

PESQUISA EXPLORATÓRIA SOBRE A PRESENÇA DE ROTAVÍRUS
ASSOCIADO À GASTROENTERITE AGUDA EM CRIANÇAS
DE MANAUS (AMAZONAS). (1)

José Rafael Rosito Coiro (2)
Alcides José de Almeida Neto (2)
Maria Cristina Fassioni Heuser (2)
Maria Mercedes Bendati (2)
Vera Lúcia Vasconcellos (2)
Mirela Starhan (2)
Jaqueline Josi Samá Rodrigues (2)

Resumo

Material fecal de crianças na idade de zero até 5 anos, diagnosticadas com GEA em um hospital de Manaus, foi estudado através de microscopia eletrônica (ME) e enzima-imunoensaio (EIE). As amostras foram coletadas antes de qualquer tratamento médico no hospital. Dos 29 casos estudados, 12 mostraram positividade para rotavírus (41,4%). Dos 29 casos, 48,3% foram tratados com reidratação isolada, 31,0% com antibioticoterapia e 20,7% com quimioterapia. Dos 12 casos positivos, 3 foram tratados com antibióticos e 3 com quimioterápicos. A maior frequência de rotavírus ocorreu em crianças com idade entre zero e 12 meses. Nesta faixa etária, o maior número de casos de GEA e rotavírus foi detectado entre o sétimo e o décimo segundo mês.

INTRODUÇÃO

Desde que Bishop *et al.* (1973) detectaram rotavírus através de cortes ultrafinos de mucosa duodenal de crianças com GEA, diversos autores em diferentes países (Flewett *et al.*, 1973; Kapikian *et al.*, 1974; Konno *et al.*, 1975) têm obtido os mesmos resultados usando o método do exame direto para a detecção de rotavírus. Deste ponto em diante, o rotavírus foi considerado como o principal e mais importante agente etiológico da GEA não-bacteriana em crianças na faixa etária de 0-5 anos (Konno *et al.*, 1975; Cameron *et al.*, 1976; Viera de Torres *et al.*, 1978).

Por outro lado, Davidson *et al.* (1975) afirmaram que a alta frequência estava relacionada com os meses de inverno em países de clima frio, e mostraram

- (1) Este trabalho recebeu auxílio da Central de Medicamentos (CEME) - Ministério da Previdência e Assistência Social; Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação (PROPEP-UFRGS), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq - nº 300413/BQ 01).
- (2) Núcleo Interdepartamental de Microscopia Eletrônica (NIDEME) - Instituto de Biociências - Universidade Federal do Rio Grande do Sul - 90000 - Porto Alegre-RS - Brasil.

existir um padrão sazonal bem definido para essa doença. Entretanto, Tan et al. (1974) haviam constatado a presença de rotavírus também em regiões tropicais, embora sem determinar qualquer padrão sazonal.

O propósito deste trabalho é mostrar a frequência de rotavírus associado à GEA em 29 crianças de 0-5 anos, na cidade de Manaus, bem como o tratamento utilizado e indicar qual a faixa etária mais atingida.

MATERIAL E MÉTODOS

Durante seis dias do mês de dezembro (1981), no Hospital Infantil Dr. Fajardo (Manaus-AM), foi coletado material fecal de crianças na faixa etária de 0-5 anos, com GEA de 1-7 dias e oriundas de grupos populacionais de baixo nível educacional. As fezes foram coletadas por aspiração com seringa descartável de 5 cc e sonda retal plástica no. 6-8, com "Lidocafina CEME" na porção livre para facilitar a introdução. Em seguida, o material foi colocado em tubos plásticos hermeticamente fechados e mantidos até o momento dos exames na temperatura de aproximadamente 8°C.

