



ARTIGO DE REVISÃO

Rotavírus: aspectos clínicos e prevenção*Rotavirus: clinical features and prevention*Consuelo Silva de Oliveira¹, Alexandre C. Linhares²**Resumo**

Objetivo: O objetivo básico do presente artigo é proceder a uma ampla revisão acerca dos aspectos clínicos e da prevenção das gastroenterites por rotavírus. A par disso, o relato oferece uma análise crítica quanto ao potencial de utilização da vacina tetravalente de origem símio-humana (a *rhesus-human reassortant rotavirus vaccine*, *RRV-TV*) nos países em desenvolvimento.

Metodologia: Os autores dirigiram sua consulta às publicações mais relevantes em periódicos especializados nacionais e internacionais, bem como aos relatos oficiais da Organização Mundial de Saúde, com ênfase no particular das vacinas contra rotavírus, para a produção científica dos últimos cinco anos. Note-se certo destaque atribuído às informações que refletem as peculiaridades epidemiológicas nacionais.

Resultados: A título de fundamentar os temas centrais – clínica e prevenção –, o presente relato oferece, como seção introdutória, uma abordagem genérica das infecções por rotavírus, ressaltando-se aspectos relativos ao agente etiológico, epidemiologia, fisiopatologia, imunidade e diagnóstico laboratorial. São reunidas informações sobre a diarreia por rotavírus em sua apresentação clássica, bem como no tocante aos processos morbidos atípicos associados à infecção por esses agentes. Quanto à profilaxia, procede-se à breve caracterização das candidatas à vacina até então avaliadas, com ênfase aos resultados oriundos dos testes de campo com a *RRV-TV* em vários países; configuram-se as perspectivas de utilização desse imunizante no países em desenvolvimento, à luz de características eminentemente epidemiológicas.

Conclusões: Os rotavírus constituem-se na principal causa de diarreia severa na infância, tanto em países desenvolvidos como naqueles em desenvolvimento; nestes últimos, o impacto da mortalidade é marcante. Ora, prevalece o consenso de que o efetivo controle da doença será alcançado mercê do advento de uma vacina eficaz, para uso em larga escala, e que assegure, primordialmente, a proteção contra os episódios diarreicos mais severos nos dois primeiros anos de vida. Essa última condição é nítida à luz da recente reanálise quanto à eficácia da *RRV-TV*, em sua baixa concentração, no Peru e Brasil. Embora a *RRV-TV* (“Rotashield[®]”) (licenciada há poucos meses para uso em larga escala nos EUA) seja presentemente a mais promissora entre as vacinas contra rotavírus, são necessários estudos complementares de eficácia na África e na Ásia, bem como os de imunogenicidade e efetividade (eficácia em condições reais no âmbito comunitário) na América Latina. A par disso, é imperativa a contínua vigilância das cepas circulantes de rotavírus nessas regiões, particularmente no âmbito hospitalar.

J. pediatr. (Rio J.). 1999; 75 (Supl.1): S91-S102: rotavírus, vacinas, vacinas orais, diarreia.

Abstract

Objectives: This report was prepared with the main objective of making an extensive review of both clinical features and prevention of rotavirus gastroenteritis. In addition, it provides an evaluation about the potential for introduction of the tetravalent *rhesus-human reassortant rotavirus vaccine* (*RRV-TV*) in the developing countries.

Methods: The main source of information was the most relevant articles published in both national and international journals, as well as selected official reports from the World Health Organization. With regard to rotavirus vaccines, particular emphasis has been placed on the results available from studies carried out during the past five years. Notice we have stressed the epidemiological features of rotavirus infections in Brazil.

Results: As a background for the main subjects of this report – clinical features and prevention – available general information on rotavirus infections are briefly discussed in the *Introduction*. This includes an overview of the etiological agent, epidemiology, immunity and laboratory diagnosis. A detailed description of the typical symptomatic syndrome is made, as well as of other (unusual) clinical manifestations of rotavirus illness. We also discuss the rotavirus candidate vaccines that have been evaluated to date, highlighting the most significant observations which resulted from field trials with the *RRV-TV* in several countries. The potential for large-scale use of *RRV-TV* in developing countries is also discussed, focusing mainly on the epidemiological characteristics of rotavirus disease in these regions.

Conclusion: Rotaviruses are the leading cause of severe gastroenteritis in infants and young children in both industrialized and less-developed countries; in the latter regions, rotavirus diarrhoeal disease represents a major cause of mortality. There is currently a consensus that attempts at prevention need to be directed toward the development of an effective rotavirus vaccine, for large-scale use, that would primarily protect children (aged 0 to 2 years) against severe rotavirus gastroenteritis. In this regard, results from a recent reevaluation of the Peruvian and Brazilian lower-titer *RRV-TV* efficacy data are promising. Although the *RRV-TV* (“Rotashield[®]”) (recently licensed for general use in U.S.A.) seems to be currently the most promising rotavirus vaccine, it has been suggested that further trials with this vaccine should be conducted in Africa and Asia (efficacy studies) and Latin America [immunogenicity and effectiveness (efficacy under real conditions in a given setting)]. In addition, it is of paramount importance to establish in these regions a surveillance system to monitor the circulating rotavirus strains.

J. pediatr. (Rio J.). 1999; 75 (Supl.1): S91-S102: rotavírus, vacinas, oral vaccines, diarrhea.

1. Médica, pediatra do Serviço de Virologia Geral (SVG), Instituto Evandro Chagas (IEC), Fundação Nacional de Saúde (FNS), Belém, Pará, Brasil.

2. Médico, virologista, chefe do SVG, IEC, FNS, Belém, Pará, Brasil.

Introdução

As gastroenterites infantis agudas representam expressiva causa de morbi-mortalidade em escala universal, particularmente nos países em desenvolvimento, onde se sobrepõe o agravante da desnutrição. Estimativas conservadoras assinalam a ocorrência anual de 744 milhões a 1 bilhão de episódios diarreicos entre crianças com idades inferiores a cinco anos na América Latina, África e Ásia, daí resultando pelo menos três milhões de óbitos, o equivalente a um mínimo de 9.000 mortes ao dia^{1,2}. Conquanto haja registro de redução na mortalidade global desde o início da década de 80, determinada pelo advento dos programas de controle das doenças diarreicas fundamentados na terapia de reidratação oral, ainda se impõe a adoção de medidas eficazes³. Nesse contexto, destaque-se o desenvolvimento de vacinas contra enteropatógenos de relevância epidemiológica como: rotavírus, *Vibrio cholerae*, *Shigella dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. sonnei*, *Escherichia coli* enterotoxigênica e *E. coli* entero-hemorragica⁴.

No espectro de patógenos acima configurado, destacam-se os rotavírus como a causa mais comum de diarreia infantil grave em todo o mundo, não raro culminando com a desidratação e o êxito letal⁵. Com efeito, estima-se que, a cada ano, ocorram 130 milhões de episódios diarreicos associados a esses agentes virais entre crianças em seus primeiros cinco anos de vida. Desse total sobrevêm aproximadamente 18 milhões de hospitalizações e um milhão de óbitos; aliás, este último dado reflete cerca de um quarto das mortes por diarreia na infância^{3,6}. Os agentes virais em questão foram descobertos há cerca de 25 anos na Austrália⁷, sendo consistentes os achados que os incriminam como a mais importante causa de diarreia aguda na infância. No Brasil, as descobertas pioneiras remontam a 1976, quando Linhares *et al.*⁸ detectaram as primeiras partículas desses vírus pela microscopia eletrônica, sucedendo-se numerosos estudos em todo o território nacional^{9,10}.

A estrutura viral denota diâmetro de aproximadamente 70 nm (Figura 1), consistindo de ARN envolto por três camadas protéicas concêntricas. Naquela de localização mais externa situam-se as proteínas VP4 (sensível à protease) e VP7 (de natureza glicoprotéica), que estabelecem a base para a classificação binária dos rotavírus em sorotipos G (14 identificados até o presente) e P (11)¹¹. À luz dessa dualidade antigênica, são reconhecidos como prevalentes em vários países, inclusive no Brasil, os seguintes sorotipos/subtipos: P1A, G1; P1B, G2; P1A, G3; P1A, G4; e P1B, G2^{12,13}.

