIMENTO PÚBLICO; 2 - CENTRO COMUNITÁRIO;
3 - FARMÁCIA; 4 - CONSULTÓRIO PARTICULAR; 5 - OUTROS.