Microscopia Eletrônica (exame direto)

Foi adicionado em 1g e/ou 1ml de fezes, 5ml de salina 0,85% (1: 5). Após homogeneização das fezes com 2-3 movimentos em tubo de Potter-Elvehjem fez-se centrifugação a 10.000xg durante 20 minutos. Do sobrenadante límpido foi coletada 1 gota e colocada sobre tela suporte previamente recoberta por colódio e carbono. Em seguida foram executadas 5 lavagens, gotejando-se salina 0,85%, correspondendo cada gota a uma lavagem, e o excesso foi retirado com papel filtro. A coloração negativa foi feita com acetato de uranila a 2% (sol. aq.), retirando-se o excesso após 30 segundos com papel filtro. Para o exame direto utilizou-se o mi-

croscópio eletrônico Siemens-Elmiskop 102, a 80kV e aumento de 40.000x.

Enzima-imunoensaio

A enzima-imunoensaio foi desenvolvida de acordo com as instruções da Abbott Laboratories-Diagnostics Division que acompanham o Rotazyme Diagnostic Kit. Utilizou-se o Rotazyme em todas as amostras. Nos casos de diagnósticos duvidosos por EIE, foi empregada a ME.

RESULTADOS

A figura 1 corresponde a partículas de rotavírus detectadas através de ME, utilizando-se o exame direto. Observa-se nitidamente a dupla cápside que caracteriza esse vírus, bem como seu diâmetro que atinge 700 Å. Algumas partículas virais mostram-se preenchidas pelo acetado

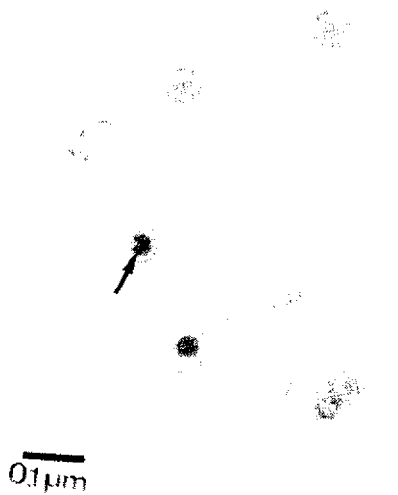


Fig. 1 -- Eletromicrografia de rotavírus detectados por microscopia eletrônica (exame direto) Coloração negativa pelo acetato de uranila a 2%. AUMENTO: aproximadamente 114.000x.

de uranila (seta). O exame direto foi utilizado em 3,44% dos 29 casos estudados, que corresponde a 1 caso considerado dúbio no diagnóstico por EIE.

A figura 2 refere-se à freqüência de rotavírus e ao tratamento empregado em 29 casos de GEA. Doze casos foram considerados rotavírus-positivo, os quais correspondem a um percentual de 41,4%. Em relação à reidratação não associada a antibióticos e quimioterápicos, observa-se que a percentagem atingiu 48,3%, correspondendo a 14 casos. Dos 15 casos restantes, em 9 (31,0%) foi empregado antibióticos e a quimioterapia em 6 casos (20,7%).

A figura 3 demonstra que de 12 casos rotavírus-positivo, foi empregada a reidratação isolada em 6 casos (50,0%). A antibioticoterapia foi empregada em 3 casos (25,0%) e a quimioterapia nos restantes 3 casos (25,0%).

Na figura 4, que se relaciona com a freqüência por faixa etária, observa-se que na faixa de 0-3 meses ocorreram 2 casos (25,0%) rotavírus-positivo de um total de 8 casos de GEA. Na faixa de 4-6 meses ocorreram 3 casos rotavírus-positivo (50,0%) de um total de 6 casos de GEA. Na de 7-12 meses ocorreram 9 casos de GEA, com 4 casos rotavírus-positivo (44,4%). Na faixa correspondente a 13-18 meses observou-se 4 casos de GEA com 2 casos rotavírus-positivo (50,0%). Na faixa de 19-24 meses não ocorreram casos de GEA e na de 25-60 meses observou-se 2 casos de GEA e 1 caso rotavírus-positivo (50,0%).