Os rotavírus são de ocorrência universal, sabendo-se que virtualmente todas as crianças, já aos seus cinco anos de idade, independentemente de estrato socioeconômico ou condições ambientais, se infectaram por esses agentes⁵. Com efeito, a transmissão fecal-oral (e talvez respiratória, via aerossóis) desses vírus se estabelece com relativa facilidade, considerando as altíssimas concentrações de partículas excretadas na fase aguda da doença: um

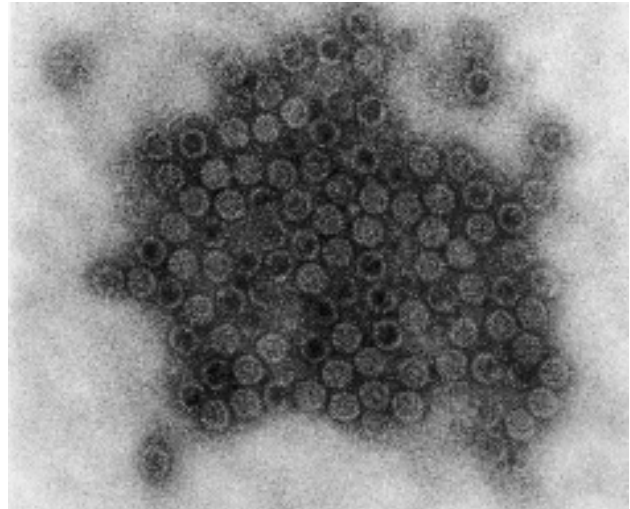


Figura 1- Micrografia eletrônica das partículas de rotavírus (Cortesia da dra. Yvone B. Gabbay, Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto Evandro Chagas)

trilhão por mililitro de fezes, sendo a dose infectante mínima de apenas 10^{14} . A par disso, registre-se a elevada estabilidade dos rotavírus frente a agentes físicos e químicos⁵. É pertinente ressaltar, nesse contexto, a frequência com que se estabelecem infecções nosocomiais por rotavírus, face às condições propícias oferecidas por berçários e enfermarias pediátricas^{15,16}.

Em contraste com a marcante sazonalidade das diarreias por tais vírus nos países de clima temperado, onde incidem predominantemente do outono à primavera, nas regiões tropicais, é nítida a sua ocorrência ao longo de todo o ano^{10,17}. Em geral, um determinado sorotipo de rotavírus predomina ao longo de um a dois anos, sobrevivendo a emergência de uma nova variedade antigênica, possivelmente como resultado de “pressão” exercida pelo número de indivíduos imunes em uma comunidade¹⁸.

A fisiopatologia das infecções por rotavírus ainda enseja múltiplas controvérsias. O jejuno representa o principal sítio de replicação viral, mais especificamente as células epiteliais maduras que revestem as microvilosidades intestinais. O proposto mecanismo clássico sustenta que, face à extensa lesão epitelial, desencadeiam-se fenômenos de má-absorção que se exacerbam mercê do sensível declínio no nível das dissacaridases^{18,19}. O acúmulo de dissacarídios no lúmen intestinal, por conseguinte, precipitaria quadro diarreico de natureza essencialmente osmótica. Recentes (e revolucionários) experimentos utilizando-se modelos murinos, entretanto, demonstraram que a proteína viral *NSP4* (importante na dinâmica de morfogênese da partícula) reserva caráter enterotoxigênico, induzindo fenômenos secretórios que culminam com a diarreia²⁰. Corroborando esses achados, citem-se aqueles de Jourdan *et al.*²¹, obtidos *in vitro*, revelando a capacidade de replicação viral sem lise celular aparente. Tais inves-

tigações indicam que são preservadas a biossíntese, a maturação e a estabilidade da sucrase-isomaltase, não obstante haja nítido comprometimento no transporte desse complexo enzimático ao epitélio das microvilosidades.

Conquanto sejam comuns as infecções assintomáticas por rotavírus, particularmente entre neonatos e adultos, em geral é marcante a severidade da diarreia associada a esses agentes, quando crianças de seis meses a dois anos de idade são acometidas^{18,22}. Em síntese, o período de incubação de 24 a 48 horas é sucedido por vômitos, febre e diarreia aquosa que persistem por três a nove dias. O quadro pode evoluir com desidratação severa e conseqüente desequilíbrio hidroeletrólítico, condições que não raro culminam com o êxito letal nos países em desenvolvimento²³. A reidratação oral representa o recurso terapêutico clássico, embora se imponha o tratamento endovenoso e outras medidas de suporte clínico na vigência da desidratação grave ou do estado de choque.

O campo da imunidade ainda encerra muitos aspectos obscuros. A resposta imune típica se traduz inicialmente em termos de imunoglobulina M (IgM) específica, sucedendo-se a produção dos anticorpos das classes IgG e IgA²⁴. Conquanto seja questionável o papel protetor da imunidade humoral nesse contexto, são múltiplos os estudos associando a IgA secretora à redução na incidência e na gravidade das infecções por esses agentes virais²⁵. Com efeito, além da inativação viral no lúmen do intestino delgado, ora emergem evidências de que tal fenômeno se desenvolve principalmente no meio intra-celular, durante o processo de transcrição da IgA²⁶. A imunidade mediada por células também parece se revestir de importância, já que os linfócitos CD8+ de camundongos adultos - mesmo sem o concurso de anticorpos específicos para rotavírus - promovem a resolução do processo infeccioso viral²⁷.

Ainda no domínio da imunidade naturalmente adquirida, algumas investigações assinalam que a infecção neonatal por rotavírus, em geral assintomática, protege contra a doença grave na vigência de reinfeção^{28,29}. Por outro lado, estudos no México demonstram que pelo menos duas infecções clínicas (ou subclínicas) são necessárias para proteger contra os episódios severos, enquanto que três conferem proteção frente a toda diarreia causada por rotavírus³⁰.

Uma vez que o quadro clínico nas infecções por rotavírus exhibe similaridade com aqueles associados a outros enteropatógenos (ex.: *Escherichia coli* enterotoxigênica), os testes laboratoriais específicos se impõem com vistas à definição etiológica. Desde a descoberta dos rotavírus que se multiplicam os procedimentos de diagnóstico laboratorial fundamentados na detecção de partículas ou antígenos virais, bem como do seu ácido nucléico. O microscópio eletrônico representou o recurso diagnóstico pioneiro, sucedendo-se o desenvolvimento de métodos diversos, como a) imunofluorescência em substrato celular; b) técnica imunoenzimática (ELISA); c) aglutinação de partículas de látex (APL) sensibilizadas com anticor-

pos; d) eletroforese do ácido nucléico em gel de poliacrilamida; d) hibridização de sondas radioativas ou biotiniladas com o ARN viral; e, mais recentemente, e) a reação em cadeia da polimerase, precedida de transcrição reversa⁵. Sabe-se que a utilização de algumas dessas técnicas é restrita a centros de pesquisa, embora outras sejam dotadas de suficiente simplicidade e rapidez na execução (ex.: ELISA e APL) para que se justifique o seu emprego rotineiro em suporte direto ao pediatra³¹.

Consolida-se cada vez mais o conceito de que a profilaxia das infecções por rotavírus se condiciona à disponibilidade de um imunizante eficaz para uso em larga escala. Tal asserção se sustenta no fato de que são similares as incidências de diarreia associada a esses vírus, se comparados os países desenvolvidos àqueles em desenvolvimento^{6,32}.

Uma vez formuladas as considerações gerais acima, procederemos à descrição ampla dos tópicos que mais expressivamente traduzem o interesse dos pediatras no tema, quais sejam, os aspectos clínicos e a prevenção. O que se constitui no principal escopo do presente relato.

Aspectos clínicos

Nas infecções por rotavírus, observa-se um espectro que abrange as formas assintomáticas, subclínicas e o quadro clássico, este, em geral caracterizado pelo início abrupto com vômitos e febre alta, sobrevivendo à diarreia profusa³³. Esses sintomas, dependendo da intensidade, culminam com a desidratação do tipo isotônica, considerada como o principal determinante de óbito por esses agentes entre crianças no seu primeiro ano de vida^{5,34}.

Os vômitos, presentes em 50% dos casos, em geral são intensos, podendo ser incoercíveis ou manifestar-se isoladamente, com duração prolongada^{35,36}. Vale ressaltar que se observa maior freqüência de vômitos nos quadros associados aos rotavírus, se comparados àqueles de outra etiologia^{37,38}.

A febre é um dos principais sintomas entre as crianças que excretam rotavírus³⁹. Ocorre em mais da metade dos casos, persistindo por dois a três dias. Em geral é elevada, podendo atingir picos de 39°C-40°C, induzindo em alguns casos mais graves, como os de crianças hospitalizadas, quadros convulsivos³⁷.

