



Universidade Federal do Pará - UFPA
Instituto de Ciências Da Saúde
Faculdade de Medicina

FREDISON PINHEIRO FARIAS
TÁSSIO SAMPAIO MACIEL

**MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS GASTROINTESTINAIS E EXTRAINTestinaIS EM
CRIANÇAS HOSPITALIZADAS EM UMA CLÍNICA INFANTIL EM BELÉM, PARÁ
COM VIREMIA/RNAEMIA CAUSADA POR NOROVÍRUS.**

BELÉM - PARÁ
2019

FREDISON PINHEIRO FARIAS

TÁSSIO SAMPAIO MACIEL

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS GASTROINTESTINAIS E EXTRAINTESTINAIS EM CRIANÇAS HOSPITALIZADAS EM UMA CLÍNICA INFANTIL EM BELÉM, PARÁ COM VIREMIA/RNAEMIA CAUSADA POR NOROVÍRUS.

Trabalho de Conclusão
do Curso apresentado
para obtenção de grau
em Medicina pela
Universidade Federal do
Pará.

Orientadora: Profa. Dra. Maria
Cleonice Aguiar Justino

BELÉM – PARÁ

2019

FREDISON PINHEIRO FARIAS

TÁSSIO SAMPAIO MACIEL

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS GASTROINTESTINAIS E EXTRAINTestinaIS EM CRIANÇAS HOSPITALIZADAS EM UMA CLÍNICA INFANTIL EM BELÉM, PARÁ COM VIREMIA/RNAEMIA CAUSADA POR NOROVÍRUS.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado para obtenção do grau em Medicina pela Universidade Federal do Pará.

Banca Examinadora:

Orientadora

Nome/Instituição

Nome/Instituição

Aprovado em: _____/____/____

Conceito: _____

Aos nossos familiares, muito obrigado por todo apoio.

À Deus, por nos permitir chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

A Profa. Maria Cleonice Aguiar Justino, por todo apoio, dedicação e paciência na orientação deste trabalho.

A equipe do I.E.C., especialmente ao Dr. Alexandre Linhares pela oportunidade de conhecer o universo da pesquisa científica.

A equipe do projeto VIREMIA, que tornou possível este projeto, em especial a Erika M. N. de Abreu Campos por todo apoio.

Aos funcionários da Clínica PIO XII, pelo auxílio inestimável.

Aos funcionários do laboratório de Virologia do IEC pelo empenho na realização dos testes durante este trabalho, em especial a Dra. Yvonne Gabbay, Dra. Joana Mascarenhas, Euzeni Menezes, Silvia Lucena e Delana Bezerra.

Não ame pela beleza, pois um dia ela acaba; não ame por admiração, pois um dia você se decepciona; não ame por dinheiro, porque um dia ele também acaba. Ame apenas... Pois o tempo nunca pode acabar com um amor sem explicação.

Madre Teresa de Calcutá

RESUMO

Os norovírus (NoVs) figuram entre os principais causadores de gastroenterite (GE) grave, pertencem à família *Caliciviridae*, e estão divididos em sete genogrupos. O mecanismo de transmissão mais frequente é pela via fecal/oral e os sintomas são principalmente diarreia, vômitos, febre e dor abdominal, podendo ocasionar quadros de desidratação aguda e óbito. Estudos já publicados evidenciaram a presença de viremia/RNAemia causada por NoVs em pacientes com GE. O presente estudo avaliou a intensidade da manifestação dos sintomas de GE grave por NoVs associados à possível viremia/RNAemia causada por esse agente em crianças hospitalizadas. Estudo descritivo, transversal, de caráter prospectivo e observacional, de base hospitalar, conduzido em um hospital infantil em Belém, Pará. Os testes laboratoriais foram realizados na Seção de Virologia do Instituto Evandro Chagas para pesquisa de NoVs em amostras de sangue e fezes, onde foi realizado o ELISA nas fezes e o método PCR quantitativo (RT-PCR) para análise das amostras no soro. No período de março de 2012 a junho de 2015 foram triados 3.740 pacientes na faixa etária preconizada pelo estudo em duas clínicas infantis em Belém (Clínica Pio XII e Clínica Pediátrica do Pará). Foram incluídos 600 crianças com GE grave, sendo excluídos 28 participantes, restando efetivamente 572 pacientes. Entre os 95 pacientes cuja análise por ELISA detectou a presença de NoVs nas fezes, observou-se positividade também no soro de 22,1% (21/95) dos pacientes. Em países que introduziram a vacina contra rotavírus, os NoVs passaram a ser o principal patógeno viral procurado em pacientes pediátricos com gastroenterite aguda. A presença de RNAemia ocorre com frequência entre as crianças hospitalizadas com GE grave causada por norovírus em Belém, Pará. A presença de RNAemia causada por norovírus foi correlacionada ao maior número de episódios de vômitos ao dia nos pacientes, maior tempo de hospitalização, piora da gravidade pelo Escore de Ruuska & Vesikari, além do aumento na contagem de leucócitos. A detecção de RNA de norovírus nas fezes foi superior aquela encontrada no soro/plasma. Não foi possível avaliar a correlação entre aleitamento materno exclusivo e a gravidade do quadro clínico de GE causada por norovírus.

Palavras-chave: Gastroenterite. Norovírus. Viremia.

ABSTRACT

Noroviruses (NoVs) are among the main causes of severe gastroenteritis (GE), belonging to the *Caliciviridae* family, and are divided into seven genogroups. The most frequent mechanism of transmission is via the fecal/oral and the symptoms are mainly diarrhea, vomiting, fever and abdominal pain, which can lead to acute dehydration and death. Studies already published have evidenced the presence of viremia/RNAemia caused by NoVs in patients with GE. The present study evaluated the severity of the manifestation of symptoms of severe GE by NoVs associated with the possible viremia/RNAemia caused by this agent in hospitalized children. A descriptive, cross-sectional, prospective and observational study of a hospital basis conducted at a children's hospital in Belém, Pará. Laboratory tests were performed at the Virology Section of the Evandro Chagas Institute for the study of NoVs in blood and faeces samples, where the fecal ELISA and the quantitative PCR method (RT-PCR) were performed for analysis of serum samples. From March 2012 to June 2015, 3.740 patients were screened for the age group recommended by the study in two children's clinics in Belém (Pio XII Clinic and Pará Pediatric Clinic). A total of 600 children with severe GE were included, with 28 participants excluded, with 572 patients remaining. Among the 95 patients whose ELISA analysis detected the presence of NoVs in the faeces, 22,1% (21/95) of the patients were also positive in the serum. In countries that introduced the rotavirus vaccine, NoVs became the primary viral pathogen sought in pediatric patients with acute gastroenteritis. The presence of RNAemia occurs frequently among hospitalized children with severe GE caused by norovirus in Belém, Pará. The presence of RNAemia caused by norovirus was correlated with the higher number of episodes of vomiting per day in the patients, longer hospitalization, increase of severity by the Ruuska & Vesikari score, beside that, there was an increase in the number of leukocytes. Detection of norovirus RNA in faeces was superior to that found in serum/plasma. It was not possible to evaluate the correlation between exclusive breastfeeding and the severity of the clinical condition of GE caused by norovirus.

Key-words: Gastroenteritis. Norovirus. Viremia.

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	9
1.1OBJETIVOS.....	10
1.1.1Objetivo geral.....	10
1.1.2 Objetivos específicos.....	10
2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1 Histórico.....	11
2.2 Estrutura dos norovírus.....	11
2.3 Epidemiologia.....	13
2.4 Patogênese.....	17
2.5 Quadro clínico e diagnóstico diferencial.....	17
2.6 Diagnóstico laboratorial.....	18
2.7 Tratamento.....	20
2.8 Prevenção.....	20
2.9 Antegenemia/Viremia.....	21
3 CASUÍSTICA E MÉTODOS	22
3.1 Desenho do estudo.....	22
3.2 Casuística.....	22
3.2.1 População do estudo.....	22
3.2.2Critérios de inclusão e de exclusão.....	22
3.2.3 Duração do estudo.....	22
3.2.4 Plano de recrutamento.....	22
3.3 Procedimentos e Técnicas	23
3.4 Plano de análise	25
3.5 Aprovação ética.....	25
4.RESULTADOS	25
5. DISCUSSÃO	31
6. CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS	36
APÊNDICE	53
ANEXOS	54

1. INTRODUÇÃO

Os norovírus (NoVs) pertencem à família *Caliciviridae*, são vírus não envelopados, RNA de fita simples, divididos em sete genogrupos (GI-GVII), dos quais os tipos GI, GII e GIV infectam humanos. Foram detectados pela primeira vez em 1972 por microscopia eletrônica em amostras de fezes provenientes de um surto de gastroenterite (GE) aguda ocorrido em 1968, em uma escola primária na cidade de Norwalk, Ohio, USA (KAPIKIAN et al., 1972).

Estima-se que, anualmente, os NoVs sejam responsáveis, em países desenvolvidos, por 900.000 episódios de gastroenterite que requerem visita médica e 64.000 hospitalizações entre crianças menores de cinco anos. Nos países em desenvolvimento não se dispõe de informações precisas, entretanto acredita-se que ocorram mais de 1.1 milhão de hospitalizações e 128.000 mortes por ano (PATEL et al., 2008).

O mecanismo de transmissão mais frequente é pela via fecal/oral, diretamente de pessoa a pessoa ou indiretamente através de fômites dos indivíduos infectados. Normalmente a infecção pelo NoVs é auto-limitada, com um tempo médio de incubação de 24-48 horas e duração de 24-48 horas.

Os sintomas associados são principalmente diarreia, vômitos, febre e dor abdominal, podendo ocasionar quadros de desidratação aguda que podem resultar em óbito nos casos mais graves. Manifestações extra-intestinais como coagulação intravascular, dor de cabeça, fotofobia, obnubilação e encefalopatia, também tem sido descritos associados à detecção desse agente viral tanto nas fezes quanto no soro de pacientes acometidos pela infecção (CDC, 2002; ITO et al., 2006). No Japão, Takanashi et al (2009) detectou a presença de NoVs no soro de 39 crianças com quadro de gastroenterite cujas fezes apresentaram resultado positivo para este vírus.

Em 1996 foi relatado o primeiro surto causado por esse vírus no Brasil, na Baixada Santista, em São Paulo (UEDA et al., 1996). Em Belém esses agentes foram detectados em amostras de fezes em 7,1% a 44,4% dos pacientes com sintomas diarreicos tanto no âmbito hospitalar quanto ambulatorial (NAKAMURA et al., 2006; SILVA et al., 2006; ARAGÃO et al., 2010; SIQUEIRA et al., 2010).

No âmbito mundial, os NoVs são atualmente reconhecidos como a principal causa da GE aguda. Aproximadamente metade de todos os surtos de GE, é de responsabilidade dos NoVs (PATEL et al., 2008) e são a causa principal de GE aguda esporádica em todas as faixas etárias (KARSTEN et al., 2009; HALL et al., 2011; TAM et al., 2012).

Os NoVs podem em breve tornar-se o patógeno entérico mais importante nas populações pediátricas do mundo todo, em razão da vacina eficaz disponível contra o rotavírus (RVs) (KOO et al., 2010). Estudos recentes já mostraram taxas mais elevadas de hospitalização em virtude de infecção por NoVs em crianças comparado ao RVs, após a introdução de vacinas contra o RVs (PAYNE et al., 2013; HEMMING et al., 2013).

A viremia por RVs em crianças com GE aguda está bem documentada e publicada (BLUTT et al., 2003; HEMMING et al., 2014). No entanto, poucos estudos investigaram a presença do RNA de NoVs no soro de crianças infectadas pelo vírus (TAKANASHI et al., 2009; MEDICI et al., 2010; FUMIAN et al., 2013).

Estudos relacionados à presença de NoVs em amostras de soro são necessários para definir a real importância da circulação desses vírus em outros órgãos além do intestino e sua correlação com maior ou menor gravidade dos sintomas apresentados durante o curso da doença podendo resultar em novas estratégias de manejo e prevenção.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a intensidade da manifestação dos sintomas de GE por Norovírus (NoVs) associado a possível RNAemia causada por esse agente, entre crianças hospitalizadas em uma clínica infantil em Belém.

1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar se a presença da RNAemia correlaciona-se com a gravidade do quadro clínico de GE por NoVs;

- Comparar a positividade da pesquisa de NoVS nas fezes frente àquela encontrada no sangue(soro/plasma);
- Avaliar se há correlação entre o tempo de aleitamento materno exclusivo e a intensidade das manifestações clínicas de GE por NoVs naquelas crianças com idade inferior a 2 anos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Histórico

Em 1972, os NoVs foram indetificados pela primeira vez como a causa de GE aguda em uma amostra de fezes advinda de um surto em Norwalk, Ohio [EUA] (KAPIKIAN et al., 1972). Eles foram caracterizados, por muitos anos, pela sua forma (vírus pequenos redondos) ou por sua semelhança com o agente de Norwalk (vírus do tipo Norwalk). O nome norovírus foi adotado oficialmente em 2002 e introduzido como um novo gênero dentro da família Caliciviridae (MAYO, 2002).

2.2 Estrutura dos Norovírus

Os NoVs são classificados em sete genogrupos (GI-GVII), que são adicionalmente subdivididos em genótipos (BAEHNER; BOGAERTS; GOODWIN, 2016). Estão classificados dentro dos genogrupos I, II e IV todos os NoVs causadores de infecções humanas. O vírus de Norwalk é a cepa protótipo (GI.1) (ZHENG et al., 2005). Predominante desde meados da década de 90 os NoVs GII.4 têm sido o genótipo circulante, sendo responsável por 70 a 80% de todos os surtos de NoVs (BULL et al., 2006).

Os vírions medem cerca de 27 a 30 nm de diâmetro e são compostos de um capsídeo e um ácido nucléico. Não são constituídos de envoltório. O núcleo capsídeo exibe simetria icosaédrica e arredondada (MORILLO; TIMENETSKY, 2011).

Os NoVs demonstram um alto grau de variabilidade genética (14 a 44% dentro de um genótipo e 45 a 61% dentro de um genogrupo) (ZHENG et al., 2005). A relação de mutações de pontos e a recombinação de NoVs favorece para a sua grande diversidade. Novas cepas de NoVs são capazes de infectar populações recém suscetíveis que não disponham de imunidade protetora, sendo capazes de ligar-se potencialmente a novos alvos genéticos em carboidratos,

em decorrência da rápida deriva antigênica do NoVs GII.4 culminando no surgimento de novas cepas associadas a epidemias globais na última década. Isso supõe que as cepas NoVs GII.4 evoluem e disseminam-se de forma semelhante às da influenza, com cepas GII.4 bem-sucedidas se disseminando rápida e globalmente, promovendo o surgimento de epidemias (SIEBENGA et al., 2009).

