



ARTIGO ORIGINAL

Estudo prospectivo das infecções por rotavírus em Belém, Pará, Brasil: uma abordagem clínico-epidemiológica

Prospective study of rotavirus infections in Belém, Pará, Brazil: clinical and epidemiological features

Alexandre C. Linhares¹, Yvone B. Gabbay¹, Joana D'Arc P. Mascarenhas¹, Ronaldo B. de Freitas¹,
Consuelo S. Oliveira¹, Newton Bellesi², Talita F. Monteiro¹, Zéa Lins-Lainson¹,
Francisco L. P. Ramos¹, Sebastião A. Valente¹

Resumo

Um estudo prospectivo acerca das diarreias agudas foi levado a efeito no período de abril de 1990 a setembro de 1992, com o propósito primário de avaliar a imunogenicidade, inocuidade e eficácia de uma candidata a vacina para rotavírus, tetravalente, recombinante símio-humana ("RRV-TV"), envolvendo 540 crianças habitantes de Belém, Pará, Brasil. Considerando que metade desses indivíduos recebeu placebo, tal investigação ensejou a oportunidade de ampliar-se o conhecimento clínico-epidemiológico das infecções por esses agentes na região. Foram registrados 2.789 episódios de diarreia no período acima citado. Desse total, 86 (3,1%) se revelaram associados a rotavírus, com destaque para o sorotipo 1, que concorreu com 67,9% dos casos em que foi possível proceder-se à sorotipagem. Taxas de diarreia por criança/ano de 5,9 e 0,2 foram relacionadas ao total de episódios e os positivos para rotavírus, respectivamente. Aliás, esses agentes foram detectados isoladamente em 70,9% dos 86 casos em que se denotou positividade. Quanto às associações com outros enteropatógenos, prevaleceram os casos em que se identificaram *G. intestinalis* e *E. coli* enteropatógenas, concorrendo com 7,0% e 11,6% das infecções mistas, respectivamente. As taxas mensais de diarreias ocasionadas por rotavírus variaram de 0,8 a 9,6%, com picos de incidência durante os meses mais secos do ano. Valores médios dos escores clínicos de 9,4 e 5,3 foram demonstrados para os casos positivos e negativos para rotavírus, respectivamente.

J. pediatr. (Rio). 1994; 70(4):220-225: rotavírus, clínica, epidemiologia.

Introdução

Sabe-se que os rotavírus se constituem na mais importante causa de gastroenterite aguda entre crianças de baixa

Abstract

A prospective study of acute diarrhoeal diseases was carried out from April 1990 to September 1992 with the purpose of assessing the immunogenicity, safety and efficacy of a Rhesus-human reassortant rotavirus ("RRV-TV") vaccine, involving 540 children living in Belém, Pará, Brazil. As half of the children received placebo, this trial provided the opportunity of broadening the knowledge on both clinical and epidemiological aspects of rotavirus infection in the Amazon region. There were 2,789 diarrhoeal episodes during the above mentioned period, of which 86 (3,1%) associated with rotavirus; serotype 1 was the more prevalent, accounting for 67,9% of serotyped strains. Rates of 5,9 and 0,2 episodes of diarrhoea per child/ year were noted for all cases and the rotavirus-related ones, respectively. This agent was the only pathogen found in 70,9% of the 86 rotavirus-related episodes of acute diarrhoea, whereas the most frequent associations involved *Giardia intestinalis* and enteropathogenic *Escherichia coli*, accounting for 7,0% and 11,6% of mixed infections, respectively. The monthly rates of rotavirus-related episodes of diarrhoea ranged from 0,8% to 9,6%, reaching the highest peaks during the dry months of the year. Means of clinical severity scores of 9,4 and 5,3 were recorded for the rotavirus-related episodes of diarrhoea and those of other aetiology, respectively.