Quanto à diarreia, é de caráter explosivo, com inúmeras evacuações ao dia e fezes que se caracterizam como aquosas, amareladas e com muco em 25% das situações⁴⁰. A sua duração é em média de cinco a oito dias, com chances de evoluir para protraída em lactentes e desnutridos graves⁴¹⁻⁴³. Nesse particular são dignos de nota os estudos de Richardson *et al.*⁴⁴, que relacionaram casos de síndrome pós-enterite com a excreção prolongada de rotavírus (21 a 57 dias) entre crianças imunocompetentes portadoras de gastroenterite severa por rotavírus, com idades inferiores a um ano. Em indivíduos com imunodeficiência primária, principalmente a vinculada às células

T, bem como nos que sofreram transplantes, os rotavírus podem produzir diarreia crônica com prolongada excreção viral (mais de seis semanas)^{5,45}.

A severidade dos episódios diarreicos por rotavírus pode ser mensurada com o emprego de um sistema de escores que reúne diversos parâmetros clínicos. Nesse contexto são considerados duração e frequência da diarreia e vômitos, febre, desidratação e necessidade de tratamento, com a somatória máxima de 20 pontos⁴⁶. Os quadros diarreicos com escores clínicos de 0 a 8, 9 a 14 e acima de 14 são definidos como leves, moderados a severos e muito severos, respectivamente. Vários estudos têm confirmado a severidade das diarreias associadas aos agentes em questão, se estabelecida comparação com aquelas de outras etiologias. Isso foi corroborado em recentes estudos de campo com a vacina tetravalente contra rotavírus em Belém, Pará³⁹. Nesse estudo, registrou-se maior frequência de febre (65,9%), bem como do número médio de evacuações (7,4), no grupo de casos associados aos rotavírus.

As formas assintomáticas são registradas em geral entre os neonatos e lactentes até os 3-4 meses de idade, que também podem apresentar sintomatologia leve em 13% a 80% dos casos⁴⁷⁻⁴⁹. Entretanto, achados recentes em países tropicais assinalam a ocorrência de quadros diarreicos severos, mesmo entre recém-nascidos⁵⁰. O curso clínico da infecção nessa faixa etária é decorrente da interação de diversos fatores, destacando-se a presença de anticorpos e inibidores virais inespecíficos transferidos à criança pelo leite materno. Além disso, destaque-se a imunidade temporária à conta da transferência passiva de imunoglobulinas maternas via transplacentária. Registre-se, ainda, a baixa virulência das cepas que circulam entre neonatos em berçários¹⁸. Aliás, sustenta-se que a infecção neonatal ocasionada por tais amostras naturalmente atenuadas confere significativa proteção contra episódios subsequentes dotados de maior gravidade^{28,29}.

Os achados laboratoriais que refletem o grau de desidratação se caracterizam, principalmente nos casos graves, por elevação da densidade urinária, acidose metabólica (resultante das perdas fecais de água e bicarbonato) e hiponatremia. Some-se a isso a leucocitose fecal, detectada quando se utiliza a coloração de Wright³⁷. A relação direta entre as taxas de uréia sanguínea e a concentração de rotavírus nas fezes foi demonstrada por Carr *et al.*³⁵, caracterizando-se como indicador de severidade.

São dignos de nota os relatos de quadros atípicos associados às manifestações gastrointestinais. A encefalite, por exemplo, caracterizada em bases clínicas, alterações no líquido céfalo-raquidiano (LCR) e eletroencefalograma, representa uma dessas manifestações não usuais. A invasão do sistema nervoso central pelos rotavírus, nesses casos, tem sido nitidamente estabelecida pela detecção do ácido nucléico viral no LCR, utilizando-se a reação em cadeia da polimerase^{51,52}. As manifestações respiratórias (tosse e taquipnéia) associadas aos vômitos também têm

sido descritas, com a detecção viral na orofaringe e no trato respiratório⁵³. Tais evidências laboratoriais, no entanto, não têm sido registradas sistematicamente em todas as situações de possível associação dos rotavírus aos processos respiratórios.

Há diversos outros processos mórbidos também associadas aos rotavírus e que são mais comumente descritos. Entre tais condições destacam-se síndrome de Kawasaki⁵⁴, exantema súbito⁵⁵, intussuscepção⁵⁶, abscesso hepático⁵⁷, coagulação intravascular disseminada⁵⁸, hepatite transitória⁵⁹ e síndromes de imunodeficiências^{60,61}. Tais situações, entretanto, requerem comprovação científica mais consistente. Aquelas que aparentemente representam exceção a esse possível caráter circunstancial são a diarreia prolongada nos imunodeprimidos⁴⁵, a enterocolite necrotizante⁶² e a pneumatose intestinal da infância⁵.

Prevenção

As primeiras tentativas visando à produção de uma vacina contra rotavírus emergiram com o advento das técnicas de cultivo *in vitro* desses agentes há quase duas décadas^{63,64}. As estratégias visando ao desenvolvimento desses imunizantes evoluíram desde os métodos caracterizados como *Jennerianos* – utilizando-se cepas virais oriundas de animal – até a aplicação de avançadas técnicas da biologia molecular. Atualmente, prevalece o conceito de que o impacto de um imunizante eficaz contra rotavírus incidirá principalmente nos episódios diarreicos mais severos, sendo irrelevante a proteção frente às formas clínicas menos graves³². As candidatas a vacina pioneiras, por conseguinte, foram representadas por cepas de origens bovina e símia, aplicadas na expectativa da criança desenvolver resposta heterotípica que lhe proporcionasse proteção contra os sorotipos prevalentes. Como tais estratégias resultaram ineficazes³², sobrevieram outras fundamentadas no caráter multivalente da preparação, ou seja, preparações que reunissem os sorotipos predominantes (G1, G2, G3 e G4), daí resultando proteção mais abrangente. Obtiveram-se tais amostras, geneticamente rearranjadas, a partir de co-cultivos envolvendo rotavírus oriundos de animais e do homem⁶⁵. Com efeito, decorridos 25 anos da descoberta dos rotavírus, a primeira vacina para uso humano corrente, de origem símio-humana, foi licenciada nos EUA em meados de 1998. Os imunizantes de terceira geração ora se nos apresentam em perspectiva, destacando-se, nesse contexto, as vacinas produzidas com peptídeos sintéticos e as de ácido nucléico. A seguir são sintetizados os aspectos mais relevantes no que concerne a cada grupo de vacinas até então avaliadas, assim como questões inerentes à futura introdução desses imunizantes no “Programa Ampliado de Imunizações”.

Rotavírus de origem animal

Até então, três candidatas a vacina, monovalentes, foram avaliadas em estudos de campo. Duas delas de

origem bovina (*RIT 4237* e *WC3*), ambas sorotipo G6, e outra (*RRV MMU 18006*) oriunda de símios, G3⁶⁶⁻⁶⁸. Testes conduzidos com a *RIT 4237*, na Finlândia, demonstraram eficácia superior a 80%, se considerados os quadros diarreicos mais severos entre crianças de seis a 12 meses⁶⁷. Taxas de proteção comparáveis às do estudo anterior foram alcançadas no Peru, em relação aos episódios diarreicos muito graves associados ao sorotipo G1⁶⁹. Em contrapartida, revelaram-se insatisfatórios os níveis de proteção conferidos pela *RIT 4237* nos estudos conduzidos em Gâmbia, Ruanda, e entre indígenas nos EUA, o que determinou a descontinuidade dos testes de campo com essa vacina⁷⁰⁻².

Também de origem bovina, a *WC3* ofereceu níveis protetores contraditórios em diferentes estudos de campo. Na Filadélfia, EUA, a eficácia alcançou 100%, se considerados os casos mais severos de gastroenterite por rotavírus⁷³. Contrastando com esses achados, investigações subseqüentes em Cincinatti, EUA, Bangui, República Central Africana e China resultaram em níveis de proteção da ordem de 0 a 50%^{66,74,75}.

A *RRV*, cepa *MMU 18006*, obtida de macaco *Rhesus* com diarreia aguda, representou uma alternativa, entre os imunizantes monovalentes, àqueles de origem bovina. Diversos estudos caracterizados como de fase III foram levados a efeito, resultando em variados níveis de proteção entre crianças naturalmente submetidas à infecção pelo sorotipo G1^{68,76-79}. Em Caracas, Venezuela, especificamente, a *RRV* revelou-se 64% e 90% eficaz, se admitidos todos os episódios diarreicos associados aos rotavírus e aqueles revestidos de maior gravidade, respectivamente; registre-se contudo que, nesse estudo de campo, predominava o sorotipo G3 de rotavírus, homólogo, portanto, ao do vírus vacinal⁶⁸.