Os fatores genéticos e imunidade adquirida são os dois mecanismos determinantes que levam a suscetibilidade da população à infecção pelo NoVs. A expressão dos antígenos do grupo histossanguíneo (HBGAs) está relacionado à suscetibilidade genética a infecções por NoVs, sendo carboidratos de grupos sanguíneos que são receptores putativos ou receptores concomitantes de NoVs expressos no epitélio dos tratos respiratório e gastrointestinal. São altamente específicos à cepa, a suscetibilidade genética de hospedeiros e os padrões de ligação de HBGAs, com diferentes cepas de NoVs ligando-se preferencialmente a diferentes carboidratos de HBGAs (HUANG et al., 2003; TAN; JIANG, 2005; HUANG et al., 2005).

O antígeno H1 codificado pelo gene secretor (gene FUT2) é o HBGA mais importante relacionado à suscetibilidade à GE por NoV. São negativos para secretores (aproximadamente 20% da população), não expressam os HBGAs necessários para a acoplagem (“docking”) e talvez para a entrada e são resistentes à infecção com NoVs GI, incluindo as cepas de vírus Norwalk, e aos NoVs GII.4, indivíduos que codificam defeitos na enzima FUT2 (LINDESMITH et al., 2003; ROCKX et al., 2005; THORVEN et al., 2005; LARSSON et al., 2006; BUCARDO et al., 2009; LINDESMITH et al., 2008; FRENCK et al., 2012). Contudo, há exemplos de NoVs humanos que não se ligam a HBGAs, incluindo as cepas GII.4 pandêmicas recentes (LINDESMITH et al., 2003; HUANG et al., 2005; THORVEN et al., 2005; LINDESMITH et al., 2008).

Observou-se a presença de imunidade tanto humoral como mediada por células, porém a resposta imune do hospedeiro humano à infecção por NoVs não é bem entendida. As infecções por NoVs são ubíquas e que elas ocorrem nos primeiros estágios de vida, com prevalência atingindo 95% em adultos, de acordo com a demonstração de estudos de soro prevalência (GRAY et al., 1993; O'RYAN et al., 1998). Contudo, ainda permanece a dúvida, apesar de toda a evidência demonstrando a presença de anticorpos em alto percentual da população, se eles conseguem promover alguma proteção contra infecção.

Em seres humanos, estudos iniciais mostraram que indivíduos infectados com NoVs desenvolvem uma resposta de anticorpos específica ao vírus que confere uma imunidade de curto prazo (< 6 meses), mas não foi possível demonstrar de forma consistente a imunidade de longo prazo (WYATT et al., 1974; PARRINO et al., 1977; JOHNSON et al., 1990).

Comprovou-se pela primeira vez, dados de um estudo de fase I para um candidato a vacina contra o NoVs a existência de células B de memória funcionais dependentes da dose em seres humanos imunizados (RAMIREZ et al., 2012). Existe evidência de imunidade natural proveniente de um estudo de coortes conduzido entre crianças no Chile que pesquisou o ônus da infecção por NoVs e RVs, indo além dos estudos experimentais. Naquele estudo, foi descoberto que a infecção anterior por NoVs GII protegia contra infecção sintomática por NoVs (O'RYAN et al., 2009).

Possivelmente a diversidade antigênica de NoVs exerça uma função importante na fuga de respostas imunológicas do hospedeiro e limite a proteção por anticorpos, podendo igualmente permitir que hospedeiros fiquem expostos, com novos padrões de ligação a receptores de hospedeiros específicos à cepa NoVs (SIEBENGA et al., 2007; LINDESMITH et al., 2008). A imunidade coletiva e protetora de longo prazo em uma parcela substancial da população é compatível com a substituição rápida da cepa epidêmica GII.4 por novos isolados a cada 3 a 7 anos (SIEBENGA et al., 2010).

Demonstrou-se em um estudo com soros de pacientes em fase de convalescência que a exposição anterior ao NoVs GII.4 seguida da infecção pelo NoVs GII.3, aparentemente promoveu uma resposta imunológica ao NoVs GII.4, amparando a hipótese de que a imunidade coletiva é uma força determinante na evolução do GII.4 e sugerindo a existência de padrões complexos de proteção cruzada dos genótipos NoVs em humanos (CANNON et al., 2009).

2.3 Epidemiologia

A transmissão dos NoVs pode ocorrer por via fecal-oral ou por via vômito-oral, seja por contato direto com uma pessoa infectada ou por superfícies contaminadas com fômites, alimentos ou água contaminada (FLINT et al., 2005; SCHUSTER et al., 2005; YODER et al., 2008; BAERT et al., 2009; BATZ et al., 2012; HALL et al., 2012). Documentou-se a

transmissão pelo ar, via aerossol emitido por ocasião do vômito em pelo menos dois surtos (SAWYER et al., 1988; MARKS et al., 2000). Pressupõe-se que a transmissão direta de pessoa a pessoa seja o principal modo de contaminação na maioria dos surtos (LOPMAN et al., 2003; YEN et al., 2011) e na doença esporádica (DE WIT; KOOPMANS; VAN DUYNHOVEN, 2003; PHILLIPS et al., 2011).

Pode ser mais difícil a comprovação da transmissão ambiental, porém diversas investigações em surtos nos quais grupos de um ambiente comum foram afetados sequencialmente sem contato direto conhecido proporcionaram alguma evidência convincente (EVANS et al., 2002; OTTER; YEZLI; FRENCH, 2011; THORNLEY et al., 2011). Além disso, a transmissão ambiental do NoVs pode ser facilitada através de muitos fatores: grandes reservatórios humanos, propagação abundante em fezes, disseminação ampla e rápida por vômito, propagação prolongada, estabilidade ambiental, resistência à desinfecção química, e a gama variada de materiais que podem ficar contaminados por semanas, tornando-os altamente contagiosos (LOPMAN et al., 2012).

É comum a infecção assintomática, porém a sua importância na transmissão é incerta. Mostrou-se que 82% dos indivíduos tornarem-se infectados, 68% sintomáticos e 32% assintomáticos (GRAHAM et al., 1994). Um estudo foi conduzido recentemente entre secretores e não secretores de HBGAs onde mostrou uma taxa de infecção de 70% entre secretores comparada a 5,9% entre não secretores. Dos infectados, 57% adoeceram (FRENCK et al., 2012).

Além dos estudos experimentais, existem também estudos de caso-controle que evidenciam infecção assintomática, em que foram relatadas taxas que variavam de NoVs em 3,4 a 12% entre controles assintomáticos (DE WIT et al., 2001; KARSTEN et al., 2009; PHILLIPS et al., 2010). Descreveu-se em um dos estudos taxas ainda maiores entre crianças com menos de 5 anos de idade, variando de 22 a 34% (PHILLIPS et al., 2010).

Diversos fatores podem explicar a existência de todas estas infecções assintomáticas, incluindo a propagação viral prolongada após a infecção e os fatores de suscetibilidade do hospedeiro (LEVINE; ROBINS-BROWNE, 2012).

Pode ser um fator de contribuição importante para a natureza insidiosa dos surtos de NoVs, a propagação viral prolongada. Demonstrou-se que a propagação viral tem uma duração mediana de 28 dias após uma infecção experimental, com pico mediano de propagação viral de 95×10^9 cópias genômicas/g de fezes (ATMAR et al., 2008). Mesmo na ausência de sintomas, a propagação ocorreu. Também foi documentada a propagação viral prolongada em pacientes hospitalizados com infecção por NoVs por até 182 dias (SIEBENGA et al., 2008), e em equipes e pacientes assintomáticos durante surtos em hospitais (GALLIMORE et al., 2004). É mais frequente a propagação prolongada em pacientes com quadros clínicos subjacentes com algum grau de imunodeficiência (SIEBENGA et al., 2008; SUKHRIE et al., 2010). Apesar de propagadores crônicos tenham sido identificados em hospitais como possíveis reservatórios de transmissão nosocomial (SUKHRIE et al., 2010), não está clara a função de propagadores assintomáticos na transmissão da infecção.

Um estudo em um ambiente hospitalar pesquisou o papel de pacientes e profissionais da saúde sintomáticos versus assintomáticos na transmissão de NoVs, concluiu que pacientes e profissionais da saúde sintomáticos estavam mais frequentemente envolvidos em eventos de transmissão do que propagadores assintomáticos, apesar de altos níveis de propagação viral fecal (SUKHRIE et al., 2012). Foram implicados na transmissão de infecções por NoVs em diversas investigações de surtos transmitidos por alimentos, os manuseadores de alimentos assintomáticos (SHINKAWA et al., 2008; YU et al., 2010; THORNLEY et al., 2013). Comprovou-se a excreção assintomática de NoVs em 12% dos manuseadores de alimentos em uma empresa de entrega de alimentos no Japão, em um contexto de ausência de surto (OKABAYASHI et al., 2008) e em 3,4% dos manuseadores de alimentos que trabalhavam em escolas do ensino fundamental na Coreia (YU et al., 2011).

Durante todo o ano os NoVs provocam infecção com sazonalidade acentuada. Não são bem compreendidos os fatores condicionadores desta sazonalidade. Houve evidência que o aumento da transmissão do NoVs na Inglaterra está associado a temperaturas menores e umidade relativa menor, o que pode explicar a acentuada sazonalidade no inverno em países temperados do hemisfério norte (LOPMAN et al., 2009). Contudo, isso não explica o motivo da ocorrência de picos nos meses mais quentes no hemisfério sul (MARSHALL; DIMITRIADIS; WRIGHT, 2005; BRUGGINK; MARSHALL, 2009).

Confirmou-se em um estudo na Espanha um segundo pico de NoVs durante o verão em relação aos casos de infecção mista por NoVs - *Salmonella enteritidis* (GONZALEZ-GALAN et al., 2011). Também foi citada a pluviosidade como um fator de contribuição na Austrália, em que foi descoberta uma correlação estatisticamente significativa entre a incidência de surtos de NoVs e a pluviosidade média (BRUGGINK; MARSHALL, 2010). Através desses resultados sugere a presença de um reservatório ambiental para o NoVs em corpos hídricos em que o aumento da pluviosidade estimularia a disseminação de NoVs na comunidade (MARSHALL; BRUGGINK, 2011).

Comprovou-se no Brasil que a infecção por NoVs em crianças, em números absolutos, têm seu pico no início da estação chuvosa (BUCARDO et al., 2008). Outros fatores também podem influenciar a sazonalidade, como mudanças no comportamento do hospedeiro (p. ex., aglomeração) e suscetibilidade do hospedeiro (flutuações sazonais na imunidade humoral e celular) (ROHAYEM, 2009). Em nosso estudo, as infecções por NoVs foram encontradas durante todo o ano, com um pico de incidência aparente durante a estação chuvosa em nossa região. No entanto, dois picos de positividade foram observados em meses não chuvosos (setembro e outubro / 2014).

No âmbito mundial, os NoVs são atualmente reconhecidos como a principal causa da GE aguda. Aproximadamente metade de todos os surtos de GE, é de responsabilidade dos NoVs (PATEL et al., 2008) e são a causa principal de GE aguda esporádica em todas as faixas etárias (KARSTEN et al., 2009; HALL et al., 2011; TAM et al., 2012).

Em relação aos casos de GEA que levam a hospitalização, os NoVs são a segunda causa após os rotavírus (RVs) em crianças, (JUNQUERA et al., 2009; TRAN et al., 2010; WIEGERING et al., 2011; RASANEN et al., 2011) e a causa viral mais comum entre adultos (JANSEN et al., 2008; PODKOLZIN et al., 2009).

Os NoVs podem em breve tornar-se o patógeno entérico mais importante nas populações pediátricas do mundo todo, em razão da vacina eficaz disponível contra o RVs (KOO et al., 2010). Estudos recentes já mostraram taxas mais elevadas de hospitalização em virtude de infecção por NoVs em crianças comparado ao RVs, após a introdução de vacinas contra o RVs (PAYNE et al., 2013; HEMMING et al., 2013).

2.4 Patogênese

Os vírions possuem habilidade para sobreviver na passagem pelo estômago, além de ser estáveis em ácido. No citoplasma dos enterócitos o vírus é replicado, onde o RNA de polaridade positiva atua como mRNA (MORILLO; TIMENETSKY, 2011). Os NoVs podem alcançar a corrente sanguínea através dos enterócitos e atingir outros órgãos além do intestino, podendo levar à manifestações extra-intestinais como coagulação intravascular, dor de cabeça, fotofobia, obnubilação e encefalopatia (CDC, 2002; ITO et al., 2006). A detecção de RNA de NoVs no soro sugere a presença de viremia causada por esse agente.

2.5 Quadro clínico e diagnóstico diferencial

A infecção por NoVs geralmente se apresenta de forma súbita, manifestando episódios de vômitos e/ou diarreia, embora sintomas associados, como náusea, dor ou cólicas abdominais, anorexia, mal-estar, cefaléia, mialgia e baixo grau de febre também sejam comuns. O vômito é mais frequente do que em outras GE agudas (WIEGERING et al., 2011, KAWADA et al., 2012) e os sintomas respiratórios podem ser comuns em crianças (WIEGERING et al., 2011). A infecção do NoVs tem um período de incubação de 24 a 48 horas (KAPLAN et al., 1982).

Sabe-se que a gravidade clínica em crianças é menor do que na infecção por RVs (JUNQUERA et al., 2009; GONZALEZ-GALAN et al., 2011; RASANEN et al., 2011), foi relatado no Japão duração superior de vômito e diarreia em crianças hospitalizadas com infecção por NoVs comparado ao rotavírus (KAWADA et al., 2012). A infecção subclínica é muito comum, com até 30 a 40% das pessoas infectadas sendo assintomáticas (GRANHAM et al., 1994; FRENCK et al., 2012). A infecção conjunta com outros vírus ou bactérias entéricas não é incomum, principalmente em crianças, ainda que a significância deste fato permaneça contraditória. Alguns estudos verificaram que a infecção conjunta está associada à maior gravidade clínica do que a infecção isolada (COLOMBA et al., 2007; BUCARDO et al., 2008), outros estudos não relatam nenhuma associação (JUNQUERA et al., 2009; GONZALEZ-GALAN et al., 2011; FRIESEMA et al., 2012).