J. pediatr. (Rio). 1994; 70(4):220-225: rotavirus, symptoms, epidemiology.

idade, determinando expressiva mortalidade nos países que integram o chamado "Terceiro Mundo". Com efeito, estimativas conservadoras da Organização Mundial de Saúde assinalam a ocorrência de 1.000.000 de óbitos por ano, conseqüentes à diarreia aguda (geralmente com desidratação) associada aos rotavírus¹. Portanto, é inquestionável a importância em termos de saúde pública que assumem esses vírus.

1. Instituto Evandro Chagas - Fundação Nacional de Saúde do Ministério da Saúde.

2. Clínica de Medicina Preventiva do Pará - CLIMEP.

Os estudos sobre rotavírus na Amazônia iniciaram em 1977², com a descoberta pioneira desses agentes em âmbito nacional. Desde então procurou-se avaliar a magnitude epidemiológica do problema em nossa região, dirigindo-se as investigações não apenas ao âmbito hospitalar como, também, à comunidade. Concluiu-se daí que 33% dos casos hospitalizados se relacionavam a rotavírus³; por outro lado, estudos comunitários prospectivos revelaram que 10% das diarreias agudas se relacionam a esses enteropatógenos⁴. Subseqüentemente demonstrou-se que, em Belém, circulam os quatro sorotipos de rotavírus capazes de infectar o homem⁵, do que se depreende que uma futura vacina contra esses vírus deva proteger as crianças contra essas variedades antigênicas.

Os resultados anteriormente descritos estabeleceram as bases para empreender-se uma avaliação de campo com imunizante produzido pela "Wyeth-Ayerst Research", Filadélfia, Pensilvânia, E.U.A., produto devidamente licenciado pela Organização Mundial de Saúde para testes em todo o mundo.

O trabalho de campo propriamente dito com a candidata a vacina contra rotavírus transcorreu ao longo de dois anos, caracterizando-se como uma investigação prospectiva, duplo-cega, controlada por placebo, e randomizada, em que se administrou vacina ou placebo, na proporção de 1:1, a 540 crianças de Belém, Brasil. A vacina era tetravalente, recombinante símio-humana (a "RRV-TV", de "Rhesus-human reassortant, rotavirus, tetravalent vaccine"), reunindo, por dose, 4 x 10⁴ unidades formadoras de placa dos vírus. A sua administração foi oral, em três doses, aos primeiro, terceiro e quinto meses de vida. Além do parâmetro imunogenicidade, objetivou-se estudar a inocuidade e a eficácia desse imunizante. Esses parâmetros serão objeto de análise específica, não inserida no presente texto. Nosso relato visa, basicamente, a discutir os resultados concernentes aos aspectos etiológico, epidemiológico e clínico dos episódios de gastroenterite aguda registrados no grupo de crianças que recebeu o placebo, portanto, refletindo condições naturais de infecção.

Pacientes e métodos

A participação de cada criança no presente estudo foi obrigatoriamente precedida da assinatura pelos pais, ou responsáveis, de termo de consentimento (com informações) devidamente aprovado pelo Comitê de Ética Médica do Instituto Evandro Chagas.

O estudo foi conduzido em Belém, Pará, norte do Brasil, onde o clima é tropical e úmido, com intensas precipitações pluviométricas nos 3 primeiros meses do ano. Originalmente foram envolvidas 540 famílias pertencentes a um nível sócio-econômico baixo, habitantes de três bairros periféricos da cidade, e vivendo sob condições de saneamento em geral precárias. Os aspectos logísticos concernentes ao censo de gestantes, recrutamento de recém-nascidos, administração de vacina/placebo e vigilância dos possíveis efeitos colaterais e, subseqüentemente, dos episódios diarreicos, já mereceram descrição detalhada em relato anterior⁶.

Definiu-se diarreia (à semelhança do que se observa em todos os outros estudos com candidatas a vacina contra rotavírus) como três ou mais evacuações líquidas ou pastosas em um período de 24 horas.