DISCUSSÃO

A freqüência de rotavírus nas 29 crianças estudadas foi de 41,4%. Calculan-

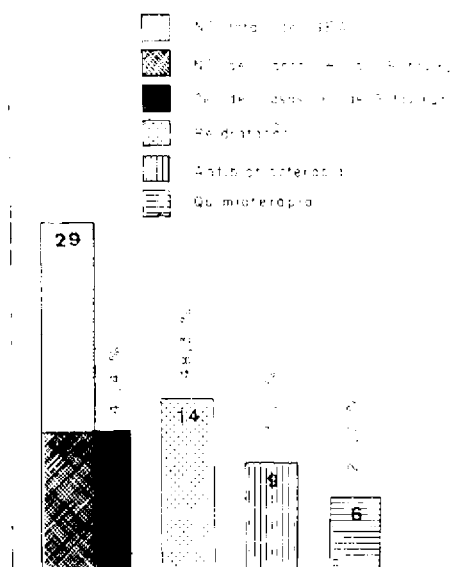


Fig. 2 - Freqüência de rotavírus e tratamento empregado em 29 crianças com gastroenterite aguda (GEA).

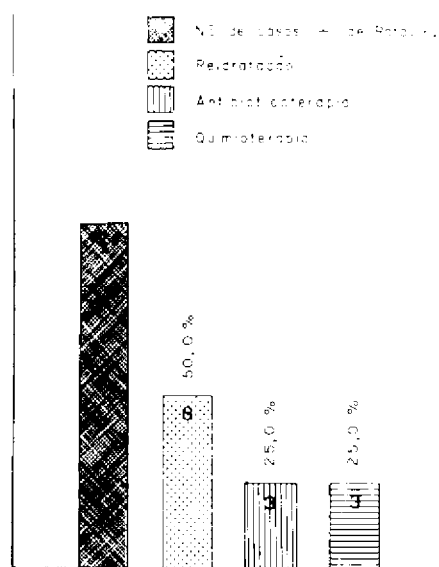


Fig. 3 - Tipos de tratamento empregado nos casos rotavírus-positivos.

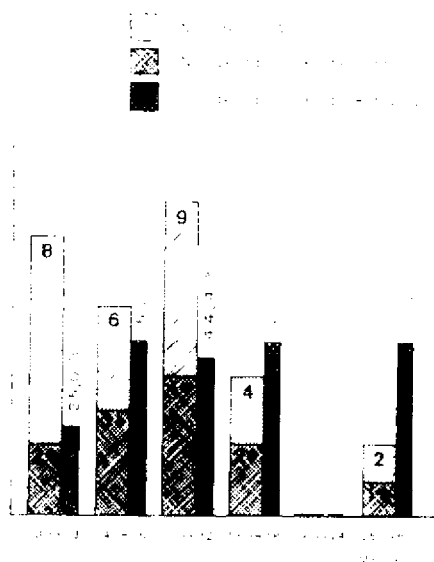


Fig. 4 -- Frequência por faixa etária de gastroenterite aguda e de rotavírus em 29 crianças de Manaus.

do a estimativa dos limites de confiança, foi encontrado que a frequência de rotavírus na população de Manaus deve estar entre 23,38% e 58,22%, com uma probabilidade de 5% estarem fora destes limites. Estes resultados possibilitarão estudos comparativos que vieram a ser realizados em Manaus por outros pesquisadores.

Montelli *et al.* (1980) afirmaram que para uma terapêutica eficaz é imprescindível a determinação do agente etiológico correto, pois somente em poucas situações o diagnóstico clínico pode ser suficiente para a escolha do antimicrobiano.

Segundo Vasconcelos (1981) o uso descontrolado e excessivo de drogas levará à formação de cepas bacterianas resistentes. Esse autor evidencia a necessidade de um tratamento correto através do isolamento do agente etiológico responsável pela infecção e a indicação racional do

antimicrobiano depois do teste de sensibilidade à droga.