A evolução clínica é benigna na maioria dos casos, mas podem ocorrer complicações e sequelas. Foram relatados depleção de volume, distúrbios eletrolíticos e insuficiência renal

como complicações de infecções por NoVs em pacientes com doença subjacente (MATTNER et al., 2006). Podem acontecer outras complicações raras, como disfunção hepática (ZENDA; MIYAMOTO; KANEKO, 2011), perfuração intestinal espontânea (PAWA et al., 2009) e insuficiência renal aguda acompanhada de síndrome nefrótica (KANAI et al., 2010). A síndrome do intestino irritável pós-infecciosa foi descrita como uma seqüela da infecção por NoVs (MARSHALL et al., 2007), bem como distúrbios gastrointestinais funcionais (dispepsia, constipação) e doença do refluxo gastroesofágico (PORTER et al., 2012). Os NoVs prejudicam a microbiota intestinal em alguns pacientes após infecção, o que pode colocar esses pacientes em maior risco de complicações de saúde prolongadas (NELSON et al., 2012).

Observou-se um agrupamento de casos de enterocolite necrotizante em uma unidade de terapia intensiva neonatal, tendo-se confirmado infecção por NoVs em metade dos pacientes afetados (TURCIOS-RUIZ et al., 2008). Também foi relatada colite isquêmica em um paciente adulto (ZENDA; KANEKO; NORIKI, 2010). A infecção por NoV estava associada a convulsões infantis benignas mais comumente do que a infecção por RVs entre crianças chinesas hospitalizadas com GE aguda (CHEN et al., 2009). A associação da infecção por NoV com exacerbações de doença intestinal inflamatória (DII) permanece controversa. Embora um estudo encontrasse uma associação em um grupo de nove crianças com DII (KHAN et al., 2009), um estudo recente não encontrou base para uma associação em uma coorte prospectiva de pacientes com síndrome do intestino irritável (SII) acompanhados durante um ano (MASCLEE et al., 2013). Os NoVs também foram propostos como possíveis desencadeadores infecciosos de doenças dermatológicas (LEISTE et al., 2008).

2.6 Diagnóstico laboratorial

Os NoVs não são cultiváveis, o que tornou o seu diagnóstico não confiável até o desenvolvimento de técnicas de diagnóstico molecular. Embora a reação em cadeia da polimerase por transcrição reversa (RT-PCR) seja atualmente considerado o padrão de excelência (ATMAR et al., 2001), muitos laboratórios clínicos ainda não têm possibilidade de realizar esta técnica e, portanto, ela não está amplamente disponível. Inicialmente, foi utilizada a microscopia eletrônica para identificar NoVs, mas ela tem sensibilidade reduzida (< 25%) comparada à RT-PCR (RICHARDS et al., 2003). Os ensaios enzimáticos imunoabsorventes (ELISA) e os testes imunocromatográficos, apesar dos aprimoramentos na

sensibilidade e na especificidade nos últimos anos, não são um substituto da RT-PCR (KHAMIRIN et al., 2008, KELE et al., 2011). Os novos testes imunocromatográficos e os ensaios ELISA de terceira geração mostraram especificidade muito elevada (> 95%), mas sensibilidade baixa a moderada (60 a 85%) (KIRBY et al., 2010; KELE et al., 2011).

Ainda que úteis na triagem preliminar, as amostras negativas ainda precisariam ser testadas usando RT-PCR. Os testes imunocromatográficos têm a vantagem de serem mais simples e de exigirem menos tempo, tornando-os mais adequados para uso remoto (KHAMIRIN et al., 2008; GEGINAT et al., 2012). A sensibilidade do ensaio por RT-PCR é dependente dos primers usados, com alguns primers sendo capazes de amplificar um arranjo maior de genótipos do NoVs. Entretanto, nenhum conjunto de primers detecta todos os NoVs em virtude de sua ampla diversidade genética. A RT-PCR pode ficar limitada pela presença de inibidores da amplificação, pela extração ineficiente de RNA e pela degradação de RNA de NoV com armazenamento de amostras em condições abaixo das ideais (KOO et al., 2010).

Alguns estudos indicam que a RT-PCR em tempo real pode ser mais sensível para a detecção de NoVs do que a RT-PCR convencional. A PCR em tempo real também pode consumir menos tempo, pois na RT-PCR convencional é frequentemente necessária a confirmação subsequente de genogrupos de NoVs por hibridização com sonda ou sequenciamento de ácidos nucleicos (KAGEYAMA et al., 2003; SCIPIONI et al., 2008).

Em contextos de surtos em que não foi possível realizar a avaliação microbiológica, foram usados os critérios de Kaplan para identificar um surto provável de NoVs (KAPLAN et al., 1982). Estes critérios incluem negatividade de culturas de fezes para patógenos bacterianos, vômitos em pelo menos 50% dos pacientes, um período de incubação de 24 a 48 horas e duração média ou mediana da doença de 12 a 60 horas. A sensibilidade dos critérios de Kaplan para identificar corretamente um surto de gastroenterite por NoVs foi estimado em 70%, com 99% de especificidade (KAPLAN et al., 1982; TURCIOS-RUIZ et al., 2008). Habitualmente são usadas amostras inteiras de fezes para o diagnóstico. A detecção também é possível a partir de vômito, enxágue bucal coletado após o vômito e por swabs retais, embora com menor rendimento de detecção (KIRBY et al., 2010; BRESEE et al., 2012). O momento oportuno da coleta de amostra em relação ao início dos sintomas pode afetar a detecção. Embora existam dados que mostrem menor taxa de detecção em pacientes com maior duração da doença (BRESEE et al., 2012).

2.7 Tratamento

Até o momento, não existe um tratamento específico para a GE por NoVs e a falta de um modelo de cultura celular dificulta o desenvolvimento de agentes antivirais específicos. O tratamento é sintomático e geralmente envolve reidratação oral, antieméticos, analgésicos, agentes antimotilidade e antissecretórios. Em pacientes com desidratação grave, pode ser necessária a reposição de líquidos e eletrólitos por via intravenosa.

A ribavirina e interferons inibem a replicação viral em um sistema de replicon viral de Norwalk, mas não há dados clínicos disponíveis para avaliar a sua utilidade na infecção ativa (CHANG et al., 2007). A imunoglobulina também foi proposta como um tratamento (administrada por via oral ou intravenosa), mas há apenas informações limitadas provenientes de relatos sugerindo um efeito benéfico potencial dessa terapia (FLORESCU et al., 2008; GLASS et al. 2009).

2.8 Prevenção

Os métodos preventivos disponíveis para a infecção por NoVs incluem higiene adequada das mãos, descontaminação ambiental e concessão de licença a manuseadores de alimentos e profissionais da saúde sintomáticos durante o período de doença e por até 2 a 3 dias após a resolução dos sintomas (PARASHAR et al., 2001; HARRIS et al., 2010). O desenvolvimento de uma vacina poderia provar ser extremamente benéfico no controle da infecção por NoVs, sobretudo em grupos de alto risco, incluindo bebês, idosos, manuseadores de alimentos, pessoal militar, viajantes e profissionais da saúde. As partículas semelhantes ao vírus (VLPs) do NoV estão sendo atualmente avaliadas como um candidato a vacina. Estudos pré-clínicos mostraram que as VLPs são imunogênicas quando administradas por via oral, intranasal ou parenteral (ESTES et al., 2000; LOBUE et al., 2006) e estudos clínicos mostraram que as VLPs são seguras e imunogênicas quando administradas às pessoas por via oral (BALL et al., 1999; TACKET et al. 2003) ou intranasal (EL-KAMARY et al., 2010), suscitando respostas de anticorpos séricos mensuráveis.

A falta de um correlato imunológico de proteção contra a doença, a duração de curto prazo da imunidade após um episódio da doença (menos de 2 a 3 anos) e a diversidade genética e antigênica dos NoVs são exemplos de barreiras que existem ainda para o

desenvolvimento de uma vacina eficaz. Os estudos de eficácia em campo abordarão muitas dessas questões, incluindo a duração da imunidade induzida pela vacina, o impacto da diversidade antigênica e da deriva antigênica do NoVs na proteção, e a importância de fatores relacionados ao hospedeiro nas respostas imunológicas (ATMAR et al., 2011).

2.9 RNAemia/viremia

A viremia por RVs em crianças com GE aguda está bem documentada e publicada (BLUTT et al., 2003; HEMMING et al., 2014). No entanto, poucos estudos investigaram a presença do RNA de NoVs no soro de crianças infectadas pelo vírus (TAKANASHI et al., 2009; MEDICI et al., 2010; FUMIAN et al., 2013).

No Japão, foi detectado a presença de NoVs no soro de 39 crianças com quadro de gastroenterite cujas fezes apresentaram resultado positivo para este vírus (TAKANASHI et al., 2009). Foi encontrado RNA de NoVs no soro de 11 crianças infectadas pelo vírus, indicando RNAemia e sugerindo viremia (HUHTI; HEMMING-HARLO; VESIKARI, 2016). Consistente com análises de outros estudos (TAKANASHI et al., 2009; FUMIAN et al., 2013). Também foi detectado genótipos de NoVs em amostras de soro, confirmando que o RNA no soro não se limita a genótipos específicos de NoVs (HUHTI, HEMMING-HARLO E VESIKARI, 2016). As cepas de NoVs amplificado de fezes e soros das mesmas crianças eram idênticos, como também mostrado por outros (TAKANASHI et al., 2009; FUMIAN et al., 2013).

No Brasil, até o momento, apenas dois estudos relataram a ocorrência de antigenemia de NoVs (presença de antígenos virais no sangue) ou RNAemia de NoVs. O primeiro, inclui os resultados iniciais de sete meses obtidos durante o início do estudo (FUMIAN et al., 2013), e o segundo incluiu pacientes transplantados de células-tronco alogênicas (ASCT) de Goiás, região onde ocorre a excreção prolongada de NoVs e RNA de longa duração, no sangue foram detectados em seis dos dez pacientes que foram acompanhados durante um ano (LEMES et al., 2014).

O presente estudo apresentado é pioneiro na região Norte do Brasil. Outros estudos sobre detecção do NoVs no soro devem ser conduzidos para compreensão mais clara da patogênese dos NoVs em pacientes acometidos por essa infecção, objetivando inclusive alcançar futura vacina contra este agente viral.

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 Desenho do estudo:

Trata-se de um estudo descritivo, transversal, de caráter prospectivo e observacional, de base hospitalar, conduzido em um hospital infantil em Belém.

3.2 Casuística

3.2.1 População do estudo: Crianças nascidas depois de 6 de março de 2006 (data da introdução da vacina contra rotavírus no calendário oficial de imunizações do Brasil), com pelo menos 12 semanas de idade, e hospitalizados em virtude de GE durante o período designado da pesquisa.

3.2.2 Critérios de inclusão e de exclusão

3.2.2.1. Critérios de inclusão

- Criança admitida no hospital pertencente ao estudo devido à GE.
- Criança do sexo masculino ou feminino nascida depois de 6 de março de 2006 e com pelo menos 12 semanas de idade.
- Amostra de fezes e/ou sangue (soro/plasma); coletadas dentro de 48 horas após a admissão no hospital.

3.2.2.2 Critérios de exclusão

- Criança que participou anteriormente deste estudo.
- Criança que não tenha coletado qualquer material (fezes ou sangue) para pesquisa de rotavírus e outros vírus entéricos.

3.2.3 Duração do estudo: A pesquisa foi realizada no período de março de 2012 a março de 2013 na Clínica Pediátrica do Pará e de abril de 2013 a junho de 2015 na Clínica Pio XII, devido ao encerramento das atividades da Clínica Pediátrica do Pará.

3.2.4 Plano de recrutamento

Três vezes por semana, duas médicas pediatras e dois graduandos de medicina, estagiários do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) do Instituto Evandro Chagas (IEC), pertencentes ao estudo visitaram o hospital para identificar a internação de pacientes com diagnóstico de GE na faixa etária preconizada nas últimas 24h. Após assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido [(TCLE) Anexo A], foram colhidos entre 1-2 ml de sangue (soro/plasma) para pesquisa de RVs, NoVs e outros vírus entéricos no momento da coleta rotineira do hemograma solicitado pela clínica, além da coleta de fezes. Naqueles pacientes cujas amostras de fezes foram positiva por ELISA para

NoVs, também foi realizada a pesquisa no soro com a técnica de RT-PCR. Nessa ocasião, também foi feito o registro dos dados demográficos do paciente, sintomas apresentados no curso da doença, alimentação, e registro dos dados vacinais [(Ficha clínica) Anexo B]. Considerou-se um caso de GE a ocorrência de diarreia (passagem de três ou mais evacuações de consistência mais amolecida que o normal dentro de 24 horas), com ou sem vômitos, o qual necessitou de hospitalização (pelo menos durante uma noite) com terapia de reidratação equivalente ao plano B ou C da OMS (oral ou venosa, respectivamente). A presente pesquisa refere-se somente a investigação do NoVs.

3.3 Procedimentos e Técnicas

Ensaio imunoenzimático (ELISA): A triagem de NoV em amostras fecais foi realizada utilizando o kit EIA RIDASCREEN[®] Norovirus 3rd Geração (R-Biopharm), que detecta antígenos virais dos genótipos GI e GII, de acordo com as diretrizes do fabricante.

Extração de ácido nucléico: O ácido nucléico de todas as amostras fecais foi obtido por meio de um método de extração “in-house” com sílica. Todos os soros foram extraídos usando um kit comercial (QIAamp[®] Viral RNA mini kit, Qiagen, Freigburg, Alemanha), seguindo as instruções do fabricante.

Reação em Cadeia Mediada pela Enzima Polimerase precedida de transcrição reversa (RT-PCR): A quantificação de NoV de todas as amostras de soro e de amostras EIA NoVs positivas foi realizada em um Sistema de PCR em Tempo Real ABI 7500 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) usando primers e sondas, além do sistema de RT-PCR quantitativo de uma só etapa SuperScript III Platinum (Invitrogen, CA, EUA). Usamos uma mistura de reação contendo 5 µl de RNA purificado com concentrações finais de primers e sondas de 600 e 300 nM, respectivamente. Uma diluição em série de 10 vezes de um plasmídeo contendo a junção ORF1 / 2 de NoVs foi usada para gerar curvas padrão para quantificação da carga viral. Quarenta ciclos foram usados na reação e amostras com um limiar de ciclo <40 foram consideradas positivas (Quadro 1).