Os espécimes diarreicos foram obtidos quer no curso da doença, quer durante as 48 horas que sucederam ao término da diarreia. Todas as amostras foram processadas rotineiramente, com vistas ao diagnóstico de rotavírus, utilizando-se o "kit" "DAKOPATTS ELISA" (Copenhague, Denmark, Postbox 1404). Somente os materiais positivos foram subseqüentemente testados quanto à presença de outro enteropatógeno, com base em metodologia que é essencialmente descrita no "WHO Manual for Laboratory Investigation of Acute Enteric Infections", Programa de Controle de Doenças Diarreicas, CDD/833. Os procedimentos de sorotipagem foram levados a efeito rotineiramente, tal como preconizam Taniguchi et al.⁷. Cabe assinalar que todos os resultados foram, ulteriormente, objeto de análise no "Department of Hygiene and Epidemiology, Sapporo, Medical College", Sapporo, Japão. As cepas não sorotipadas por essa técnica foram submetidas ao procedimento de imuno-microscopia eletrônica em fase sólida ("SPIEM")⁸.

Todas as amostras enteropatógenicas de *E. coli* ("EPEC") identificadas nesse estudo, com base em procedimentos clássicos, foram submetidas a métodos mais específicos e sensíveis no "Enteric Diseases Laboratory, Centers for Disease Control", Atlanta, E.U.A., sendo então testadas quanto à presença do fator de aderência ("EAF")⁹.

Utilizou-se o programa "Epi-info" (Versão 5; "Centers for Disease Control and Prevention", Atlanta, Georgia, E.U.A.) para a análise estatística, aplicando-se essencialmente o teste do "qui-quadrado" (Mantel-Haenszel). Diferenças estatisticamente significativas foram expressas por valores de $p < 0,05$.

Resultados

Das 540 crianças que efetivamente iniciaram a investigação, 466 (86,3%) concluíram o período de 2 anos sob acompanhamento sistemático, sendo que as perdas ocorreram, fundamentalmente, em função de mudanças de residência das famílias.

Apesar da metodologia antes descrita aplicar-se ao total de crianças sob estudo, os dados a seguir especificados se orientam, estritamente, àquelas que receberam o placebo.

Os resultados concernentes às infecções puras e mistas por rotavírus são apresentados na tabela 1. Dos 86 casos positivos para rotavírus, 25 (29,1%) exibiram concomitância com outros enteropatógenos. As associações desses agentes viróticos com "EPEC" e *Giardia intestinalis* foram as mais freqüentes, concorrendo com 11,6% e 7,0% das situações, respectivamente.

Das 86 amostras de rotavírus detectadas no grupo placebo, 81 (94,2%) foram sorotipadas, primariamente através da utilização de anticorpos monoclonais e, se necessário, submetidas ao "SPIEM". Entre os sorotipos detectados registrem-se 55 (67,9%) de 1, 21 (25,9%) de 2, 1 (1,2%) de 3 e 4 (4,3%) de 4.

Tabela 1 - Enteropatógenos nas fezes de 86 crianças com diarreia que excretavam rotavírus

Enteropatógenos	nº	%
Somente Rotavírus	61	70,9
RV + <i>E. coli</i> ST (+)	2	2,3
RV + <i>Giardia intestinalis</i>	6	7,0
RV + EPEC	10	11,6
RV + <i>E. coli</i> ST (+) + <i>E. coli</i> LT (+)	1	1,2
RV + <i>E. coli</i> ST (+) + <i>E. coli</i> LT (+) + EPEC	1	1,2
RV + <i>Entamoeba histolytica</i>	1	1,2
RV + <i>Salmonella</i> sp.	1	1,2
RV + <i>Aeromonas hydrophila</i>	1	1,2
RV + <i>G. intestinalis</i> + <i>E. histolytica</i>	1	1,2
RV + <i>Campylobacter</i> sp. + <i>E. histolytica</i>	1	1,2

RV = Rotavírus

EPEC = *E. coli* enteropatógena

LT (+) = Positiva para Toxina Lábil

ST (+) = Positiva para Toxina Estável

O número total de episódios de diarreia registrado no período de abril de 1990 a setembro de 1992 foi 2.789. A distribuição mensal desses casos durante o período de acompanhamento é demonstrada na fig. 1. As mais expressivas freqüências foram verificadas de janeiro a março de 1991.