O relativo insucesso alcançado nos testes de campo com as vacinas monovalentes acima caracterizadas se atribuiu à incapacidade do imunizante induzir resposta imune polivalente, em particular se considerados os tipos G de rotavírus (1 a 4), reconhecidamente predominantes em todo o mundo⁸⁰. Isso determinou a emergência da “segunda geração” de vacinas, configurando as estratégias “Jennerianas” modificadas, traduzidas na obtenção das cepas virais geneticamente rearranjadas. Com efeito, o conteúdo genômico dessas amostras reservava genes oriundos de rotavírus humanos e animais, assegurando a indução da resposta imune polivalente, assim como a satisfatória replicação viral em substratos celulares^{81,82}. A seguir dispõem-se, resumidamente, os achados mais significativos das investigações de campo conduzidas com esses imunizantes.

Amostras geneticamente rearranjadas

Cepas contendo genes de rotavírus bovinos e humanos (bovino-humanas)

Em geral, as amostras reuniam em sua composição os genes 8 ou 9 de rotavírus humanos - associados à síntese

da glicoproteína VP7 dos tipos G1, G2, G3 e G4 – em um *background* genômico da *WC3*. Entre as múltiplas combinações estabelecidas, ressaltou-se a preparação quadrivalente, reunindo amostras geneticamente rearranjadas com especificidades antigênicas para os quatro tipos epidemiologicamente importantes de rotavírus⁸¹. A análise da eficácia, em estudo multicêntrico conduzido nos EUA, revelou que essa vacina confere proteção de aproximadamente 70% contra todos os episódios de diarreia por rotavírus⁸³.

De particular interesse têm sido as cepas vacinais cuja composição genômica envolve genes virais oriundos do homem e de símios. Os primeiros, representados apenas pelo segmento 9, associado à síntese da VP7; e, os outros, em número de 10, constituindo-se no *background* proporcionado pelo rotavírus de origem animal. A cepa viral de origem símia (*MMU 18006*) reserva identidade antigênica com o tipo G3 oriundo do homem. As amostras geneticamente reestruturadas, por sua vez, contêm genes 9, determinantes das especificidades antigênicas para G1, G2 ou G4⁸⁴. Não obstante o desenvolvimento de vários estudos visando à determinação da eficácia das amostras monotípicas, entre as cepas caracterizadas como de origem símio-humana, prevaleceu a estratégia de formular-se um imunizante tetravalente (*rhesus-human reassortant rotavirus tetravalent vaccine, RRV-TV*). Tal preparação, de espectro antigênico mais amplo, reunia quatro cepas distintas: (a) três amostras obtidas via rearranjo genômico, contendo especificidades antigênicas concernentes aos tipos G1, G2 e G4, à conta do gene 9; e a própria *RRV MMU 18006*, homóloga ao G3. Estudos caracterizados como de fase I demonstraram tratar-se de uma vacina isenta de efeitos colaterais importantes, salvo reações febris de leve intensidade após a primeira dose. No tocante à imunogenicidade, salientem-se as expressivas taxas de soroconversão (66% a 83%) em termos de IgA sérica e anticorpos neutralizantes para a cepa símia *RRV*; em contrapartida, a resposta imune dirigida aos sorotipos G1 a G4 se revelou relativamente baixa: em geral, 20% a 40% de soroconversões^{32,85-89}.

Até o presente, a eficácia da *RRV-TV* foi avaliada a partir de sete estudos conduzidos em cinco países (Tabela 1), envolvendo as fórmulas de menor (4×10^4 “unidades formadoras de placa”, *pfu/dose*)^{76,78,90} ou maior (4×10^5 *pfu/dose*)⁹¹⁻⁹⁴ concentração. Os resultados mais relevantes dos estudos de campo (fase III) empreendidos com a *RRV-TV* são sintetizados abaixo, de acordo com o país em que ocorreu o *trial*.

E. U. A.

Os estudos alcançaram em geral níveis protetores satisfatórios, a partir da administração de três doses do imunizante nos primeiros seis meses de idade. Em uma primeira investigação, a *RRV-TV* (4×10^4 *pfu/dose*) revelou-se 57% eficaz quanto a todos os episódios diarreicos associados aos rotavírus, a par de conferir proteção

Tabela 1 - Eficácia da RRV-TV contra a gastroenterite por rotavírus, de acordo com a gravidade clínica, em países desenvolvidos e em desenvolvimento*

País [Ref]	Nº de doses/ título da vacina em pfu / dose	% de proteção contra gastroenterites clínicamente		
		Leves**	Moderadas/ graves**	Muito graves**
Peru [78]	1 / 4 x 10 ⁴	0	64#	0
	3 / 4 x 10 ⁴	0	19	0
Brasil [90]	3 / 4 x 10⁴	0	45	75#
Venezuela [92]	3 / 4 x 10 ⁵	20	47#	90#
EUA [76]	3 / 4 x 10 ⁴	43	57#	82#
EUA [93]	3 / 4 x 10 ⁵	0	57#	80#
EUA [94]	3 / 4 x 10 ⁵	0	65#	69#
Finlândia [91]	3 / 4 x 10 ⁵	31	78#	100#

* Somente episódios de gastroenterite "puros" (sem outro patógeno concomitante) foram incluídos

** Leves, moderadas/graves e muito graves, correspondentes aos escores 0-8, 9-14 e >14, respectivamente, segundo Flores et al.⁴⁶

Vacina vs placebo, p < 0,05

superior a 80% nos casos muito severos⁷⁶. Em investigação subsequente com a vacina em sua fórmula mais concentrada, abrangendo 1278 crianças, obtiveram eficácias de 49%, 80% e 100%, frente a todos os quadros de diarreia por rotavírus, aqueles clinicamente graves e os que evoluíram com desidratação, respectivamente⁹³. Entre populações indígenas americanas, Santosham et al.⁹⁴ demonstraram que a RRV-TV (4 x 10⁵ pfu/dose) é tolerada satisfatoriamente, além de alcançar taxas de eficácia de 50% e 69%, se considerado o total de episódios diarreicos por rotavírus e aqueles dotados de maior gravidade, respectivamente.

Finlândia

O estudo nesse país reuniu o maior contingente de crianças já registrado em testes de campo com a RRV-TV em todo o mundo, 2398⁹¹. Administraram-se três doses da vacina em sua preparação de mais alto título entre dois e sete meses de idade, com eficácia global de 60%, ascendendo a 90% se analisados os quadros de gastroenterite mais severos causados por rotavírus.

Peru

O primeiro estudo de campo com a RRV-TV (4 x 10⁴ pfu/dose) nos países em desenvolvimento foi levado a efeito por Lanata et al.⁷⁸. Tal investigação envolveu 700

crianças, objetivando-se determinar a eficácia de uma e três doses da vacina em questão. De um modo geral nenhum dos regimes vacinais resultou em proteção expressiva, não obstante o registro de níveis protetores moderados (35% a 66%) contra as diarreias mais severas ocasionadas pelo tipo G1.

Brasil

O único teste de campo com a RRV-TV (4 x 10⁴ pfu/dose) no país foi desenvolvido em Belém, Pará, envolvendo 540 crianças a quem se administraram três doses de vacina ou placebo aos 1, 3 e 5 meses de vida⁹⁰. Ao longo dos dois anos em que se desenvolveu o estudo, alcançou-se proteção de apenas 35% contra todos os episódios diarreicos por rotavírus; em contrapartida, revelou-se expressiva a eficácia após o primeiro ano de acompanhamento das crianças, 57%. Digno de nota foi o expressivo nível protetor oferecido pela vacina, 80%, quanto a um parâmetro clínico indicativo de severidade, qual seja, o número médio diário de evacuações líquidas igual ou superior a seis.

Peru e Brasil: reanálise de acordo com a severidade da diarreia

Os dados de eficácia concernentes aos dois estudos acima especificados mereceram recente reanálise à luz da

severidade dos episódios diarreicos⁹⁵. Daí emergiram resultados que sustentam o potencial protetor da *RRV-TV*, mesmo em sua fórmula menos concentrada, frente aos quadros mais graves de diarreia por rotavírus. Com efeito, o estudo no Brasil demonstrou que três doses dessa vacina resultam em níveis protetores variáveis de 0 a 75% (Figura 2), de acordo com escore clínico atribuído à diarreia. O mais expressivo índice de proteção foi registrado frente aos casos classificados como muito severos (escores clínicos > 14), consoante critérios amplamente utilizados em estudos de eficácia com a *RRV-TV*⁴⁶. Ainda no contexto dessa reavaliação também se revestem de particular interesse os achados oriundos do estudo no Peru, indicando que uma dose da vacina em questão se associa a níveis de eficácia superiores a 60%, ao exame dos episódios caracterizados como moderados ou severos (escores clínicos de 9 a 14); nesse mesmo intervalo de gravidade, paradoxalmente, três doses do imunizante proporcionaram taxas de eficácia que não excederam 20%.