Quadro 1- Iniciadores utilizados na reação em cadeia mediada pela polimerase ecapsídeo para amplificação do genoma dos norovírus.

Vírus	Iniciadores	Sequência 5'-3'	Região e posição no genoma	Amplicons (pb)
NoV (GI)	Mon 432 (+)	TGG ACI CGY GGI CCY AAY CA	ORF1B (5093-5114)	213
	Mon 434(-)	GAA SCG CAT CCA RCG GAA CAT	ORF1B (5285-5305)	
NoV (GII)	Mon 431 (+)	TGG ACI AGR GGI CCY AAY CA	ORF1B (5093-5114)	213
	Mon 433 (-)	GGA YCT CAT CCA YCT GAA CAT	ORF1B (5285-5305)	
NoV (GI)	Cap A (-)	GGC WGT TCC CAC AGG CTT	ORF2D (6897-6914)	177
	Cap B1(+)	TAT GTT GAC CCT GAT AC	ORF2D (6738-6754)	
	Cap B2 (+)	TAT GTI GAY CCW GAC AC	ORF2D (6738-6754)	
NoV (GII)	Cap C (-)	CCT TYC CAK WTC CCA YGG	ORF2D (6667-6684)	253
	Cap D1 (+)	TGT CTR STC CCC CAG GAA TG	ORF2D (6432-6452)	
	Cap D3 (+)	TGY CTY ITI CCH CAR GAA TGG	ORF2D (6432-6452)	

A análise da gravidade dos casos será realizada através do escore universal denominado de escore de Ruuska & Vesikari (1990), onde apresenta resultados com pontuação de 0 a 20 revelando intensidade de leve (<7), moderada (7-10), grave (≥ 11) e muito grave (≥ 15) aos episódios de GE (Anexo C). No presente estudo, o escore de Ruuska & Vesikari (1990) foi adotado para avaliar a intensidade dos episódios diarréicos em crianças hospitalizadas com infecção por NoVs.

3.4 Plano de análise:

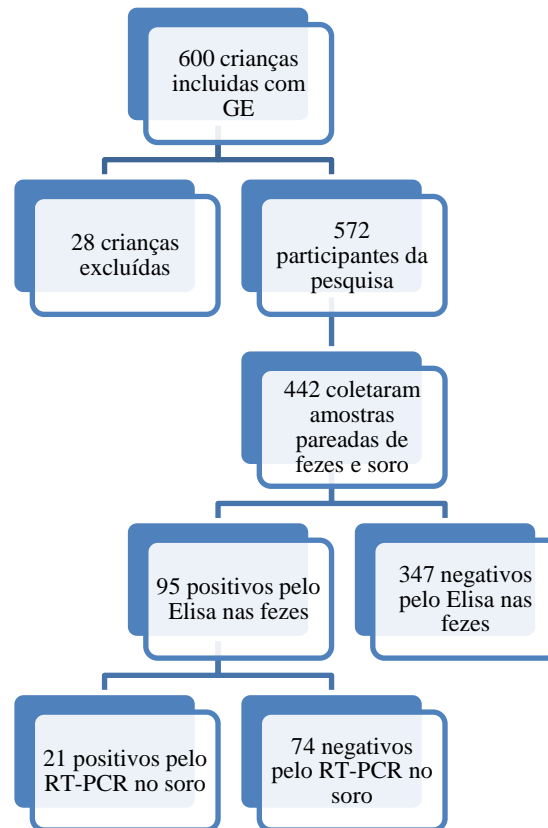
O teste não paramétrico foram aplicado baseado na **amostra**, na **variável** e no **tipo de dado**, o Qui-quadrado de independência foi aplicado em todas as tabelas de dupla entrada, o e o teste não paramétrico Exato de Fisher foi aplicado em tabelas de dupla entrada (cruzamentos), toda vez que o Qui-quadrado ficou inviabilizado perdendo o poder do teste frequências esperadas inferiores a 5. O objetivo dos referidos testes foi verificar se as diferenças são realmente estatisticamente significativas na presente casuística, respeitando-se os pressupostos básicos na aplicação.. Utilizou-se como nível de significância alfa igual a 5% para rejeição da hipótese de nulidade, assinalando-se com (*) os resultados onde as diferenças foram significativas. Todos os testes foram realizados com o suporte do software Bioestat versão 5.3.

3.5 Aprovação ética: O estudo foi aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Evandro Chagas/SVS/MS sob parecer de aprovação número 0001/2012 (APÊNDICE nº I).

4. RESULTADOS

No período de março de 2012 a junho de 2015 foram triados 3.740 pacientes na faixa etária preconizada pelo estudo em duas clínicas infantis em Belém (Clínica Pio XII e Clínica Pediátrica do Pará). Foram incluídos 600 crianças com GE, sendo excluídos 28 participantes [diarréia crônica (6); diarréia nosocomial (3); coleta de fezes >48h (3); TCLE não assinado pelo responsável (4); mãe menor de idade (3); coletado sangue anterior (2); ausência de coleta de fezes e soro (1); já era participante (3); sem diarréia (1); paciente fora da faixa etária (1); NA (1)] restando efetivamente 572 pacientes com idade entre 3 meses e 8 anos (média de 1,8 anos) como demonstrado na figura 1.

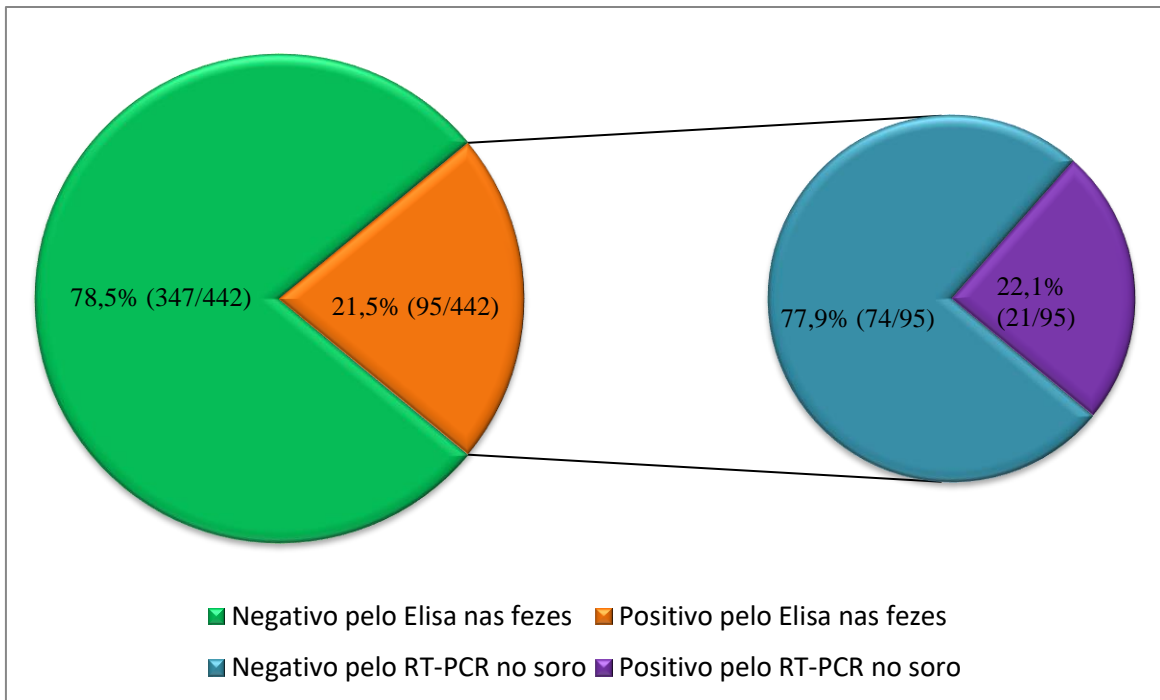
Figura 1: Sequência numérica de todos os participantes da pesquisa.



Fonte: Pesquisa dos autores

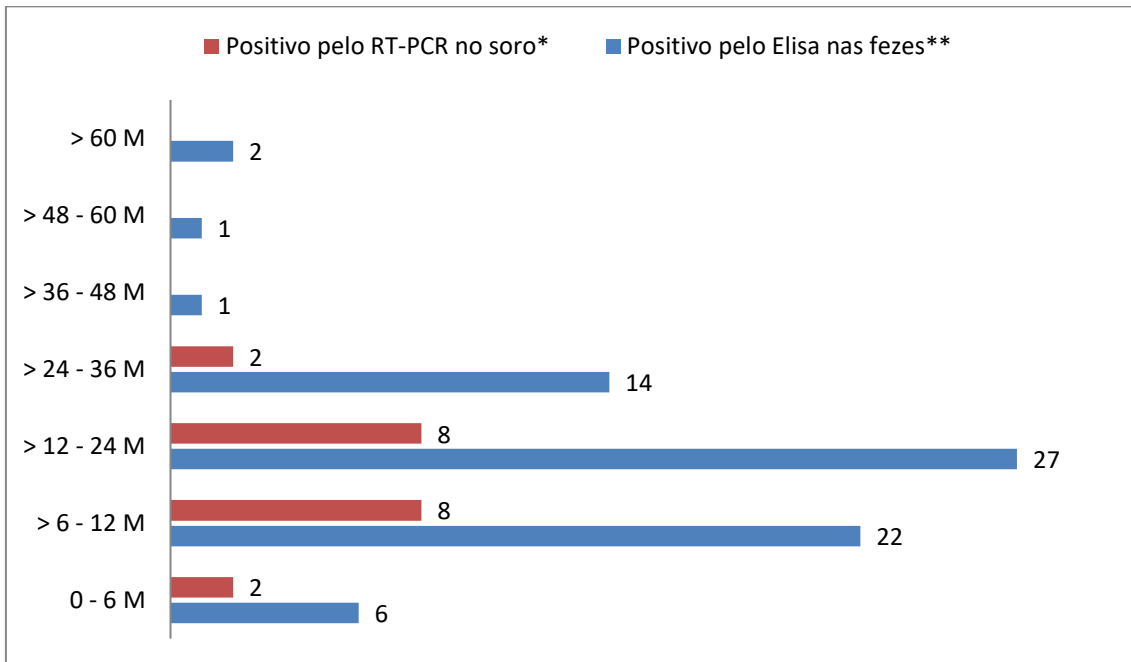
Dos 572 pacientes, 442 coletaram amostras pareadas de fezes e soro, sendo a pesquisa pelo método Elisa para NoVs positiva nas fezes em 21,5% (95/442) dos participantes da pesquisa. Nesses pacientes, cuja a pesquisa de NoVs em amostras de fezes revelou-se positiva, foi realizado RT-PCR no soro, tendo sido detectada a presença de RNA de NoVs (RNAemia) em 21 participantes (22,1%), como demonstrado na Figura 2.

Figura 2: Diagnóstico de infecção de NoVs pelo Elisa nas fezes e pelo RT-PCR no soro.



Fonte: Pesquisa dos autores

A GE relacionada ao norovírus foi observada principalmente em lactentes de 0 a 36 meses de idade (Figura 3). A RNAemia foi detectado em soros de pacientes com idade entre 0 e 36 meses, com a maior proporção entre crianças com idade entre 6 e 24 meses, obtendo uma média de 13,5 meses. Observou-se relação inversamente proporcional entre a idade dos pacientes e a detecção de NoVs nas fezes, sendo mais freqüente entre crianças abaixo de 3 anos. Fato também observado em relação a detecção de NoVs no soro (paciente com RNAemia).

Figura 3: Distribuição por faixa etária de pacientes norovírus positivos em amostras de soro / fezes

Fonte: Pesquisa dos autores

* Data de nascimento não disponível para um paciente com RNAemia.

**Um paciente foi excluído após várias tentativas de recuperação do prontuário sem sucesso.

Para a análise do quadro clínico apresentado pelos participantes da pesquisa, optou-se por dividir os pacientes em dois grupos: pacientes com RNAemia e sem RNAemia.

Quanto à presença de vômitos, observou-se que a maioria 71,4% (15/21) dos pacientes com RNAemia apresentou > de 5 episódios/dia, tendo sido observado diferença estatisticamente significativa ao relação ao grupo sem RNAemia. Quanto a duração dos episódios de vômito (dias) não se observou diferença estatística entre os grupo (Tabela 1).

Tabela 1: Duração e número de episódios de vômitos nos pacientes com RNAemia e sem RNAemia.

DADOS CLÍNICOS	RNAemia		Valor P
	Com RNAemia (%)	Sem RNAemia(%)	
Duração de vômitos (dia)			
Até 3	17(80,1)	58(78,4) +	0,6201
Mais de 3	4(19,5)	14(18,9)	
Nº de episódios de vômito por dia			
Até 5	6(18,6)	54(72,9)	*0,0005
Mais de 5	15(71,4)	20(17,1)	

p < 0,05 (Teste Exato de Fisher), Nível de significância $\alpha \leq 0,05$

*p < 0,05 (Teste não paramétrico do Qui-quadrado), Nível de significância $\alpha \leq 0,05$

+ Dados não disponíveis para 2 pacientes

Fonte: Pesquisa dos autores

Em relação a diarreia, notou-se que 42,9% (9/21) dos pacientes com RNAemia apresentavam mais de 5 episódios/dia, não sendo observado diferença estatisticamente significativa ao relação ao grupo sem RNAemia. Tendo sido encontrado esse mesmo achado em relação à duração da diarreia (Tabela 2).

Tabela 2: Duração e o número de episódios de diarreia por dia dos pacientes com RNAemia e sem RNAemia.

DADOS CLÍNICOS	RNAemia		Valor P
	Com RNAemia(%)	Sem RNAemia(%)	
Duração da diarreia (dias)			
Até5	19(90,4)	68(91,8)*	0,6451
Maisde 5	2(9,6)	5(6,7)	
Episódios de diarreia por dia			
Até5	12(57,1)	43(58,1)	0,8640
Maisde 5	9(42,9)	31(41,9)	

$p < 0,05$ (Teste Exato de Fisher), Nível de significância $\alpha \leq 0,05$

$p < 0,05$ (Teste não paramétrico do Qui-quadrado), Nível de significância $\alpha \leq 0,05$

*Não disponível para 1 paciente

Fonte: Pesquisa dos autores.