A figura 2 ilustra a distribuição temporal dos episódios diarreicos associados a rotavírus durante o "follow-up". É interessante observar-se que os picos de incidência ocorrem, a cada ano, no quadrimestre junho-setembro.

A figura 3 exibe a ocorrência dos sorotipos de rotavírus em função da idade, durante o período em questão. Das 55 cepas pertencentes ao sorotipo 1, 41 (74,5%) foram detectadas durante o primeiro ano de vida, com pico aos cinco

meses de idade. Por outro lado, as amostras caracterizadas como sorotipo 2 ocorreram em número de 21, a maioria (62,0%) ao longo do segundo ano de vida. Somente uma amostra foi tipada como 4. Casos de reinfeção (não exibidos na figura 3) foram detectados em 5 crianças. O mais curto intervalo de tempo entre duas infecções foi de quatro meses e, o mais longo, de 18 meses. Infecções primárias por sorotipo 2 ocorreram em 2 indivíduos: em um deles sucedida de reinfeção pelo mesmo sorotipo; em outro, pelo tipo 1. Primeiras infecções pelo 1 se registraram nas outras 3 crianças: em uma delas configurou-se tripla infecção, sucedendo-se a ocorrência dos sorotipos 1 e 2. Em outra denotou-se reinfeção pelo mesmo sorotipo inicial e, numa terceira, o segundo episódio se associou a amostra não sorotipada.

A figura 4 exibe a distribuição das taxas de diarreia (número de episódios por criança/ano) calculadas a partir do quinto mês de vida (ocasião em que se completava a administração das três doses de vacina ou placebo). No que concerne à totalidade dos casos, esses parâmetros variaram de 3,9 a 8,2, para as idades de 22 e 10 meses, respectivamente. Quanto à positividade para rotavírus, a variação estendeu-se de 0,1 a 0,4. Os termos médios se situaram em 5,9 e 0,2 para o total e os casos associados a rotavírus, respectivamente.

Os parâmetros clínicos de 1.323 casos de diarreia são sumarizados na tabela 2. Dividem-se em duas categorias, de acordo com a presença de rotavírus nas amostras fecais, bem como em relação à severidade clínica. Foram significativamente mais freqüentes a febre (temperatura retal acima de 38° C) e os casos clínicos de maior severidade, ou seja, com valores do Escore de Kapikian (E.K.) iguais ou superiores a 9 (10), entre as crianças que excretavam rotavírus. As diferenças no tocante à severidade clínica, quantificada pelo E.K., são ilustradas nas figuras 5 e 6.

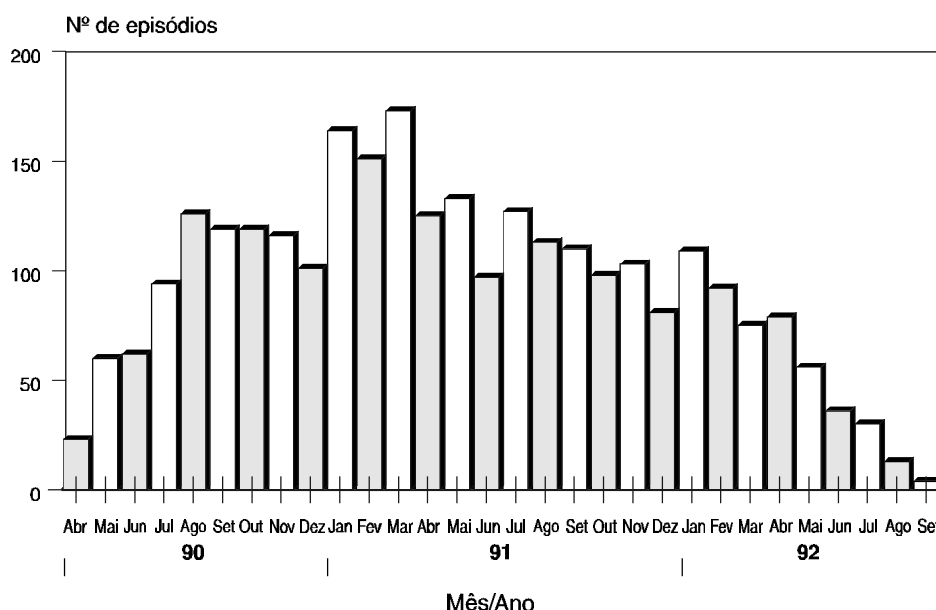
Figura 1 - Distribuição temporal de 2.789 episódios de diarreia