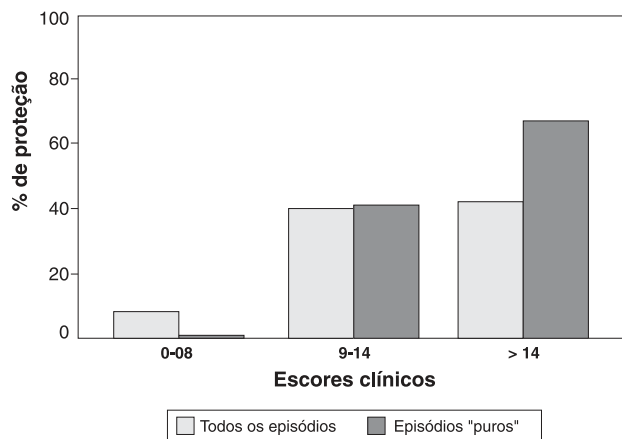


Figura 2 – Eficácia da *RRV-TV* (4×10^4 pfu/dose) contra a gastroenterite por rotavírus em Belém, Brasil, de acordo com escores clínicos de gravidade

Venezuela

A proteção conferida pela *RRV-TV* (4×10^5 pfu/dose) também foi avaliada em extenso estudo de campo conduzido na Venezuela, envolvendo 2.207 crianças⁹². Os expressivos níveis de eficácia alcançados com três doses dessa vacina representam os mais promissores resultados obtidos até o presente, face à perspectiva de sua introdução nos países em desenvolvimento. Com efeito, taxas superiores a 80% foram registradas em relação aos episódios diarreicos dotados de maior gravidade.

Outras candidatas a vacina contra rotavírus

Têm sido várias as estratégias alternativas àquelas representadas pelas cepas de rotavírus acima descritas, algumas se caracterizando como de “terceira geração” ou possíveis vacinas do futuro. A seguir são formuladas breves considerações acerca de cada uma delas.

Amostras virais atenuadas de origem humana

A utilização dessas cepas se caracterizou como a primeira tentativa “não-Jenneriana” visando à obtenção de uma vacina contra rotavírus. Tal estratégia sustenta-se em estudos que assinalam o caráter naturalmente atenuado dos rotavírus que infectam neonatos^{32,96}. Pelo menos quatro cepas distintas têm sido objeto de investigação até o presente: *M37*, na Venezuela⁹⁶; *RV3*, Austrália⁸⁰; e *I16E* e *I321*, Índia²⁹. Em geral tais amostras não induzem reações adversas, porém, caracterizam-se como apenas moderadamente imunogênicas^{88,97}. Por outro lado, investigações preliminares denotam eficácia insatisfatória dessas amostras⁹⁸.

Vacinas representadas por estruturas virais não repliáveis

Esse grupo se caracteriza por não incluir partículas viróticas com capacidade infectante, constituindo-se nas vacinas designadas de “terceira geração”. Até então, as estratégias se têm dirigido aos seguintes imunizantes em potencial: a) capsídios (estruturas protéicas) virais “vazios”, isto é, sem o ácido nucléico⁹⁹; b) proteínas recombinantes (*VP7* e *VP4*) cuja expressão se processa em sistemas “vetores” bacterianos ou virais^{100,101}; c) peptídeos sintéticos, por exemplo, as seqüências de aminoácidos homólogas àquelas das proteínas *VP4* e *VP7*^{102,103}; e d) vacinas de ácido nucléico, fundamentadas na inoculação direta de plasmídios com o ADN que promove a síntese de proteínas virais específicas como a *VP4* e a *VP7*¹⁰⁴.

Não obstante o caráter promissor desse conjunto de vacinas caracterizadas como da “nova geração”, há fatores que parecem limitar sobremaneira seu uso como recurso único visando à imunização contra rotavírus. Sabe-se, por exemplo, que tanto as proteínas obtidas por um “vetor” de expressão, como os peptídeos sintéticos, não estimulam a resposta imune local na mucosa do intestino. Alguns estudos experimentais, entretanto, sustentam que tais vacinas promoveriam uma exacerbação da resposta imune se aplicadas antes ou mesmo depois de administrado o vírus vacinal³².

Eficácia nos países desenvolvidos versus naqueles em desenvolvimento: por que a diferença?

Em agosto de 1998 foi licenciada, nos E.U.A, a primeira vacina contra rotavírus para uso humano; portanto, 25 anos após a descoberta pioneira desse agente por

Bishop *et al.*⁷, na Austrália. Trata-se da preparação tetravalente envolvendo cepas virais de origens humana e símia (*RRV-TV*), antes descrita, em sua fórmula mais concentrada, qual seja, a que contém 4×10^5 pfu/dose. O produto, "Rotashielda", foi aprovado para uso oral em três doses (2, 4 e 6 meses de idade), sendo possível administrá-lo concomitantemente a outros imunizantes como: *DPT*, anti-pólio, *Haemophilus influenzae* tipo B (*Hib*) e hepatite B.

Nos países em desenvolvimento, entretanto, são imperativos estudos adicionais que, efetivamente, sustentem a administração em larga escala da vacina em questão. Com efeito, vários estudos demonstram que as taxas de eficácia nos países desenvolvidos em geral são mais elevadas do que naqueles em desenvolvimento. São múltiplos os fatores determinantes de tal contraste, a maioria inerente à própria epidemiologia das infecções por rotavírus naquelas regiões menos favorecidas em termos socioeconômicos¹⁰⁵. As condições a seguir especificadas parecem restringir a eficácia da *RRV-TV* no "Terceiro Mundo".

Possível efeito supressor de anticorpos maternos

Sabe-se que são freqüentes as reinfecções por rotavírus (em geral assintomáticas) entre adultos habitantes das regiões tropicais, como resultado de sua exposição a ambientes maciçamente contaminados. Daí decorreriam elevados níveis de anticorpos para rotavírus, que são transferidos às crianças quer via placentária, quer através do leite materno¹⁰⁶.

Ocorrência precoce das infecções naturais por rotavírus

Em uma expressiva parcela dos países em desenvolvimento (ex.: Índia), as infecções por rotavírus, mesmo as de caráter sintomático, são registradas logo no primeiro mês de vida. Tal peculiaridade epidemiológica sustenta a proposição de estratégias, nessas regiões, que assegurem o uso precoce da vacina em questão⁵⁰.

Potencial de interferência representado pela vacina anti-pólio e enterovírus

São controversos os estudos acerca do potencial de interferência que a vacina anti-pólio oral reserva em relação à imunogenicidade da *RRV-TV*. Tal ação adversa, entretanto, parece ser plenamente superada se a criança recebe o esquema completo de vacinação, ou seja, três doses da *RRV-TV*¹⁰⁷. Outra provável causa de interferência reside no expressivo número de infecções por enterovírus (e outros enteropatógenos) nas regiões menos desenvolvidas, o que se reflete nas altas taxas (~25%) de infecção "mista" (rotavírus e outros agentes infecciosos) aí registradas⁶⁹. Em contrapartida, cumpre assinalar que estudos de campo conduzidos na Venezuela⁹² não revelaram diferenças significativas se casos de infecção "pura" (somente rotavírus) e "mista" são comparados.

Ocorrência de sorotipos não contemplados na composição da vacina

O Brasil e a Índia constituem os exemplos mais representativos de tal peculiaridade epidemiológica. No primeiro, por exemplo, a emergência dos tipos G5, G8 e G10^{13,108} suscita dúvidas no que concerne à eficácia de uma vacina que apenas contempla os sorotipos mais amplamente distribuídos, quais sejam, o G1, G2, G3 e G4.

Desnutrição

Recentes estudos demonstram prevalências elevadas no que concerne à deficiência de micronutrientes, incluindo o zinco, nos países em desenvolvimento. Postula-se que tal condição determine resposta imune insatisfatória à vacina contra rotavírus, e, por conseguinte, níveis mais baixos de eficácia¹⁰⁹.

Breves considerações finais

Recentes recomendações da O.M.S.¹⁰⁵ indicam a necessidade quanto a estudos adicionais de eficácia e custo-benefício nos países em desenvolvimento, particularmente nos continentes africano e asiático. A par disso, seriam recomendáveis investigações no tocante à imunogenicidade da *RRV-TV*, em sua formulação mais concentrada, naquelas regiões onde a eficácia não se revelou satisfatória. A recente reanálise a que se procedeu quanto à eficácia da *RRV-TV* (4×10^4 pfu/dose) no Peru e Brasil⁹⁵, justifica futuros estudos com base na vigilância passiva das diarreias em hospitais com uma e três doses da vacina. Paralelamente a tais estudos, impõe-se o estabelecimento de um sistema que enseje proceder-se à vigilância sistemática das cepas virais circulantes.