Ao avaliar a gravidade dos sintomas apresentados de acordo com escore de Ruuska & Vesikari, observou-se que 52,4% (11/21) dos pacientes com RNAemia apresentavam classificação de intensidade muito grave (Tabela 3), enquanto que nos pacientes sem RNAemia esse percentual foi de 29,7% (22/74), sendo observada diferença estatisticamente significativa ($p = 0,0275$) ao comparar-se ambos os grupos.

Tabela 3: Distribuição dos pacientes de acordo com Escore de Ruuska&Vesikari (1990).

DADOS CLÍNICOS	RNAemia		ValorP
	Com RNAemia(%)	Sem RNAemia(%)	
Escore de gravidade clínica			
≥ 11 (grave)	8(38,1) +	50(67,6) #	*0,0275
≥ 15 (muito grave)	11(52,4)	22(29,7)	

* $p < 0,05$ (Teste não paramétrico do Qui-quadrado), Nível de significância $\alpha \leq 0,05$

+ Não disponível para 2 pacientes # Não disponível para 2 pacientes

Fonte: Pesquisa dos autores.

Quanto ao número de leucócitos, foi observado que a maioria dos pacientes 66,7% (14/21) no grupo com RNAemia apresentavam contagem superior a $10.000/\text{mm}^3$, sendo observada diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo sem RNAemia (Tabela 4).

Tabela 4: Contagem de leucócitos em pacientes com RNAemia sem RNAemia.

DADOS CLÍNICOS	RNAemia		Valor P
	Com RNAemia(%)	Sem RNAemia(%)	
Contagem de leucócitos			
≤10.000/mm ³	5(23,8)+	53(71,6)#	*0,0003
>10.000/mm ³	14(66,7)	18(24,3)	

*p < 0,05 (Teste não paramétrico do Qui-quadrado), Nível de significância $\alpha \leq 0,05$

+ Não disponível para 2 pacientes

Não disponível para 3 pacientes

Fonte: Pesquisa dos autores.

Não foi observada diferença estatística quanto ao parâmetro febre (temperatura $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$), entre os grupos com RNAemia e sem RNAemia, sendo detectado em 52,4% e 49,3% dos casos, respectivamente.

Tabela 5: Dados clínicos disponíveis dos pacientes com RNAemia e sem RNAemia em relação a temperatura.

DADOS CLÍNICOS	RNAemia		Valor P
	Com RNAemia (%)	Sem RNAemia(%)	
Temperatura axilar ($^{\circ}\text{C}$)			
< 37,5	8(38,1) ⁺	35(50,7) *	0,6845
$\geq 37,5$	11(52,4)	34(49,3)	

p < 0,05 (Teste não paramétrico do Qui-quadrado), Nível de significância $\alpha \leq 0,05$

+ Não disponível para 2 pacientes

* Não disponível para 5 pacientes

Fonte: Pesquisa dos autores.

No grupo com RNAemia, 66,7% (14/21) dos pacientes permaneceram internados por um período maior ou igual a 5 dias, fato não observado em relação ao grupo sem RNAemia (Tabela 6), sendo detectada diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,0001$).

Tabela 6: Tempo de internação dos pacientes com RNAemia e sem RNAemia.

DADOS CLÍNICOS	RNAemia		Valor P
	Com RNAemia(%)	Sem RNAemia(%)	
Tempo de internação			
Menos de 5	7(33,3)	40(54,1)+	*0,0001
5 ou mais	14(66,7)	26(35,1)	

*p < 0,05 (Teste não paramétrico do Qui-quadrado), Nível de significância $\alpha \leq 0,05$

+ Não disponível para 8 pacientes.

Fonte: Pesquisa dos autores.

5. DISCUSSÃO

Gastroenterite aguda continua sendo uma importante causa de morbidade e mortalidade na infância nos países em desenvolvimento (WALKER et al, 2013). Seguindo a recomendação da Organização Mundial da Saúde (OMS), vários países introduziram as vacinas contra o RVs em imunizações nacionais, programas de erradicação, incluindo a adoção no setor público, levando a uma diminuição de número de casos causados por RVs. Atualmente, o NoVs é reconhecido como o principal agente etiológico viral da gastroenterite aguda em todas as faixas etárias (ZHENG et al, 2010; LOPMAN et al, 2016). O NoVs é responsável por mais de 90% dos surtos de gastroenterite em todo o mundo e por causar um impacto significativo na parcela de episódios esporádicos entre crianças e idosos (PATEL et al, 2009).

Estima-se que a infecção por NoVs esteja associada a 200.000 mortes por ano, principalmente entre crianças pequenas vivendo em países de baixa ou média renda (GRUBER et al, 2017). A infecção em pacientes hospitalizados e imunocomprometidos pode resultar na excreção viral prolongada e complicações clínicas especialmente em pacientes imunossuprimidos (FRANGE et al, 2012; LEMES et al, 2014). Além disso, podem ocorrer manifestações extraintestinais, como convulsão, coagulação intravascular disseminada e enterocolite necrosante em neonatos têm sido descritas, sugerindo disseminação virêmica para órgãos (CDC, 2002; STUART et al, 2010). Existem poucos estudos com foco na RNAemia de NoVs em pacientes com gastroenterite aguda, geralmente com um pequeno número de sujeitos (LEMES et al, 2014; TAKANASHI et al, 2009). No Japão, o NoVs foi detectado nas amostras de soro de seis crianças com amostras de fezes positivas para NoVs concomitantes (TAKANASHI et al, 2009).

No Brasil, a positividade total de NoVs detectado nas fezes em nosso estudo (21,5%) foi semelhante à taxa de (26,9%) de Fu et al (2016), com amostras de crianças com quadro clínico de diarreia, coletadas entre 2010 e 2013. Além disso, em um estudo realizado no Quebec, Canadá (DOLL et al, 2016), após a introdução da vacina contra RVs, amostras fecais foram coletadas entre fevereiro de 2012 e maio de 2014, período semelhante ao nosso estudo, resultando em taxas de positividade por NoVs de 25,5%, também similares às nossas.

Estudos de vigilância em hospitais realizados anteriormente em Porto Velho, Rondônia, no norte do Brasil, entre fevereiro de 2010 e fevereiro de 2012, mostraram uma positividade de apenas 7,8% de NoVs entre crianças menores de seis anos e hospitalizadas (AMARAL et al, 2015). Entretanto, uma maior taxa de positividade de NoVs (35,4%) foi relatado em Belém, Pará, entre 2008 e 2011, também em uma coorte de crianças com menos de cinco anos de idade, hospitalizadas por gastroenterite aguda (SIQUEIRA et al, 2013).

No Brasil, até o momento existem apenas dois estudos que relataram a ocorrência de RNAemia por NoVs. O primeiro, inclui os resultados iniciais obtidos durante o presente estudo (FUMIAN et al, 2013), e o segundo incluiu pacientes transplantados de células-tronco neurais (ASCT) de Goiânia, região centro-oeste do Brasil, onde excreção de RNA por NoVs no sangue foram detectados de forma prolongada em seis de dez pacientes que foram acompanhados durante um ano (LEMES et al, 2014). O presente estudo não é com pacientes imunossuprimidos.

Detectamos RNAemia no soro por NoVs em 22,1% (21/95) das amostras pareadas (soro e fezes) dos pacientes incluídos na pesquisa, uma taxa superior ao observado em pesquisas anteriores nos EUA e no Japão, onde as taxas de RNAemia 6,3% (11/176) e 15,4% (6/39) foram encontrados, respectivamente (TAKANASHI et al, 2009; HUHTI et al, 2016). Além disso, na França, uma maior taxa de RNAemia por NoVs de 25% foi encontrada entre pacientes pediátricos que sofrem de síndromes de imunodeficiência (FRANGE et al, 2012).

Nos últimos 5 anos muitos países têm observado redução nos seus índices de diarreia (38%) e especialmente em relação a diarreia causada por NoVs (67%) após a introdução da vacina contra RVs. Também se observou redução na mortalidade por diarreia em 42% (CRAWFORD et al., 2017).

Nesses países que introduziram a vacina contra RVs, os NoVs passaram a ser o principal patógeno viral detectado em crianças abaixo de 5 anos com GE (RIVEROS E OCHOA., 2015).

Os sintomas de GE causado por NoVs manifestam-se de forma súbita com surgimento de vômitos e/ou diarreia aquosa, além de sintomas, como náusea, dor e/ou cólicas abdominais, anorexia, mal-estar, cefaleia, mialgia e febre de baixa intensidade.

A presença de vômitos se faz mais frequente nas GE por NoVs comparado as outras gastroenterites virais agudas (GRUBER et al, 2017; GUARINO et al, 2014). No presente estudo, os resultados obtidos evidenciaram número de episódios de vômitos por dia foi mais acentuado no grupo de pacientes que apresentava RNAemia causada por NoVs comparado aos pacientes sem RNAemia, sendo detectada diferença estatística entre os dois grupos ($p = 0,0005$).

No trabalho publicado por Wiegering et al (2011), além dos sintomas gastrointestinais foram observados sintomas respiratórios, como dor de garganta, corrimento nasal, espirros e tosse associados ao quadro gastrointestinal foi observado em 27% das crianças infectadas. Além disso, houve um diagnóstico significativo de otite (18-20%) e rinite (40-60%) em pacientes infectados pelo NoVs. No presente estudo não foram apresentados sintomas respiratórios na população.

Em relação ao sintoma de diarreia, não se observou diferença quanto ao número de episódios e de duração dos sintomas em ambos os grupos, fato também observado nos resultados de Fumian et al (2013), no qual a média da duração da diarreia revelou-se de três dias e meio.

A gravidade clínica da gastroenterite causada por NoVs em crianças foi avaliada nos estudos publicados por Junquera et al (2009), Gonzalez-Galan et al (2011) e Rasanen et al (2011), evidenciando que a intensidade da gravidade clínica nas gastroenterites por NoVs é menos acentuada comparada aos episódios ocorridos na diarreia causada por rotavírus em crianças hospitalizadas. Entretanto, no Japão, observou-se maior duração dos episódios de vômito e diarreia em crianças hospitalizadas com infecção por NoVs comparado aos portadores de RVs analisado nas fezes (KAWADA et al, 2012).

Observou-se através da gravidade dos sintomas pelo score de Ruuska & Vesikari, que a maioria dos pacientes com RNAemia apresentavam classificação de intensidade muito grave 52,4% (11/21), sendo muito superior se comparado aqueles pacientes sem RNAemia 29,7% (22/74), sendo novamente detectado diferença estatística entre os dois grupos ($p = 0,0275$). Entretanto, Huhti et al (2016) não encontraram variações clínicas importantes na comparação dos pacientes com e sem RNAemia.

Em relação ao número de leucócitos, o presente estudo detectou alteração na contagem entre os grupos comparados, demonstrando relevância estatística em relação ao grupo sem RNAemia. Não foi encontrado na literatura outros estudos para comparar as alterações com esse achado.

O presente estudo não detectou diferença entre os grupos com RNAemia e sem RNAemia em relação a presença de febre nos pacientes (temperatura $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$). Devido a existência de poucos estudos envolvendo a RNAemia causada por NoVs não detectamos pesquisas relacionadas a diferença da temperatura axilar. Ao investigar o mesmo achado em relação à gastroenterite causada por RVs observou-se também que a antigenemia dos RVs e o sintoma febre dos pacientes não estavam associados (YU et al, 2012).

No que se refere ao tempo de hospitalização, observou-se maior duração de internação dos pacientes com RNAemia quando comparado aos pacientes do grupo sem RNAemia, fato observado também nos estudos de Fumian et al (2013).

O aleitamento materno também foi analisado quanto a infecção por NoVs, quanto a possibilidade de contribuir com a gravidade dos episódios ou com a detecção de RNAemia por NoVs, entretanto, a maioria dos participantes dessa pesquisa esteve em aleitamento materno exclusivo até os 6 meses de idade e manteve aleitamento materno até os dois anos de vida ou mais. Não sendo possível analisar tal aspecto devido à ampla faixa etária dos participantes incluídos na pesquisa, podendo ocasionar viés de memória por parte das mães/responsáveis legais ao se obter tal dado.

O presente estudo é pioneiro no país, especialmente na região Norte ao analisar detecção de RNA de NoVs em soro além das fezes, entretanto, as dificuldades na obtenção de dados clínicos completos envolvendo todos os participantes representou uma limitação para análise de dados. Outro fato limitante foi o número pequeno de amostras positivas no soro, embora também presente já em outros estudos realizados fora do Brasil, não permitiram compreensão total sobre a patogênese dos NoVs.

Apesar disso, a RNAemia causada por NoVs foi detectada em pacientes hospitalizados com GE em Belém e revelou-se importante contribuição acerca das infecções gastrointestinais

causadas por NoVs. Futuros estudos sobre detecção do NoVs no soro abrangendo maior número de pacientes devem ser conduzidos para compreensão mais clara da patogênese dos NoVs, principalmente ao considerar-se a existência de ensaios clínicos fase II (BAEHNER; BOGAERTS; GOODWIN, 2016) para análise de eficácia, segurança e imunogenicidade de uma candidata à vacina contra NoVs, representando mais um desafio na prevenção dessa doença.

6. CONCLUSÃO

A presença de RNAemia ocorre com frequência entre as crianças hospitalizadas com GE causada por NoVs em Belém, Pará.

A presença de RNAemia causada por NoVs foi correlacionada ao maior número de episódios de vômitos ao dia nos pacientes, maior tempo de hospitalização, piora da gravidade pelo Escore de Ruuska & Vesikari, além do aumento na contagem de leucócitos.

A detecção de RNA de NoVs nas fezes foi superior aquela encontrada no soro/plasma.

Não foi possível avaliar a correlação entre aleitamento materno exclusivo e a gravidade do quadro clínico de GE causada por NoVs.

REFERÊNCIAS

AMARAL M.S. et al. The prevalence of norovirus, astrovirus and adenovirus infections among hospitalised children with acute gastroenteritis in Porto Velho, state of Rondonia, western Brazilian Amazon. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.110, n.2, p.21-215, 2015.

ARAGÃO G.C. et al. Molecular characterization of norovirus, sapovirus and astrovirus in children with acute gastroenteritis from Belém, Pará, Brazil. *Rev Pan-Amaz Saude*, v.1, n.1, p.149-158, 2010.

ATMAR R.L, ESTES M.K. Diagnosis of noncultivable gastroenteritis viruses, the human caliciviruses. **Clinical microbiology reviews**, [S. l.], v.14, n.1, p.15-37, Jan. 2001.