Tabela 2 - Manifestações clínicas dos episódios de diarreia, de acordo com a presença de rotavírus nas fezes

Sintomas/sinais	Relacionados a Rotavírus	Outros (n)
Duração média da diarreia	4,8 (86)	5,1 (1.237)
Nº médio de evacuações por dia	7,4 (86)	5,1 (1.237)
Duração média dos vômitos	2,6 (63)	2,0 (317)
Frequência de febre (%)	65,9 (86)	31,7 (1.237)*
% desidratação		
Não / leve	87,0 (86)	83,1 (1.237)
Média	0,0 (86)	0,2 (1.237)
Média do E. K.	9,4 (86)	5,31 (1.237)*

(n) - nº de episódios examinados E.K. = Escore de Kapikian

* = p < 0,05

Discussão

Os achados etiológicos e clínico-epidemiológicos que emergiram à análise do grupo de crianças que recebeu o placebo possibilita ampliar os conhecimentos sobre a história natural das infecções por rotavírus em nossa região.

Na presente avaliação, a incidência global de episódios de diarreia relacionados a rotavírus, 3,1%, correspondeu à metade das taxas alcançadas em estudos progressos na área de Belém⁴. É possível que as diferentes faixas etárias abrangidas nos dois estudos tenham se constituído no fator determinante dessa discrepância. Também é digno de nota que a taxa global dos casos de diarreia por criança/ano, 5,9, corresponde a pelo menos duas vezes aquela registrada em investigação prospectiva de três anos conduzida em Belém, de 1983 a 1985⁴. Admite-se que tal diferença decorra do fato

de que, no presente estudo, o processo de vigilância dos episódios diarreicos se processou mais efetivamente do que em avaliações prévias, ensejando detecção mais precisa da incidência.

Os resultados em discussão assinalam a predominância dos rotavírus pertencentes ao sorotipo 1, o que é compatível com achados anteriores em Belém, Brasil⁵. Assinale-se ainda que, tal como antes configurado⁵, as infecções por sorotipos 1 e 2 ocorrem mais frequentemente durante os primeiro e segundo anos de vida, respectivamente. Os casos de reinfeção envolvendo o mesmo sorotipo representam eventos singulares - à luz do conhecimento vigente em nível local - e merecem estudos ulteriores, mais completos.

A aparente sazonalidade no que concerne à ocorrência das infecções por rotavírus em Belém, Brasil, tal como se ilustra na fig. 2, emergiu como um fato epidemiologicamente não usual, tendo em vista estudos anteriores na região^{3,4}. O caráter intensivo do processo de vigilância dos episódios diarreicos configurou nitidez a esse perfil antes não detectado. Entretanto, tais variações não se demonstram tão expressivas como as observadas em países de clima temperado, onde ocorrem extensas epidemias durante os meses de inverno. Os picos de incidência em nossa região durante os meses mais secos do ano se associaram, principalmente, ao sorotipo 1.