Algumas das características da vacina (ex.: efeitos colaterais inexpressivos, uso oral, três doses que podem ser administradas concomitantemente a outros imunizantes etc.) favorecem a sua incorporação ao "Programa Ampliado de Imunizações" vigente nos países em desenvolvimento. Um fator limitante a sua ampla utilização no "Terceiro Mundo", entretanto, reside no custo estimado presentemente para uma dose, cerca de U\$ 30.00¹¹⁰. Nos E.U.A.¹¹¹ e Finlândia¹¹², em contrapartida, recentes análises indicaram relação custo-benefício satisfatória, que se traduz na economia prevista de aproximadamente 250 milhões e 1 milhão de dólares ao ano, respectivamente.

Um aspecto a ser intensamente explorado em bases educativas, durante o processo de introdução da vacina contra rotavírus nos países em desenvolvimento, é a percepção de sua importância, principalmente pelas mães⁵⁰. Os benefícios proporcionados por essa nova vacina não seriam tão evidentes quanto, por exemplo, aqueles decorrentes da imunização contra o sarampo. Com efeito, dos 30 a 50 episódios de diarreia que acometem a criança nos primeiros cinco anos de vida, apenas um (possivelmente

dois) se associam aos rotavírus. O efetivo impacto será observado mais nitidamente pelos médicos e autoridades de saúde, a quem caberá identificar sensível declínio nos registros de hospitalizações, visitas ao consultório e óbitos por diarreia.

Conquanto a *RRV-TV* (“Rotashield®”) represente a única vacina contra rotavírus licenciada para uso humano nos EUA, e seja bastante provável a sua utilização corrente a curto/médio prazo em outros países, inclusive no Brasil, ora se empreendem esforços visando a imunizantes alternativos. Nesse contexto merecem destaque a) preparações que incluam sorotipos adicionais (ex.: o G5); b) outras, com administração em dose única oral, envolvendo microcápsulas, ou mesmo injetável, com vírus inativados; e c) produtos que reúnam proteínas expressas por um “vetor”, e até as vacinas de ADN.

Referências bibliográficas

- Bern C, Martinez J, de Zoysa I, Glass RI. The magnitude of the global problem of diarrhoeal disease: a ten-year update. *Bull WHO* 1992; 70: 705-14.
- Thielman NM, Guerrant RL. From Rwanda to Wisconsin: the global relevance of diarrhoeal diseases. *J Med Microbiol* 1996; 44: 155-6.
- Institute of Medicine. The prospects for immunizing against rotavirus. In: *New Vaccine Developments. Establishing Priorities. Diseases of importance in developing countries.* Washington: National Academy Press; 1986. p.308-18.
- Lambert P-H, Siegrist C-A. Science, Medicine, and the future. *Vaccines and vaccination.* *BMJ* 1997; 315: 1595-8.
- Kapikian AZ, Chanock RM. Rotaviruses. In: Field BN et al, eds. *Virology*, 3ª ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1996. p.1657-708.
- DeZoysa I, Feachem RV. Interventions for the control of diarrhoeal diseases among rotavirus and cholera immunization. *Bull WHO* 1985; 63: 569-83.
- Bishop RF, Davidson GP, Holmes IH, Ruck BJ. Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with viral gastroenteritis. *Lancet* 1973; 2: 1281-3.
- Linhares AC, Pinheiro FP, Schmetz C, Müller G, Dietrich P. Rotavírus em Belém do Pará, Brasil (nota prévia). *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1977; 19: 278.
- Linhares AC. Rotavirus infection in Brazil: epidemiology, immunity and potential vaccination. *Braz J Infect Dis* 1997; 1: 284-93.
- Pereira HG, Linhares AC, Candeias JAN, Glass RI. National laboratory surveillance of viral agents of gastroenteritis in Brazil. *Bull PAHO* 1993; 27: 224-33.
- Estes MK. Advances in molecular biology: impact on rotavirus vaccine development. *J Infect Dis (suppl 1)* 1996; 174: S37-46.
- Gentsch JR, Woods PA, Ramachandran M, Das BK, Leite JP, Alfieri A et al. Review of G and P typing results from a global collection of rotavirus strains: implications for vaccine development. *J Infect Dis (suppl 1)* 1996; 174: S30-6.
- Leite JPG, Alfieri AA, Woods PA, Glass RI, Gentsch JR. Rotavirus G and P types circulating in Brazil: characterization by RT-PCR probe hybridization, and sequence analysis. *Arch Virol* 1996; 141: 2365-74.
- Ward RL, Bernstein DI, Young EC, Sherwood JR, Knowlton DR, Schiff GM. Human rotavirus studies in volunteers: determination of infectious dose and serological response to infection. *J Infect Dis* 1986; 154: 871-80.
- Gusmão RHP, Mascarenhas RHP, Gabbay YB, Lins-Lainson Z, Ramos FLP, Monteiro TAF et al. Rotavirus subgroups, G serotypes and electrophoretotypes in cases of nosocomial infantile diarrhoea in Belém, Brazil. No prelo.
- Pacini DL, Brady MT, Budde CT, Connell MJ, Hamparian W, Hughes JH. Nosocomial rotaviral diarrhea: pattern of spread on wards in a children's hospital. *J Med Virol* 1987; 23:359-66.
- Cook SM, Glass RI, LeBaron CW, Ho MS. Global seasonality of rotavirus infections. *Bull WHO* 1990; 68: 171-7.
- Bishop RF. Natural history of rotavirus infection. *Arch Virol (suppl)* 1996; 12: 119-128.
- Mavromichalis J, Evans N, McNeish AS, Bryden AS, Davies HÁ, Flewett TH. Intestinal damage in rotavirus and adenovirus gastroenteritis assessed by d-xylose malabsorption. *Arch Dis Child* 1977; 52: 589-91.
- Ball JM, Tian P, Zeng CQ-Y, Morris AP, Estes MK. Age-dependent diarrhea induced by a rotaviral nonstructural glycoprotein. *Science* 1996; 272: 101-4.
- Jourdan N, Brunet JP, Sapin C, Blais A, Cotte-Laffitte J, Forestier J et al. Rotavirus infection reduces sucrase-isomaltase in human intestinal epithelial cells by perturbing protein targeting and organization of microvillar cytoskeleton. *J Virol* 1998; 72: 7228-36.
- Champsaur H, Questiaux E, Prévot J, Henry-Amar M, Goldszmidt D, Bourjouane M, Bach C. Rotavirus carriage, asymptomatic infection, and disease in the first two years of life: I. virus shedding. *J Infect Dis* 1984; 149: 667-74.
- Christensen ML. Human viral gastroenteritis. *Clin Microbiol Rev* 1989; 2: 51-67.
- Davidson GP, Hogg RJ, Kirubakaron CP. Serum and intestinal immune response to rotavirus enteritis in children. *Infect Immun* 1983; 40: 447-52.
- Ward RI. Mechanisms of protection against rotavirus in humans and mice. *J Infect Dis* 1996; 174: S51-8.
- Burns JW, Siadat-Pajouh M, Krishnaney AA, Greenberg HB. Protective effect of rotavirus VP6-specific IgA monoclonal antibodies that lack neutralizing activity. *Science* 1996; 272: 104-7.
- Offit PA. Host factors associated with protection against rotavirus disease: the skies are clearing. *J Infect Dis* 1996; 174: S59-S64.
- Bishop RF, Barnes GL, Cipriani E, Lund JS. Clinical immunity after neonatal rotavirus infection: a prospective, longitudinal study in young children. *N Engl J Med* 1983; 309: 72-6.
- Bhan MK, Lew JF, Szawal S, Das BK, Gentsch JR, Glass RI. Protection conferred by neonatal rotavirus infection against subsequent rotavirus diarrhea. *J Infect Dis* 1993; 168: 282-7.
- Velázquez FR, Matson DO, Calva JJ, Guerrero ML, Morrow AL, Carter-Campbell S et al. Rotavirus infection in infants as protection against subsequent infections. *N Engl J Med* 1996; 335: 1022-8.
- Santos N, Gouvea V. Infecções por rotavírus: aspectos atuais. *J Bras Patol* 1997; 33: 94-102.
- Bishop RF. Development of candidate rotavirus-vaccines. *Vaccine* 1993; 11: 247-54.
- Steinboff MC. Rotavirus: the first five years. *J Pediatr* 1980; 96: 611-22.