ATMAR R.L. et al. Norovirus vaccine against experimental human Norwalk Virus illness. **The New England journal of medicine**, v.365, n.23, p.87-2178, 8 Dec. 2011.

ATMAR R.L. et al. Norwalk virus shedding after experimental human infection. **Emerging infectious diseases**, [S. l.], v.14, n.10, p.7-1553, Oct. 2008.

BAEHNER F; BOGAERTS H; GOODWIN R. Vaccines against norovirus : state of the arttrials in children and adults ,*Clinical Microbiology and Infection*, 2016.

BAERT L. et al. Reported foodborne outbreaks due to noroviruses in Belgium: the link between food and patient investigations in an international context. **Epidemiology and infection**, [S. l.], v.137, n.3, p.25-316, Mar. 2009.

BALL J.M. et al. Recombinant Norwalk virus-like particles given orally to volunteers: phase I study. **Gastroenterology**, [S. l.], v.117, n.1, p.8-40, Jul. 1999.

BATZ M.B. et al. Ranking the disease burden of 14 pathogens in food sources in the United States using attribution data from outbreak investigations and expert elicitation. **Journal of food protection**, [S. l.], v.75, n.7, p.91-1278, Jul. 2012.

BLUTT S.E. et al. Rotavirus antigenaemia and viraemia: a common event. **Lancet**, [S. l.], v.362, p.1445-1449, 2003.

BRESEE J.S. et al. The etiology of severe acute gastroenteritis among adults visiting emergency departments in the United States. **The Journal of infectious diseases**, [S. l.], v.205, n.9, p.81-1374, 1 May 2012.

BRUGGINK L.D, MARSHALL J.A. Norovirus epidemics are linked to two distinct sets of controlling factors. **International journal of infectious diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases**, [S. l.], v.13, n.3, p.6-125, May. 2009.

BRUGGINK L.D; MARSHALL J.A. The incidence of norovirus-associated gastroenteritis outbreaks in Victoria, Australia (2002-2007) and their relationship with rainfall. **International journal of environmental research and public health**, [S. l.], v.7, n.7, p.7-2822, Jul. 2010.

BUCARDO F. et al. Genetic susceptibility to symptomatic norovirus infection in Nicaragua. **Journal of medical virology**, [S. l.], v.81, n.4, p.35-728, Apr. 2009.

BUCARDO F. et al. Pediatric norovirus diarrhea in Nicaragua. **Journal of clinical microbiology**, [S. l.], v.46, n.8, p.80-2573, Aug. 2008.

BULL R.A. et al. Emergence of a new norovirus genotype II.4 variant associated with global outbreaks of gastroenteritis. **Journal of clinical microbiology**, [S. l.], v.44, n.2, p.33-327, Feb. 2006.

CANNON J.L. et al. Herd immunity to GII.4 noroviruses is supported by outbreak patient sera. **Journal of virology**, [S. l.], v.83, n.11, p.74-5363, Jun. 2009.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Outbreak of acute gastroenteritis associated with Norwalk-like viruses among British military personnel, Afghanistan. **Morb Mortal Wkly Rep**. v.51, p.9-477, 2002.

CHANG K.O; GEORGE D.W. Interferons and ribavirin effectively inhibit Norwalk virus replication in replicon-bearing cells. **Journal of virology**, [S. l.], v.81, n.22, p.8-12111, Nov. 2007.

CHEN S.Y. et al. Norovirus infection as a cause of diarrhea-associated benign infantile seizures. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v.48, n.7, p.55-849, 1 Apr. 2009.

COLOMBA C. et al. Norovirus and gastroenteritis in hospitalized children, Italy. **Emerging infectious diseases**, [S. l.], v.13, n.9, p.91-1389, Sep. 2007.

CRAWFORD S.E. et al. Rotavirus infection. **Nat Rev Dis Primers**. [S. l.], v.3, Nov. 2017.

DE WIT M.A. et al. Sensor, a population-based cohort study on gastroenteritis in the Netherlands: incidence and etiology. **American journal of epidemiology**, v.154, n.7, p.74-666, 1 Oct. 2001.

DE WIT MA; KOOPMANS MP; VAN DUYNHOVEN Y.T. Risk factors for norovirus, Sapporo-like virus, and group A rotavirus gastroenteritis. **Emerging infectious diseases**, [S. l.], v.9, n.12, p.70-1563, Dec. 2003.

DOLL M.K. et al. Temporal Changes in Pediatric Gastroenteritis after Rotavirus Vaccination in Quebec. **Pediatr Infect Dis J**, [S. l.], v.35, n.5, p.60-555, 2016.

EL-KAMARY S.S. et al. Adjuvanted intranasal Norwalk virus-like particle vaccine elicits antibodies and antibody-secreting cells that express homing receptors for mucosal and peripheral lymphoid tissues. **The Journal of infectious diseases**, [S. l.], v.202, n.11, p.58-1649, 1 Dec. 2010.

ESTES M.K. et al. Norwalk virus vaccines: challenges and progress. **The Journal of infectious diseases**, [S. l.], v.181, n.2, p.73-367, May. 2000.

EVANS M.R. et al. An outbreak of viral gastroenteritis following environmental contamination at a concert hall. **Epidemiology and infection**, [S. l.], v.129, n.2, p.60-355, Oct. 2002.

FLINT J.A .et al. Estimating the burden of acute gastroenteritis, foodborne disease, and pathogens commonly transmitted by food: an international review. **Clinical infectious diseases**: an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 41. United States, p.698-704, 2005.

FLORESCU D.F. et al. Two cases of Norwalk virus enteritis following small bowel transplantation treated with oral human serum immunoglobulin. **Pediatric transplantation**, [S. l.], v.12, n.3, p.5-372, May. 2008.

FRANGE P. et al. Prevalence and clinical impact of norovirus fecal shedding in children with inherited immune deficiencies. **J Infect Dis**, [S. l.], v.206, n.8, p.74-1269, 2012.

FRENCK R. et al. Predicting susceptibility to norovirus GII.4 by use of a challenge model involving humans. **The Journal of infectious diseases**, [S. l.], v.206, n.9, p.93-1386, Nov. 2012.

FRIESEMA I.H. et al. Etiology of acute gastroenteritis in children requiring hospitalization in the Netherlands. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases**: official publication of the European Society of Clinical Microbiology, [S. l.], v.31, n.4, p.15-405, Apr. 2012.

FU J.G. et al. Molecular epidemiology of genogroup II norovirus infection among hospitalized children with acute gastroenteritis in Suzhou (Jiangsu, China) from 2010 to 2013. **J Med Virol**, [S. l.], v.88, n.6, p.60-954, 2016.

FUMIAN T.M. et al. Quantitative and molecular analysis of noroviruses RNA in blood from children hospitalized for acute gastroenteritis in Belem, Brazil, **J. Clin. Virol**, v.58, p. 31–35, 2013.

GALLIMORE C.I. et al. Asymptomatic and symptomatic excretion of noroviruses during a hospital outbreak of gastroenteritis. **Journal of clinical microbiology**, [S. l.], v.42, n.5, p.4-2271, May. 2004.

EGINAT G; KAISER D; SCHREMPF S. Evaluation of third-generation ELISA and a rapid immunochromatographic assay for the detection of norovirus infection in fecal samples from inpatients of a German tertiary care hospital. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases**: official publication of the European Society of Clinical Microbiology, [S. l.], v.31, n.5, p.7-733, May. 2012.

GLASS R.I; PARASHAR U.D; ESTES M.K. Norovirus gastroenteritis. **The New England journal of medicine**, [S. l.], v.361, n.18, p.85-1776, 29 Oct. 2009.

GONZALEZ-GALAN V. et al. High prevalence of community-acquired norovirus gastroenteritis among hospitalized children: a prospective study. **Clinical microbiology and infection**: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, [S. l.], v.17, n.12, p.9-1895, Dec. 2011.

GRAHAM D.Y. et al. Norwalk virus infection of volunteers: new insights based on improved assays. **The Journal of infectious diseases**, [S. l.], v.170, n.1, p.34-43, Jul. 1994.

GRAY J.J. et al. Prevalence of antibodies to Norwalk virus in England: detection by enzyme-linked immunosorbent assay using baculovirus-expressed Norwalk virus capsid antigen. **Journal of clinical microbiology**, [S. l.], v.31, n.4, p.5-1022, Apr. 1993.

GRUBER JF. et al. Risk Factors for Norovirus Gastroenteritis among Nicaraguan Children. **Am. J. Trop. Med. Hyg**, [S. l.], v. 97, n. 3, p. 937-943, Jul. 2017.

GUARINO A. et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/European Society for Pediatric Infectious Diseases Evidence-Based Guidelines for the Management of Acute Gastroenteritis in Children in Europe: Update 2014. **JPGN**, [S. l.], v. 59, n. 1, p. 132-152, Jul. 2014.

- HALL A.J. et al. Epidemiology of foodborne norovirus outbreaks, United States, 2001-2008. **Emerging infectious diseases**, [S. l.], v.18, n.10, p.73-1566, Oct. 2012.
- HALL A.J. et al. Incidence of acute gastroenteritis and role of norovirus, Georgia, USA, 2004-2005. **Emerging infectious diseases**, [S. l.], v.17, n.8, p.8-1381, Aug. 2011.
- HARRIS JP, LOPMAN BA, O'BRIEN SJ. Infection control measures for norovirus: a systematic review of outbreaks in semi-enclosed settings. **The Journal of hospital infection**, [S. l.], v.74, n.1, p.1-9, Jan. 2010.
- HEMMING M. et al. Rotavirus antigenemia in children is associated with more severe clinical manifestations of acute gastroenteritis, **Pediatr. Infect. Dis. J**, [S. l.], v.33, p.366-371, 2014.
- HEMMING M. et al. Major reduction of rotavirus, but not norovirus, gastroenteritis in children seen in hospital after the introduction of RotaTeq vaccine into the National Immunization Programme in Finland. **European journal of pediatrics**, [S. l.], v.172, n.6, p.46-739, 30 Jan. 2013.
- HUANG P. et al. Noroviruses bind to human ABO, Lewis, and secretor histo-blood group antigens: identification of 4 distinct strain-specific patterns. **The Journal of infectious diseases**, [S. l.], v.188, n.1, p.19-31, 1 Jul. 2003.
- HUANG P. et al. Norovirus and histoblood group antigens: demonstration of a wide spectrum of strain specificities and classification of two major binding groups among multiple binding patterns. **Journal of virology**, [S. l.], v.79, n.11, p.22-6714, Jun. 2005.
- HUHTI L; HEMMING-HARLO M; VESIKARI T. Norovirus detection from sera of young children with acute norovirus gastroenteritis. **J Clin Virol**, [S. l.], v.79, p.6-9, 2016.
- ITO S. et al. Norovirus-associated encephalopathy. **Pediatr Infec Dis J**, [S. l.], v.25, p.2-651, 2006.
- JANSEN A. et al. Aetiology of community-acquired, acute gastroenteritis in hospitalised adults: a prospective cohort study. **BMC infectious diseases**, [S. l.], v.8, n.143, 2008.

JOHNSON P.C. et al. Multiple-challenge study of host susceptibility to Norwalk gastroenteritis in US adults. **The Journal of infectious diseases**, [S. l.], v.161, n.1, p.18-21, Jan. 1990.

JUNQUERA C.G. et al. Prevalence and clinical characteristics of norovirus gastroenteritis among hospitalized children in Spain. **The Pediatric infectious disease journal**, [S. l.], v.28, n.7, p.7-604, Jul. 2009.

KAGEYAMA T. et al. Broadly reactive and highly sensitive assay for Norwalk-like viruses based on real-time quantitative reverse transcription-PCR. **Journal of clinical microbiology**, [S. l.], v.41, n.4, p.57-1548, Apr. 2003.

KANAI T; YOTSUMOTO S; MOMOI M.Y. Norovirus-associated renal acute renal failure with nephrotic syndrome. **Pediatrics international**: official journal of the Japan Pediatric Society, v.52, n.1, p.5-23, Feb. 2010

KAPLAN J.E. et al. The frequency of a Norwalk-like pattern of illness in outbreaks of acute gastroenteritis. **American journal of public health**, v.72, n.12, p.32-1329, Dec. 1982.

KAPIKIAN A.Z. et al. Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. **J Virol**, [S. l.], v.10, p.81-1075, 1972.

KARSTEN C. et al. Incidence and risk factors for community-acquired acute gastroenteritis in north-west Germany in 2004. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases**: official publication of the European Society of Clinical Microbiology, [S. l.], v.28, n.8, p.43-935, Aug. 2009.

KAWADA J. et al. Clinical characteristics of norovirus gastroenteritis among hospitalized children in Japan. **Microbiology and immunology**, [S. l.], v.56, n.11, p.9-756, Nov. 2012.

KELE B; LENGYEL G; DEAK J. Comparison of an ELISA and two reverse transcription polymerase chain reaction methods for norovirus detection. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, [S. l.], v.70, n.4, p.8-475, Aug. 2011.

KHAMRIN P. et al. Evaluation of immunochromatography and commercial enzyme-linked immunosorbent assay for rapid detection of norovirus antigen in stool samples. **Journal of virological methods**, [S. l.], v.147, n.2, p.3-360, Feb. 2008.

KHAN R.R. et al. Gastrointestinal norovirus infection associated with exacerbation of inflammatory bowel disease. **Journal of pediatric gastroenterology and nutrition**, [S. l.], v.48, n.3, p.33-328, Mar. 2009.

KIRBY A. et al. An evaluation of the RIDASCREEN and IDEIA enzyme immunoassays and the RIDAQUICK immunochromatographic test for the detection of norovirus in faecal specimens. **Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology**, [S. l.], v.49, n.4, p.7-254, Dec. 2010.

KIRBY A. et al. Detection of norovirus in mouthwash samples from patients with acute gastroenteritis. **Journal of clinical virology the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology**, [S. l.], v.48, n.4, p.7-285, 2010.

KOO H.L. et al. Noroviruses: The leading cause of gastroenteritis worldwide. **Discovery medicine**, [S. l.], v.10, n.50, p.61-70, Jul. 2010.

LARSSON M.M. et al. Antibody prevalence and titer to norovirus (genogroup II) correlate with secretor (FUT2) but not with ABO phenotype or Lewis (FUT3) genotype. **The Journal of infectious diseases**, [S. l.], v.194, n.10, p.7-1422, 15 Nov. 2006.