A maior severidade que se denotou entre os casos positivos para rotavírus, em comparação àqueles de outras etiologias, pôde ser caracterizada nitidamente (tabela 2 e figuras 5 e 6), corroborando dados oriundos de estudos progressos no âmbito comunitário⁴. As baixas taxas de desidratação severa, tanto nos casos associados a rotavírus como nos de outra etiologia, possivelmente refletem o

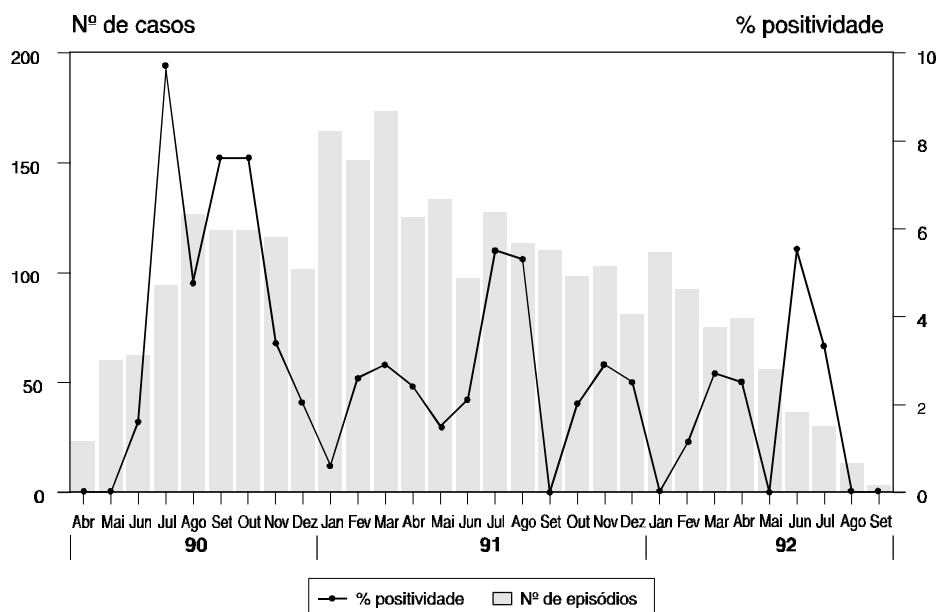
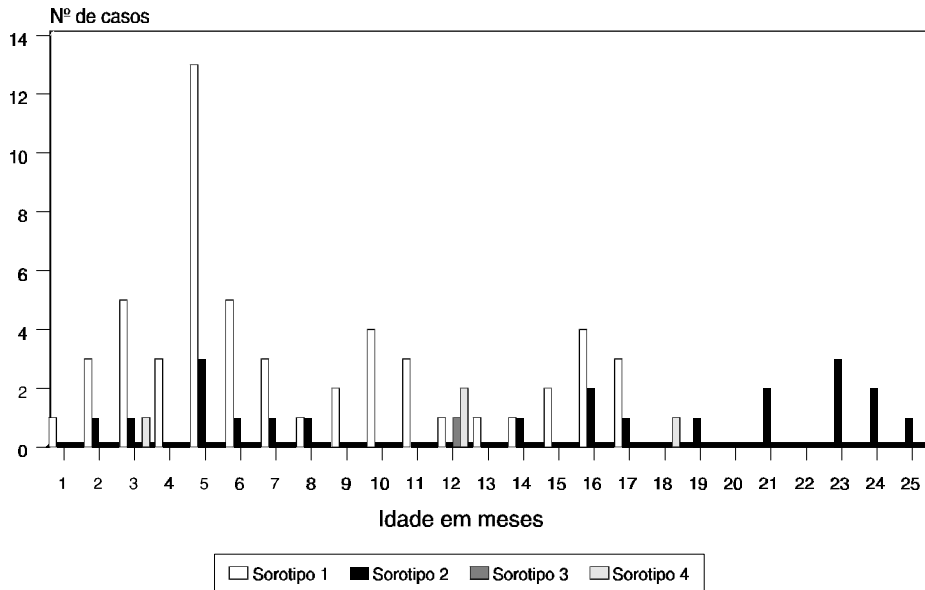
Figura 2 - Distribuição temporal dos episódios diarreicos e positividade para rotavírus

Figura 3 - Distribuição dos casos de diarreia por rotavírus de acordo com os sorotipos e idade



pronto atendimento prestado às crianças por nossa equipe de campo, com a administração do soro de reidratação oral.