34. Linhares AC, Monção HC, Gabbay YB, de Araujo VLC, 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.
35. Carr ME, Mckendrick GDN, Sprydakis T. The clinical features of infantile gastroenteritis due to rotavirus. *Scand J Infect Dis* 1976; 8: 241-3.
36. Wyatt RG, Yolken RH, Urrutia JJ, Mata L, Greenberg HB, Chanock RM et al. Diarrhea associated with rotavirus in rural Guatemala. A longitudinal study of 24 infants and young children. *Am J Trop Med Hyg* 1979; 28: 325-8.
37. Rodriguez WJ, Kim HW, Arrobio JO, Brandt CD, Chanock RM, Kapikian AZ et al. Clinical features of acute gastroenteritis associated with human reovirus-like agent in infant and young children. *J Pediatr* 1977; 91: 188-93.
38. Linhares AC, Gabbay YB, Freitas RB de, Travassos da Rosa ES, Mascarenhas JDP, Loureiro ECB. Longitudinal study of rotavirus infections among children from Belém, Brazil. *Epidem Infect* 1989; 102: 129-45.
39. Linhares AC, Gabbay YB, Mascarenhas JDP, Freitas RB de, Oliveira CS, Bellesi N et al. Estudo prospectivo das infecções por rotavírus em Belém, Pará, Brasil: uma abordagem clínico-epidemiológica. *J pediatr (Rio J.)* 1994; 70: 220-5.
40. McCormack JG. Clinical features of rotavirus gastroenteritis. *J Infect Dis* 1982; 4: 167-74.
41. Black RE. Persistent diarrhea in children of developing countries. *Pediatr Infect Dis J* 1993; 12: 751-64.
42. Coelho CAR, Moreira FL, Maffei HVL, Coelho KIR. 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. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1983; 25: 113-9.
43. Tavares-Júnior PA, Carvalho MDD, Boechat T, Nascimento FT. Rotavírus como agente associado à diarreia protraída em criança de baixa renda. *Arq Bras Med* 1988; 62: 113-9.
44. Richardson S, Grimwood K, Gorrell R, Palombo E, Barnes G, Bishop R. Extended excretion of rotavirus after severe diarrhoea in young children. *Lancet* 1998; 321: 1844-8.
45. Saulsbury FT, Winkelstein JÁ, Yolken RH. Chronic rotavirus infection in immunodeficiency. *J Pediatr* 1980; 97: 61-5.
46. Flores J, Pérez-Schael I, González D, Garcia D, Perez M, Daoud N et al. Protection against severe rotavirus diarrhoea by rhesus rotavirus vaccine in Venezuelan infants. *Lancet* 1987; 1: 882-4.
47. Chrystie IL, Totterdell B, Baker MJ, Scopes JW, Banatvala JE. Rotavirus infections in a maternity unit. *Lancet* 1975; 2: 79.
48. Chrystie IL, Totterdell BM, Banatvala JE. Asymptomatic endemic rotavirus infections in the newborn. *Lancet* 1978; 1: 1176-8.
49. Pérez-Schael I, Daoud G, White L, Urbina G, Daoud N, Perez M et al. Rotavirus shedding by newborn children. *J Med Virol* 1984; 14: 127-36.
50. Bresee J. Current status and future priorities for rotavirus vaccine development, evaluation, and implementation in developing countries. No prelo.
51. Pang X-L, Joensuu J, Vesikari T. Detection of rotavirus RNA in cerebrospinal fluid in a case of rotavirus gastroenteritis with febrile seizures. *Pediatr Infect Dis J* 1996; 15: 543-4.
52. Yoshida A, Kawamitsu T, Tanaka R, Okumura M, Yamakura S, Takasaki Y et al. Rotavirus encephalitis: detection of the virus RNA in the cerebrospinal fluid. *Pediatr Infect Dis J* 1995; 14: 914-6.
53. Zheng BJ, Chang RX, Ma GZ, Xie JM, Liu Q, Liang XR et al. Rotavirus infection of the oropharynx and respiratory tract in young children. *J Med Virol* 1991; 34: 29-37.
54. Matsuno S, Utagawa E, Sugiura A. Association of rotavirus infection with Kawasaki syndrome. *J Infect Dis* 1983; 148: 177.
55. Saitoh Y, Matsuno S, Mukoyama A. Exanthem subitum and rotavirus. *N Engl J Med* 1981; 304: 845.
56. Konno T, Suzuki H, Kutsuzawa T, Imai A, Katsushima N, Sakamoto M et al. Human rotavirus and intussusception. *N Engl J Med* 1977; 297: 945.
57. Grunow JE, Dunton SF, Waner JL. Human rotavirus like particles in hepatic abscess. *J Pediatr* 1985; 106: 73-6.
58. Limbos MAP, Lieberman JM. Disseminated intravascular coagulation associated with rotavirus gastroenteritis: report of two cases. *Clin Infect Dis* 1996; 22: 834-6.
59. Oishi I, Kimura T, Murakami T, Haruki K, Seto Y, Minekawa Y et al. Serial observations of chronic rotavirus infection in an immunodeficient child. *Microbiol Immunol* 1991; 35: 953-61.
60. Gilger MA, Matson DO, Conner ME, Rosenblatt HM, Finegold MJ, Estes MK. Extraintestinal rotavirus infection in children with immunodeficiency. *J Pediatr* 1992; 120: 912-7.
61. Oshitani H, Kasolo FC, Mpabalwani M, Luo NP, Matsubayashi N, Bhat GH et al. Association of rotavirus and human immunodeficiency virus infection in children hospitalized with acute diarrhea, Lusaka, Zambia. *J Infect Dis* 1994; 169: 897-900.
62. Mogilner BM, Bar-Yochai A, Miskin A, Shif I, Aboudi Y. Necrotizing enterocolitis associated with rotavirus infection. *Isr J Med Sci* 1983; 19: 894-6.
63. Glass RI, Lang DR, Ivanoff BN, Compans W. Introduction: rotavirus - from basic research to a vaccine. *J Infect Dis* (suppl 1) 1996; 174: S1-2.
64. Sato K, Inaba Y, Shinozaki T, Fujii R, Matumoto M. Isolation of human rotavirus in cell cultures. *Arch Virol* 1981; 69: 155-60.
65. Glass RI, Gentsch J, Smith JC. Rotavirus vaccine: success by reassortment? *Science* 1994; 265: 1389-90.
66. Bernstein DI, Smith VE, Sander DS, Pax KA, Schiff GM, Ward RL. Evaluation of WC3 rotavirus vaccine and correlates of protection in healthy infants. *J Infect Dis* 1990; 162: 1055-62.
67. Vesikari T, Isolauri E, Delem A, D'Hondt E, André FE, Beards GM et al. Clinical efficacy of the RIT 4237 live attenuated bovine rotavirus vaccine in infants vaccinated before a rotavirus epidemic. *J Pediatr* 1985; 107: 189-194.
68. Pérez-Schael I, Garcia D, González M, González R, Daoud N, Pérez M et al. Prospective study of diarrheal diseases in Venezuelan children to evaluate the efficacy of rhesus rotavirus vaccine. *J Med Virol* 1990; 30: 219-29.
69. Lanata CF, Black RE, del Aguila R, Gil A, Verastegui H, Gerna G et al. Protection of Peruvian children against rotavirus diarrhea of specific serotypes by one, two, or three doses of the RIT 4237 attenuated bovine rotavirus vaccine. *J Infect Dis* 1989; 159: 452-9.
70. De Mol P, Zissis G, Butzler JP, Mutwewingabo A, Andre FE. Failure of live, attenuated oral rotavirus vaccine. *Lancet* 1986; 2: 10.
71. Hanlon P, Hanlon L, Marsh V, Byass P, Shenton F, Hassan-King M et al. Trial of an attenuated bovine rotavirus vaccine (RIT) in Gambian infants. *Lancet* 1987; 1: 1342-5.