LEISTE A. et al. Urticaria associated with Norovirus infection: report of two cases. **Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology : JDDG**, [S. l.], v.6, n.7, p.5-563, Jul. 2008.

- LEMES L.G. et al. Prospective study on Norovirus infection among allogeneic stem cell transplant recipients: prolonged viral excretion and viral RNA in the blood. **J Clin Virol**, [S. l.], v.61, n.3, p.33-329, 2014.
- LEVINE M.M; ROBINS-BROWNE R.M. Factors that explain excretion of enteric pathogens by persons without diarrhea. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v.55, n.4, p.11-303, Dec. 2012.
- LINDESMITH L. et al. Human susceptibility and resistance to Norwalk virus infection. **Nature medicine**, [S. l.], v.9, n.5, p.53-548, May. 2003.
- LINDESMITH L.C. et al. Mechanisms of GII.4 norovirus persistence in human populations. **PLoS medicine**, [S. l.], v.5, n.2, Feb. 2008.
- LOBUE A.D. et al. Multivalent norovirus vaccines induce strong mucosal and systemic blocking antibodies against multiple strains. **Vaccine**, [S. l.], v.24, n.24, p.34-5220, 12 Jun. 2006.
- LOPMAN B.A. et al. The Vast and Varied Global Burden of Norovirus: Prospects for Prevention and Control. **PLoS Med**, [S. l.], v.13, n.4, 2016.
- LOPMAN B. et al. Environmental transmission of norovirus gastroenteritis. **Current opinion in virology**, [S. l.], v.2, n.1, p.96-102, Feb. 2012.
- LOPMAN B.A. et al. Two epidemiologic patterns of norovirus outbreaks: surveillance in England and wales, 1992-2000. **Emerging infectious diseases**, [S. l.], v.9, n.1, p.7-71, Jan. 2003.
- LOPMAN B. et al. Host, weather and virological factors drive norovirus epidemiology: time-series analysis of laboratory surveillance data in England and Wales. **PloS one**, [S. l.], v.4, n.8, 2009.
- MARKS P.J. et al. Evidence for airborne transmission of Norwalk-like virus (NLV) in a hotel restaurant. **Epidemiology and infection**, [S. l.], v.124, n.3, p.7-481, Jun. 2000.

MARSHALL J.A; BRUGGINK L.D. The dynamics of norovirus outbreak epidemics: recent insights. **International journal of environmental research and public health**, [S. l.], v.8, n.4, p.9-1141, Apr. 2011.

MARSHALL J.A; DIMITRIADIS A; WRIGHT P.J. Molecular and epidemiological features of norovirus-associated gastroenteritis outbreaks in Victoria, Australia in 2001. **Journal of medical virology**, [S. l.], v.75, n.2, p.31-321, Feb. 2005.

MARSHALL J.K. et al. Postinfectious irritable bowel syndrome after a food-borne outbreak of acute gastroenteritis attributed to a viral pathogen. **Clinical gastroenterology and hepatology**: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association, v.5, n.4, p.60-457, Apr. 2007.

MASCLEE G.M. et al. Enteropathogenic Viruses: Triggers for Exacerbation in IBD? A Prospective Cohort Study Using Real-time Quantitative Polymerase Chain Reaction. **Inflammatory bowel diseases**, [S. l.], v.19, n.1, p.31-124, Jan. 2013.

MATTNER F. et al. Risk groups for clinical complications of norovirus infections: an outbreak investigation. **Clinical microbiology and infection**: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, [S. l.], v.12, n.1, p.69-74, Jan. 2006.

MAYO M.A. A summary of taxonomic changes recently approved by ICTV. **Archives of virology**, [S. l.], v.147, n.8, p.63-1655, Aug. 2002.

MEDICI M.C. et al, Norovirus RNA in the blood of a child with gastroenteritis and convulsions—a case report, **J. Clin. Virol**, [S. l.], v.48, p.147-149, 2010.

MORILLO S.G; TIMENETSKY M.C.S.T. Norovirus: uma visão geral. **Rev Assoc Med Bras**, São paulo, SP, n. 57(4), p. 462-467, 1 maio 2011.

NAKAMURA L. et al. Molecular characterization of calicivirus in feces of children with acute diarrhea, attending a public hospital, in Belém-Pará. In: XVII NATIONAL MEETING OF VIROLOGY. **Publicado em anais**. Campos do Jordão, 2006.

NELSON A.M. et al. Disruption of the Human Gut Microbiota following Norovirus Infection. **PloS one**, [S. l.], v.7, n.10, 2012.

OKABAYASHI T. et al. Occurrence of norovirus infections unrelated to norovirus outbreaks in an asymptomatic food handler population. **Journal of clinical microbiology**, [S. l.], v.46, n.6, p.8-1985, Jun. 2008.

O'RYAN M.L. et al. Symptomatic and asymptomatic rotavirus and norovirus infections during infancy in a Chilean birth cohort. **The Pediatric infectious disease journal**, [S. l.], v.28, n.10, p.84-879, Oct. 2009.

O'RYAN M.L. et al. Seroprevalence of Norwalk virus and Mexico virus in Chilean individuals: assessment of independent risk factors for antibody acquisition. **Clinical infectious diseases**: an official publication of the Infectious Diseases Society of America, v.27, n.4, p.95-789, Oct. 1998.

OTTER J.A; YEZLI S; FRENCH G.L. The role played by contaminated surfaces in the transmission of nosocomial pathogens. **Infection control and hospital epidemiology**: the official journal of the Society of Hospital Epidemiologists of America, v.32, n.7, p.99-687, Jul. 2011.

PARASHAR U. et al. "Norwalk-like viruses". Public health consequences and outbreak management. **MMWR Recommendations and reports**: Morbidity and mortality weekly report Recommendations and reports / Centers for Disease Control, [S. l.], v.50, n.9, p.1-17, 1 Jun. 2001.

PARRINO T.A. et al. Clinical immunity in acute gastroenteritis caused by Norwalk agent. **The New England journal of medicine**, v.297, n.2, p.9-86, Jul. 1977.

PATEL M.M. et al. Noroviruses: a comprehensive review. **Journal of clinical virology**: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology, [S. l.], v.44, n.1, p.1-8, Jan. 2009.

PATEL M.M. et al . Systematic literature review of role of noroviruses in sporadic gastroenteritis. **Emerg Infect Dis**, [S. l.], n. 8, p.1224-1231, 2008.

PAYNE D.C. et al. Norovirus and Medically Attended Gastroenteritis in U.S. Children. **The New England journal of medicine**, v.368, n.12, p.30-1121, 21 Mar. 2013.

PAWA N; VANEZIS A.P; TUTTON M.G. Spontaneous bowel perforation due to norovirus: a case report. **Cases journal**, [S. l.], v.2, 2009.

PHILLIPS G. et al. Prevalence and characteristics of asymptomatic norovirus infection in the community in England. **Epidemiology and infection**, [S. l.], v.138, n. 10, p.8-1454, Oct. 2010.

PHILLIPS G. et al. Risk factors for symptomatic and asymptomatic norovirus infection in the community. **Epidemiology and infection**, [S. l.], v.139, n. 11, p.86-1676, Nov. 2011.

PODKOLZIN A.T. et al. Hospital-based surveillance of rotavirus and other viral agents of diarrhea in children and adults in Russia, 2005-2007. **The Journal of infectious diseases**, [S. l.], v.200, n. 1, p.33-228, 1 Nov. 2009.

PORTER C.K. et al. Postinfectious gastrointestinal disorders following norovirus outbreaks. **Clinical infectious diseases**: an official publication of the Infectious Diseases Society of America, [S. l.], v.55, n. 7, p.22-915, Oct. 2012.

RAMIREZ K. et al. Intranasal vaccination with an adjuvanted Norwalk virus-like particle vaccine elicits antigen-specific B memory responses in human adult volunteers. **Clinical immunology**, Orlando, Fla, v.144, n. 2, p.98-108, Aug. 2012.

RASANEN S. et al. Noroviruses in children seen in a hospital for acute gastroenteritis in Finland. **European journal of pediatrics**, [S. l.], v. 170, n. 11, p.8-1413, Nov. 2011.

RICHARDS A.F. et al. Evaluation of a commercial ELISA for detecting Norwalk-like virus antigen in faeces. **Journal of clinical virology**: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology, [S. l.], v. 26, n.1, p.15-109, Jan. 2003.

RIVEROS M; OCHOA T.J. Enteropatógenos de importancia en salud pública. **Rev Peru Med Exp Salud Publica**, v. 32, n.1, p.64-157, 2015.

ROCKX B.H. et al. Association of histo-blood group antigens and susceptibility to norovirus infections. **The Journal of infectious diseases**, [S. l.], v. 191, n.5, p.54-749, 1 Mar. 2005.

ROHAYEM J. Norovirus seasonality and the potential impact of climate change. **Clinical microbiology and infection** : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, [S. l.], v. 15, n.6, p.7-524, Jun. 2009.

RUUSKA T; VESIKARI T. Rotavirus disease in Finnish children: use of numerical scores for clinical diarrhoeal episodes. **Scand J Infect Dis**, v. 22, p. 259-257, 1990.

SAWYER L.A. et al. 25- to 30-nm virus particle associated with a hospital outbreak of acute gastroenteritis with evidence for airborne transmission. **American journal of epidemiology**, v. 127, n.6, p.71-1261, Jun. 1988.

SCHUSTER C.J. et al. Infectious disease outbreaks related to drinking water in Canada, 1974-2001. **Canadian journal of public health Revue canadienne de sante publique**, v. 96, n.4, p.8-254, Jul-Aug. 2005.

SCIPIONI A. et al. A SYBR Green RT-PCR assay in single tube to detect human and bovine noroviruses and control for inhibition. **Virology journal**, [S. l.], v. 5, n.94, 2008.

SHINKAWA N. et al. Molecular epidemiology of noroviruses detected in food handler-associated outbreaks of gastroenteritis in Japan. **Intervirology**, [S. l.], v. 51, n.6, p.6-422, 2008.

SIEBENGA J.J. et al. High prevalence of prolonged norovirus shedding and illness among hospitalized patients: a model for in vivo molecular evolution. **The Journal of infectious diseases**, [S. l.], v. 198, n.7, p.994-1001, 1 Oct. 2008.

SIEBENGA J.J. et al. Phylodynamic reconstruction reveals norovirus GII.4 epidemic expansions and their molecular determinants. **PLoS pathogens**, [S. l.], v. 6, n.5, 6 May.2010

SIEBENGA J.J. et al. Epochal evolution of GGII.4 norovirus capsid proteins from 1995 to 2006. **Journal of virology**, [S. l.], v. 81, n.18, p.41-9932, Sep. 2007.

SIEBENGA J.J. et al. Norovirus illness is a global problem: emergence and spread of norovirus GII.4 variants, 2001-2007. **The Journal of infectious diseases**, [S. l.], v. 200, n.5, p.12-802, 1 Sep. 2009.

SILVA P. et al. Detecção de calicivírus em fezes de crianças com e sem diarreia atendidas em um hospital público de Belém, Pará, Brasil. In: XIII CONGRESSO MÉDICO AMAZÔNICO. **Publicado em anais**. Belém. 2006.

SIQUEIRA J. Norovirus as Cause of Severe Gastroenteritis Among Children Admitted in a Pediatric Hospital in Belém, Pará, Brazil. In: XXI ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA. **Publicado em anais**. Gramado. 2010

SIQUEIRA J.A. et al. Group A rotavirus and norovirus display sharply distinct seasonal profiles in Belem, northern Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 108, n.5, p.4-661, 2013.

STUART R.L. et al. An outbreak of necrotizing enterocolitis associated with norovirus genotype GII.3. **Pediatr Infect Dis J**, [S. l.], v. 29, n.7, p.7-644, 2010.

SUKHRIE F.H. et al. Chronic shedders as reservoir for nosocomial transmission of norovirus. **Journal of clinical microbiology**, [S. l.], v. 48, n.11, p.5-4303, Nov. 2010.

SUKHRIE F.H. et al. Nosocomial transmission of norovirus is mainly caused by symptomatic cases. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 54, n.7, p.7-931, Apr. 2012.

TACKET C.O. et al. Humoral, mucosal, and cellular immune responses to oral Norwalk virus-like particles in volunteers. **Clinical immunology**, Orlando, Fla, v. 108, n.3, p.7-241, Sep. 2003.

TAKANASHI S. et al. Detection, genetic characterization, and quantification of norovirus RNA from sera of children with gastroenteritis. **J Clin Virol**, [S. l.], v. 44, n.2, p.3-161, Feb. 2009.

TAM C.C. et al. Changes in causes of acute gastroenteritis in the United Kingdom over 15 years: microbiologic findings from 2 prospective, population-based studies of infectious intestinal disease. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 54, n.9, p.86-1275, May. 2012.

TAN M; JIANG X. Norovirus and its histo-blood group antigen receptors: an answer to a historical puzzle. **Trends in microbiology**, [S. l.], v. 13, n.6, p.93-285, Jun. 2005.

THORNLEY C.N. et al. Recurring norovirus transmission on an airplane. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 53, n.6, p.20-515, Sep. 2011.

THORNLEY C.N. et al. Multiple outbreaks of a novel norovirus GII.4 linked to an infected post-symptomatic food handler. **Epidemiology and infection**, [S. l.], v. 141, n.8, p.97-1585, 6 Feb. 2013.

THORVEN M. et al. A homozygous nonsense mutation (428G-->A) in the human secretor (FUT2) gene provides resistance to symptomatic norovirus (GGII) infections. **Journal of virology**, [S. l.], v. 79, n.24, p.5-15351, Dec. 2005.

TRAN A. et al. Prevalence of rotavirus, adenovirus, norovirus, and astrovirus infections and coinfections among hospitalized children in northern France. **Journal of clinical microbiology**, [S. l.], v. 48, n.5, p.6-1943, May. 2010.

TURCIOS-RUIZ R.M. et al. Outbreak of necrotizing enterocolitis caused by norovirus in a neonatal intensive care unit. **The Journal of pediatrics**, [S. l.], v. 153, n.3, p.44-339, Sep. 2008.

UEDA M. et al. Small round structured virus –SRVS, genogroup G2 in Baixada Santista (SP) – virus identification by IEM. In: ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA. **Publicado em anais**. São Lorenço. 1996.

WALKER C.L. et al. Global burden of childhood pneumonia and diarrhoea. **Lancet**, [S. l.], v. 381, n.9875, p. 16-1405; 2013.