Em resumo, os dados do presente estudo, concernentes aos indivíduos que receberam o placebo, consubstanciam a maior severidade clínica das diarreias associadas a rotavírus

em nossa região, bem como a circulação dos quatro sorotipos epidemiologicamente importantes. Daí ser plenamente justificável o atual esforço no sentido de caracterizar-se a eficácia de uma candidata a vacina contra esses agentes.

Figura 4 - Número de episódios/criança/ano em relação à idade. Abril/90 a Set/92

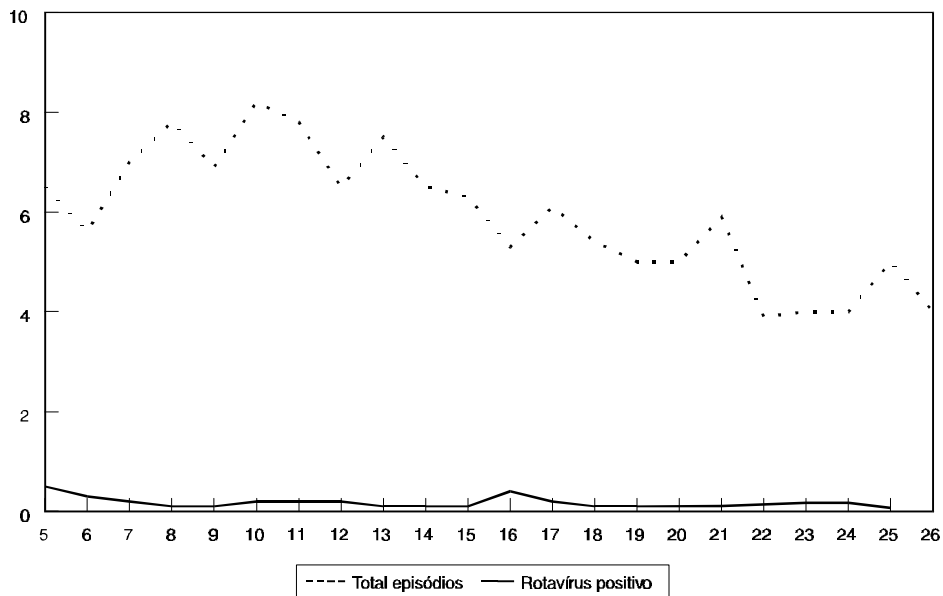
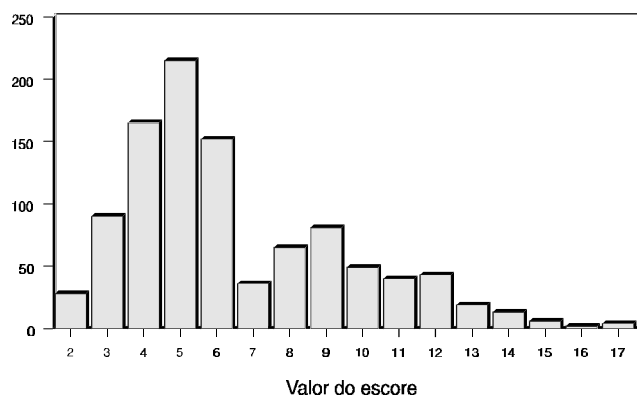
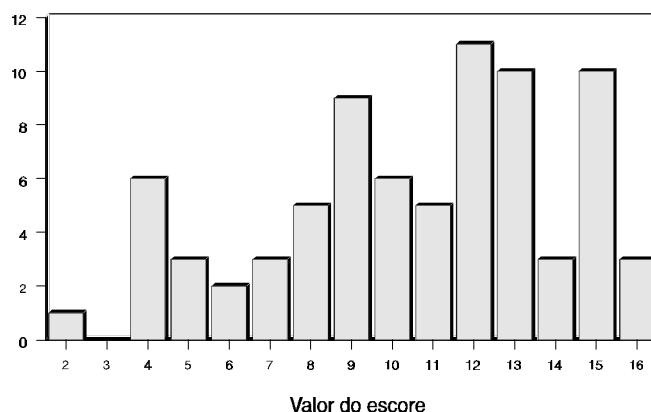