72. Santosham M, Letson GW, Wolff M, Reid R, Gahagan S, Adams R et al. A field study of the safety and efficacy of two candidate vaccines in native American population. *J Infect Dis* 1991; 163: 483-7.
73. Clark HF, Borian FE, Bell LM, Modesto K, Gouvea A, Plotkin AS. Protective effect of WC3 vaccine against rotavirus diarrhea in infants during a predominantly serotype 1 rotavirus season. *J Infect Dis* 1988; 158: 570-87.
74. Georges-Courbot MC, Monjes J, Siopathis MR, Rongou JB, Gresenguet G, Bellec JC et al. Evaluation of the efficacy of a low passage bovine rotavirus in children in Central Africa. *Res Virol* 1991; 142: 405-11.
75. Offit PA, Clark HF. Vaccines for enteric viral pathogens. In: Blaser et al, eds. *Infections of the gastrointestinal tract*. New York: Raven Press; 1995. p.1471-8.
76. Bernstein DI, Glass RI, Rodgers G, Davidson BL, Sack AD. Evaluation of rhesus rotavirus monovalent and tetravalent reassortant vaccines in US children. *J Am Med Assoc* 1995; 273: 1191-6.
77. Christy C, Madore HP, Pichichero ME, Gala C, Pancus P, Vosefski D et al. Field trial of rhesus rotavirus vaccine in infants. *Pediatr Infect Dis J* 1988; 7: 645-50.
78. Lanata CF, Midthun K, Black RE, Butron B, Huapaya A, Penny ME et al. Safety, immunogenicity, and protective efficacy of one and three doses of the tetravalent rhesus rotavirus vaccine in infants in Peru. *J Infect Dis* 1996; 174: 268-75.
79. Madore HP, Christy M, Pichichero M, Long C, Pincus P, Vosefsky D et al. Field trial of rhesus rotavirus or human-rhesus rotavirus reassortant vaccine of VP7 serotype 3 or 1 specificity in infants. *J Infect Dis* 1992; 166: 235-43.
80. Hoshino Y, Kapikian AZ. Rotavirus vaccine development for the prevention of severe diarrhea in infants and young children. *Trends Microbiol* 1994; 2: 242-9.
81. Clark HF, Offit PA, Ellis RW, Eiden JJ, Krah D, Shaw AR et al. The development of multivalent bovine rotavirus (strain WC3) reassortant vaccine for infants. *J Infect Dis* (suppl 1) 1996; 174: S73-80.
82. Midthun K, Greenberg HB, Hoshino Y, Kapikian AZ, Wyatt RG, Chanock RM. Reassortant rotaviruses as potential live rotavirus candidate vaccines. *J Virol* 1985; 53: 949-54.
83. Clark HF, White CJ, Offit PA, Stinson D, Eiden J, Weaver S et al. Preliminary evaluation of safety and efficacy of quadrivalent human-bovine reassortant rotavirus vaccine. *Ped Res* 1995; 37: 127A.
84. Midthun K, Hoshino Y, Kapikian AZ, Chanock RM. Single gene substitution rotavirus reassortants containing the major neutralization protein (VP7) of human rotavirus serotype 4. *J Clin Microbiol* 1986; 24: 822-6.
85. Foster RH, Wagstaff AJ. Tetravalent human-rhesus reassortant rotavirus vaccine. A review of its immunogenicity, tolerability and protective efficacy against paediatric rotavirus gastroenteritis. *Biodrugs* 1998; 9: 155-78.
86. Glass RI, Bresee JS, Parashar U, Miller M, Gentsch JR. Rotavirus vaccines at the threshold. *Nature Med* 1997; 3:1324-5.
87. Kapikian AZ, Hoshino Y, Chanock RM, Pérez-Schael I. Efficacy of quadrivalent rhesus rotavirus-based human rotavirus vaccine aimed at preventing severe rotavirus diarrhea in infants and young children. *J Infect Dis* (suppl 1) 1996; 174: S65-72.
88. Pérez-Schael I, Blanco M, Garcia D, White L, Alfonso E, Crespo I et al. Evaluation of the antigenicity and reactogenicity of varying formulations of the rhesus rotavirus-based quadrivalent and the M37 rotavirus vaccine candidates. *J Med Virol* 1994; 42: 330-7.
89. Vesikari T. Rotavirus vaccines against diarrhoeal disease. *The Lancet* 1997; 350: 1538-41.
90. Linhares AC, Gabbay YB, Mascarenhas JDP, Freitas RB, Oliveira CS, Bellesi N et al. Immunogenicity, safety and efficacy of rhesus-human reassortant rotavirus vaccine in Belém, Brazil. *Bull WHO* 1996; 74: 491-500.
91. 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. *Lancet* 1997; 350: 1205-9.
92. Pérez-Schael I, Guntiñas MJ, Pérez M, Pagone V, Rojas AM, González R et al. Efficacy of the rhesus rotavirus-based quadrivalent vaccine in young children in Venezuela. *N Engl J Med* 1997; 337: 1181-7.
93. Rennels MB, Glass RI, Dennehy PH, Bernstein DI, Pichichero ME, Zito ET et al. Safety and efficacy of high-dose rhesus-human reassortant rotavirus vaccines - report of the national multicenter trial. *Pediatrics* 1995; 97: 7-13.
94. Santosham M, Moulton LW, Reid R, Croll J, Weatherholt R, Ward R et al. Efficacy and safety of high-dose rhesus-human reassortant rotavirus vaccine in native American populations. *J Pediatr* 1997; 131: 632-8.
95. Linhares AC, Lanata CF, Hausdorff WP, Gabbay YB, Black RE. A reappraisal of the Peruvian and Brazilian lower-titer (4×10^4 pfu/dose) tetravalent rhesus-human, reassortant rotavirus vaccine efficacy trials: analysis by severity of diarrhea. Em publicação.
96. Flores J, Pérez-Schael I, Blanco M, White L, Garcia D, Vilar M et al. Comparison of reactogenicity of M37 rotavirus vaccine and rhesus-rotavirus-based quadrivalent vaccine. *Lancet* 1990; 336: 330-4.
97. Midthun K, Halsey Na, Jett-Goheen M, Clements ML, Steinhoff M, King JC et al. Safety and immunogenicity of human rotavirus vaccine strain M37 in adults, children and infants. *J Infect Dis* 1991; 164: 792-6.
98. Vesikari T, Ruuska T, Delem A, André FE, Beards GM, Flewett TH. Efficacy of two doses of RIT 4237 bovine rotavirus vaccine for prevention of rotavirus diarrhoea. *Acta Paediatr Scand* 1991; 80: 173-80.
99. Sheridan JF, Smith CC, Manak MM, Aurelian L. Prevention of rotavirus induced diarrhea in neonatal mice born to dams immunized with empty capsids of simian rotavirus SA11. *J Infect Dis* 1984; 149: 434-43.
100. Andrew ME, Boyle DB, Coupar BEH, Whitfield PL, Both GW, Bellamy AR. Vaccinia virus recombinants expressing the SA11 rotavirus VP7 glycoprotein gene induce serotype-specific neutralising antibodies. *J Virol* 1987; 61: 1054-60.
101. Reeves PR, Johnson MA, Holmes IH, Dyall-Smith ML. Expression of rotavirus VP7 antigens in fusions with bacterial proteins. *Res Microbiol* 1990; 141: 1019-25.
102. Gunn PR, Sato F, Powell KFH, Bellamy AR, Napier JR, Harding DRK et al. Rotavirus neutralizing protein VP7: antigenic determinants investigated by sequence analysis and peptide synthesis. *J Virol* 1985; 54: 791-7.
103. Matsui SM, Offit PA, Vo PT, Mackow ER, Benfield DA, Shaw RD et al. Passive protection against rotavirus-induced diarrhea by monoclonal antibodies to the heterotypic neutralization domain of VP7 and the VP8 fragment of VP4. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 780-2.

104. Hermann JE, Chen SC, Fynan EF, Santoro JC, Greenberg HB, Wang S et al. Protection against rotavirus infections by DNA vaccination. *J Infect Dis* (suppl 1) 1996; 174: S93-7.
105. WHO, CDC, CVI. Report. Consensus Workshop: Rotavirus Vaccines for the Immunization of Children in Developing Countries. Geneva, 9-10 January, 1997.
106. Midthun K, Kapikian AZ. Rotavirus vaccines: an overview. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9: 423-34.
107. Rennels MB. Influence of breast-feeding and oral poliovirus vaccine on the immunogenicity and efficacy of rotavirus vaccines. *J Infect Dis* (suppl 1) 1996; 174: S107-11.
108. Santos N, Lima RCC, Pereira CFA, Gouvea V. Detection of rotavirus types G8 and G10 among Brazilian children with diarrhea. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 2727-9.
109. WHO. Developing the technology for improving child health. In: CHD 1996-1997 Report 1998; WHO/CHD/98.5: 75-88.
110. Smith JC, Haddix AC, Teutsch SM, Glass RI. Cost-effectiveness analysis of a rotavirus immunization program for the United States. *Pediatrics* 1995; 96: 609-15.
111. Tucker AW, Haddix AC, Bresee JS, Holman RC, Parashar UD, Glass RI. Cost-effectiveness analysis of a rotavirus immunization program for the United States. *JAMA* 1998; 279: 1371-6.
112. Takala AK, Koskeniemi E, Joensuu J, Mäkelä M, Vesikari T. Economic evaluation of rotavirus vaccinations in Finland: randomized, double-blind, placebo-controlled trial of tetravalent rhesus rotavirus vaccine. *J Infect Dis* 1998; 27: 272-82.

Endereço para correspondência:

Dr. Alexandre C. Linhares
Inst. Evandro Chagas - Fundação Nacional de Saúde - MS
Av. Almirante Barroso, 492
Belém - Pará - CEP 66090-000
Fones: 91 211.4403 / 226.1284
E-mail: linhares@iec.pa.gov.br