WIEGERING V. et al. Gastroenteritis in childhood: a retrospective study of 650 hospitalized pediatric patients. International journal of infectious diseases. **IJID**: official publication of the International Society for Infectious Diseases, [S. l.], v. 15, n.6, p. 7-401, Jun. 2011.

WYATT R.G. et al. Comparison of three agents of acute infectious nonbacterial gastroenteritis by cross-challenge in volunteers. **The Journal of infectious diseases**, [S. l.], v. 129, n.6, p. 14-709, Jun. 1974.

YEN C. et al. Impact of an emergent norovirus variant in 2009 on norovirus outbreak activity in the United States. Clinical infectious diseases. **An official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 53, n.6, p. 568-71, Sep. 2011.

YODER J. et al. Surveillance for waterborne disease and outbreaks associated with drinking water and water not intended for drinking-United States, 2005-2006. **Morbidity and mortality weekly report Surveillance summaries (Washington, DC : 2002)**, v. 57, n.9, p. 39-62, 12 Sep. 2008.

YU J.H. et al. Epidemiology of foodborne Norovirus outbreak in Incheon, Korea. **Journal of Korean medical science**, v. 25, n.8, p. 11-1128, Aug. 2010.

YU J.H. et al. Norovirus infections in asymptomatic food handlers in elementary schools without norovirus outbreaks in some regions of Incheon, Korea. **Journal of Korean medical science**, v. 26, n.6, p. 9-734, Jun. 2011.

YU T. et al. Antigenemia and cytokine expression in rotavirus gastroenteritis in children. **J Microbiol Immunol Infect**, [S. l.], v. 45, n.4, p. 70-265, Ago. 2012.

ZENDA T; KANEKO S; NORIKI S. Norovirus gastroenteritis accompanied by ischemic colitis: a case report. **Hiroshima journal of medical sciences**, v. 59, n. 4, p. 5-83, Dec. 2010.

ZENDA T; MIYAMOTO M; KANEKO S. Norovirus gastroenteritis accompanied by marked elevation of transaminases. **Hiroshima journal of medical sciences**, v. 60, n. 2, p. 3-41, Jun. 2011.

ZHENG DP. et al. Norovirus classification and proposed strain nomenclature. **Virology**, [S. l.], v. 346, n. 2, p. 23-312, 15 mar. 2006.

ZHENG DP. et al. Molecular epidemiology of genogroup II-genotype 4 noroviruses in the United States between 1994 and 2006. **J Clin Microbiol**, [S. l.], v. 48, n. 1, p. 168-177, Jan. 2010.

APÊNDICE nº I



Parecer de Aprovação nº 0001/2012
 Protocolo CEP/IEC - Nº 0039/2011
 CAAE: 0038.0.072.073-11

Ananindeua/PA, 30 de janeiro de 2012.

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM HUMANOS

Projeto: “Análise das manifestações clínicas e antigenemia nas gastroenterites por rotavírus entre crianças hospitalizadas em Belém, Pará, Brasil, no cenário pós-introdução da vacina.”

Pesquisador Responsável: **Maria Cleonice Aguiar Justino**

Conforme decisão do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Evandro Chagas/SVS/MS, cientificamos que o projeto em epígrafe foi considerado **aprovado**. Recomendamos que a coordenação mantenha atualizados todos os documentos pertinentes ao projeto.

Este CEP se incumbirá dos procedimentos de acompanhamento preconizados pela Resolução 196/96 e suas complementares, do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde.

Deverá ser encaminhado relatório semestral e, ao final, elaborado um relatório consolidado, incluindo os resultados finais da pesquisa, em um prazo máximo de 60 (sessenta) dias, após a finalização da pesquisa.

Edvaldo C. B. Loureiro
 Edvaldo Carlos Brito Loureiro
 Coordenador do CEP/IEC

ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

As diarreias agudas representam uma das principais causas de hospitalização entre crianças menores de 5 anos de idade em todo o mundo, sendo os rotavírus os agentes mais associados a esses quadros diarréicos. Os rotavírus são transmitidos principalmente através de água e alimentos contaminados e se reproduzem no intestino dos pacientes doentes provocando sintomas como diarreia, vômitos e febre. O diagnóstico é feito por meio da pesquisa de rotavírus nas fezes, porém recentemente diversos estudos têm demonstrado a presença dos rotavírus também no sangue dos doentes. Este estudo intitulado: “ANÁLISE DAS MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS E ANTIGENEMIA NAS GASTROENTERITES POR ROTAVÍRUS ENTRE CRIANÇAS HOSPITALIZADAS EM BELÉM, PARÁ, BRASIL, NO CENÁRIO PÓS-INTRODUÇÃO DA VACINA” tem como objetivo principal detectar a presença de rotavírus no sangue (soro/plasma) e nas fezes de pacientes hospitalizados devido à diarreia.

O seu filho(a)/tutelado(a) foi hospitalizado com sintomas de gastroenterite (diarreia acompanhada ou não de vômitos e/ou febre) e o médico solicitou uma amostra de fezes para investigar a presença de rotavírus e outros vírus que causam diarreia, assim como também solicitou a coleta de sangue para realização de hemograma. Solicitamos sua autorização para que seja retirado volume adicional de 1-2 ml de sangue no ato da coleta do hemograma, para investigar a presença de rotavírus e outros vírus que causam diarreia, no sangue de seu filho(a)/tutelado(a). Os resultados de todos os exames realizados serão entregues a você e ao médico que os solicitou assim que possível. Um médico do estudo e/ou um aluno do último ano do curso de medicina da Universidade Federal do Pará conversarão com você para obter mais informações sobre o seu filho(a)/tutelado(a) tais como: dados pessoais, alimentação, situação sócio-econômica da família, adoecimentos anteriores e histórico de vacinas realizadas. Sua participação é voluntária e você pode desistir de participar a qualquer momento, não havendo prejuízo ao tratamento de seu filho no hospital. Não há riscos à saúde do seu filho ao participar deste estudo. O material

coletado ficará armazenado no laboratório do Instituto Evandro Chagas e todas as informações obtidas serão confidenciais.

Caso haja alguma dúvida adicional, você pode entrar em contato com a médica responsável pelo estudo (Dra. Maria Cleonice Justino) pelo telefone 3214-2062 ou diretamente no Instituto Evandro Chagas no endereço Av. Almirante Barroso, nº 482, Bairro: Marco (esquina com a Tv.Curuzú), CEP:66095-000, Belém-Pará, telefone: 3214-2046 ou 3214-2007.

Para autorizar a participação de seu filho(a)/tutelado(a) neste estudo basta assinar, rubricar e datar este documento em duas vias, juntamente com a pessoa que o explicou. Você receberá sua via devidamente assinada, rubricada e datada.

Confirmo que li e entendi as informações sobre o estudo contidas no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e tive a oportunidade de fazer perguntas, concordando com a participação de meu filho(a) oututelado(a).

Nome da pessoa que consente (parentesco)

Data do consentimento

Assinatura da pessoa que consente

Nome da pessoa que obteve o consentimento

Data do consentimento

Assinatura da pessoa que obteve o consentimento

TESTEMUNHA (quando necessário)

Nome da testemunha

Assinatura da testemunha

Data da assinatura

ANEXO B – FICHA CLÍNICA



Ficha Clínica

ANÁLISE DAS MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS E ANTIGENEMIA
NAS GASTROENTERITES POR ROTAVÍRUS ENTRE CRIANÇAS
HOSPITALIZADAS EM BELÉM, PARÁ, BRASIL, NO CENÁRIO PÓS-
INTRODUÇÃO DA VACINA.

Nº Participante: _____
Data do TCLE: _____
Data da Entrevista: _____

OS DADOS A SEGUIR FORAM OBTIDOS SOMENTE APÓS ASSINATURA DO TCLE PELOS PAIS/RESPONSÁVEL LEGAL.

DADOS DEMOGRÁFICOS

Nome: _____

Sexo: M F Data do nascimento: _____

Município de residência: _____

Telefone contato: _____

Data admissão: _____ Leito: _____

Nº do prontuário médico no hospital: _____

Raça: Negra
 Oriental
 Branca
 Indígena
 Pardo

Peso ao nascimento: _____ g

Diagnóstico à admissão: _____

VERIFICAÇÃO DE ELEGIBILIDADE

Critérios de Inclusão

- Criança admitida nas clínicas/hospitais pertencentes ao estudo devido à GE grave.
- Criança do sexo masculino ou feminino nascida depois de 6 de março de 2006 e com pelo menos 12 semanas de idade.
- Amostra de fezes e/ou soro coletada dentro de 48 horas após a admissão no hospital.

Critérios de Exclusão

- Criança que participou anteriormente deste estudo.
- Criança que tenha iniciado os sintomas de GE há mais de 14 dias antes da admissão no hospital. Criança
- que não tenha coletado qualquer material (fezes ou soro) para a pesquisa de rotavírus.

ANTECEDENTES MÓRBIDOS PESSOAIS

Após o nascimento a criança foi hospitalizada alguma vez devido GE grave (além deste atual)?

- Não Dado desconhecido
 Sim, quantas vezes? _____

Data da última admissão: |_|_|_|_| | |_|_|_|_| | |_|_|_|_|_|

Causa da GE: _____

ALIMENTAÇÃO ATUAL

- Aleitamento materno exclusivo
 Aleitamento materno + aleitamento artificial
 Aleitamento materno + aleitamento artificial + comida da família
 Aleitamento artificial exclusivo
 Aleitamento artificial + comida da família
 Comida da família
 Outros _____

Tempo de aleitamento materno exclusivo: _____

HISTÓRIA CLÍNICA À ADMISSÃO

Data do início da GE : _____

Febre

Apresentou febre (temperatura axilar $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$)?

- Não Sim

Quantos dias com febre? _____

Temperatura máxima registrada: _____ $^{\circ}\text{C}$

Vômitos

Apresentou vômitos?

Não Sim

Quantos dias de vômitos? _____

Número máximo de vômitos por dia: 1 2 3 4 5 6 7 \geq 8

Diarréia

Quantos dias apresentou diarreia (3 ou mais episódios de fezes mais amolecidas que o normal)?

Número máximo de fezes diarreicas por dia? 1 2 3 4 5 6 7 \geq 8

Avaliação do estado geral da criança

Não houve alteração

Irritabilidade

Letargia _____

Convulsões

Outros sistemas envolvidos, especificar: _____

COLETA DE FEZES E ANÁLISE LABORATORIAL

Data da coleta de fezes: _____ Hora da coleta de fezes: _____

A amostra de fezes foi positiva para **rotavírus**?

Não

Sim, tipos G e P encontrados: _____

Não coletada: _____

A amostra de fezes foi positiva para **outros vírus entéricos**?

Não

Sim, qual: _____ **Genótipo:** _____

Não coletada: _____

COLETA DE SANGUE E ANÁLISE LABORATORIAL

Data da coleta de sangue: _____ Hora da coleta de sangue: _____

A amostra de sangue foi positiva para **rotavírus**?

Não

Sim, tipos G e P encontrados: _____ **DO:** _____

Não coletada: _____

A amostra de sangue foi positiva para **outros vírus entéricos**?

Não

Sim, qual: _____ **Genótipo:** _____

Não coletada: _____

RESULTADO DO HEMOGRAMA

Data da coleta: _____

Hemáceas: _____ Hemoglobina: _____ Hematócrito: _____

Leucócitos: _____ Segmentados: _____ Linfócitos: _____

Eosinófilos: _____ Basófilos: _____ Monócitos: _____

Bastões: _____ Plaquetas: _____

ALTA HOSPITALAR

Data da alta hospitalar: _____

Diagnostico de alta:

Qual o quadro clínico apresentado pela criança no momento da alta? Melhorado Transferido para outro hospital Óbito Data do óbito: _____ Causa do óbito: _____ Alta a pedido Desconhecido

HISTÓRICO DE VACINAÇÃO

Alguma vacina foi administrada desde o nascimento?

- Não
 Sim, registrar todas as vacinas administradas, via e data de administração.

Nome	Data de Administração			Via
	dia	mês	ano	
VORH	□□	□□□□	□□□□	VO
VORH	□□	□□□□	□□□□	VO
BCG	□□	□□□□	□□□□	ID
HEPATITE B	□□	□□□□	□□□□	IM
HEPATITE B	□□	□□□□	□□□□	IM
HEPATITE B	□□	□□□□	□□□□	IM
TETRAVALENTE (DTP+HIB)	□□	□□□□	□□□□	IM
TETRAVALENTE (DTP+HIB)	□□	□□□□	□□□□	IM
TETRAVALENTE (DTP+HIB)	□□	□□□□	□□□□	IM
TRÍPLICE BACTERIANA (DTP)	□□	□□□□	□□□□	IM
FEBRE AMARELA	□□	□□□□	□□□□	SC
TRÍPLICE VIRAL (SCR)	□□	□□□□	□□□□	SC
PNEUMOCOCICA 10 VALENTE	□□	□□□□	□□□□	IM
PNEUMOCOCICA 10 VALENTE	□□	□□□□	□□□□	IM
PNEUMOCOCICA 10 VALENTE	□□	□□□□	□□□□	IM
MENINGO C	□□	□□□□	□□□□	IM
MENINGO C	□□	□□□□	□□□□	IM
MENINGO C	□□	□□□□	□□□□	IM
SABIN	□□	□□□□	□□□□	VO
SABIN	□□	□□□□	□□□□	VO
SABIN	□□	□□□□	□□□□	VO
SABIN	□□	□□□□	□□□□	VO
SABIN	□□	□□□□	□□□□	VO

ANEXO C

Escala de avaliação da gravidade de GE de Ruuska & Vesikari, 1990.

Experiência Adversa	
Duração das evacuações com fezes mais amolecidas que o normal (dias) 1-4 5 ≥ 6	
Nº máximo de evacuações com fezes mais amolecidas que o normal /24 horas 1-3 4-5 ≥ 6	
Duração dos vômitos (dias) 1 2 ≥ 3	
Nº máximo de episódios de vômitos/24 horas 1 2-4 ≥ 5	
Febre Temperatura Axilar 36,6-37,9°C 38,0-38,4°C ≥ 38,5°C	
Desidratação** 1-5% ≥ 6%	
Tratamento Reidratação Hospitalização	

Escore de gravidade: Leve <7 Moderado 7-10 Grave: ≥11 Muito grave: ≥15

**Um participante será considerado desidratado entre 1-5% se recebeu reidratação oral; um participante será considerado desidratado ≥6% se recebeu hidratação venosa