Figura 5 - Episódios de diarreia negativos para rotavírus de acordo com a severidade**Figura 6** - Episódios de diarreia positivos para rotavírus de acordo com a severidade

Agradecimentos

Expressamos nossa gratidão à incansável e zelosa equipe de visitantes-domiciliares, pelo primoroso trabalho-de-campo que desenvolveu. Somos muito gratos, ainda, à Dra. Rosa Helena P. Gusmão pelos comentários críticos e sugestões formulados em relação ao texto, bem como à Srta. Veronilce B. da Silva pelo apoio na preparação deste manuscrito.

Referências bibliográficas

1. Institute of Medicine. The prospects of immunizing against rotavirus. In: New vaccine development: establishing priorities. Appendix D-13. Washington, DC: National Academy Press, 1986:308-18 (Disease of importance in developing countries; vol 2).
2. Linhares AC, Pinheiro FP, Schmetz C, Muller G, Peters D. Duovírus (rotavírus) em Belém do Pará (nota prévia). *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1977; 19:278-9.
3. Linhares AC, Monção HC, Gabbay YB, Araujo VLC de, Serruya AC, Loureiro ECB. Acute diarrhoea associated with rotavirus among children living in Belém, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1983; 77:384-90.
4. Linhares AC, Gabbay YB, Freitas RB, Travassos da Rosa ES, Mascarenhas JDP, Loureiro ECB. Longitudinal study of rotavirus infections among children from Belém, Brazil. *Epidem Infect* 1989; 102:129-45.
5. Linhares AC, Gabbay YB, Mascarenhas JDP, Freitas RB, Flewett TH, Beards GM. Epidemiology of rotavirus subgroups and serotypes in Belém, Brazil: a three-year study. *Ann Inst Pasteur/Virol* 1988; 139:89-99.
6. Linhares AC, Gabbay YB, Freitas RB et al. Estudo da imunogenicidade, eficácia e inocuidade de uma vacina Tetravalente contra rotavírus em Belém, Pará, Brasil: Breves considerações sobre os primeiros doze meses. *Imunizações, atualização 1991*; 4:1-3.
7. Taniguchi K, Urasawa T, Morita Y, Greenberg H, Urasawa S. Direct serotyping of human rotavirus in stools by an enzyme-linked immunosorbent assay using serotype 1-, 2-, 3- and 4-specific monoclonal antibodies to VP7. *J Infect Dis* 1987; 155:1159-66.
8. Gerna G, Passarani N, Sarasini A, Battaglia M. Characterization of human rotavirus strains by solid-phase immune electron microscopy. *J Infect Dis* 1985; 152:1143-51.
9. Levine MM, Robins-Browe R, Lior H et al. Use of DNA probes and HEp-2 cell adherence assay to detect diarrheagenic *Escherichia coli*. *J Infect Dis* 1988; 158:224-8.
10. Flores J, Gonzalez M, Perez M et al. Protection against severe rotavirus diarrhoea by rhesus rotavirus vaccine in Venezuelan infants. *Lancet* 1987; 1:882-4.

Endereço para correspondência:

Dr. Alexandre C. Linhares
Instituto Evandro Chagas, Av. Almirante Barroso, 492,
66.090-000, Belém, Pará, Brasil, FAX: 091 226 1284.