Resultados parciais no sentido de determinar as características sazonais da GEA associada à presença de rotavírus (Coiro *et al.*, 1982 - obs. não publicadas), mostram que em 388 casos de GEA em crianças gaúchas, 24,3% eram portadoras somente de algum tipo de bactéria patogênica (*Salmonella* - *Shigella* - *E. coli*). Contudo, em 22,9% dos casos de GEA, foi detectado a presença única de rotavírus, e em 18,8% ocorreu infecção mista. Esses resultados sugerem que o rotavírus possa ter quase o mesmo grau de importância como agente etiológico da GEA, como são consideradas, ainda hoje, as bactérias patogênicas. Assim, é possível supor que em Manaus, dos 29 casos de GEA estudados e dos 12 casos rotavírus-positivo, alguns possam ser considerados como oriundos de infecção mista e outros de origem puramente rotaviral. De qualquer modo, observando a figura 3, é possível perceber que em 50,0% dos casos rotavírus-positivo foi empregado a antibioticoterapia ou quimioterapia. De acordo com Bier (1978), os vírus são insensíveis à ação dos antibióticos e quimioterápicos por não possuírem metabolismo próprio, fato que nos permite, inclusive, pensar em administração inadequada de drogas em alguns casos estudados em Manaus.

Por outro lado, embora todas as crianças estudadas em Manaus tenham recebido reidratação, somente 48,3% foram reidratadas sem administração de drogas. A figura 2 mostra claramente 9 casos tratados com antibióticos (31,0%) e 6 casos com quimioterápicos (20,7%), dentre os quais, obviamente, alguns não deveriam receber drogas pela origem viral da GEA e os outros pelo fato de não ter sido realizada a determinação do tipo bacteriano causador da doença. Corroborando essa afirmação, a figura 3 mostra 6 casos considerados rotavírus-positivo que foram tratados com quimioterápico-antibiótico.

A faixa etária mais atingida foi a de 7-12 meses, com 9 casos de GEA, sendo esta mesma a que apresentou o maior número de casos rotavírus-positivo. Analisando a faixa mais ampla, que vai de zero até 60 meses, observa-se que a maior frequência ocorreu na de 0-12 meses, com 23 casos de GEA e 9 casos de rotavírus-positivo. Esses resultados sugerem que as crianças na faixa de 0-12 meses são mais susceptíveis ao ataque da GEA, talvez pela baixa taxa de anticorpos específicos doados pelo organismo materno através do aleitamento, fato que coloca em dúvida se realmente esta prática está sendo executada de modo correto.

Uma vez que o material fecal fora coletado logo após o recebimento das crianças no hospital, é possível excluir a hipótese de infecção hospitalar. Este procedimento sugere que possa existir um foco bem definido de rotavírus na cidade de Manaus, com disseminação rápida entre as crianças, permitindo inferir a presença de uma outra variável interferente que auxilie na instalação e disseminação da GEA associada à presença de rotavírus.

CONCLUSÕES

Os resultados desse trabalho sugerem: 1 — que a frequência de rotavírus associado à GEA, especificamente nestas 29 crianças, foi de 41,4%; 2 — que ocorreu uma provável inadequação no uso de drogas em alguns casos de GEA, bem como uma reidratação isolada aquém do desejável (48,3%); 3 — que a faixa etária de 0-12 meses foi a mais atingida pela GEA e rotavírus; 4 — que a infecção rotaviral desses 29 pacientes tenha ocorrido fora do hospital.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Diretoria do Hospital Infantil Dr. Fajardo pelas facilidades colocadas a nossa disposição e, mais especificamente, à Médica Pediatra Darcley

França Teixeira Pinto que nos prestou excelente auxílio na área médica.

Summary

Faecal material from children aged zero to 5 years old with diagnosed GEA at one hospital in Manaus was studied through electron microscopy and enzyme immunoassay. Samples were collected before any medical treatment was to be applied at the hospital. Out of 29 cases studied 12 showed positivity for rotavirus (41.4%). Out of the 29 cases studied 48.3% were treated with isolated rehydration, 31.0% with antibiotic therapy and 20.7% with chemotherapy. Out of the 12 positive cases 3 were treated with antibiotics and 3 with chemotherapy. Greater frequency of rotavirus was found to occur between zero to 12 months old children. Within this range of age the greater number of GEA and rotavirus cases was detected between the 7th and the 12th month.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bier, O. — 1976. Caracteres gerais e classificação dos vírus. In: **Bacteriologia e Imunologia**, 19. ed. São Paulo, E. Melhoramentos, p. 81.
- Bishop, R. F.; Davidson, G. P.; Holmes, I. H.; Ruck, B. J. — 1973. Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute non-bacterial gastroenteritis. **Lancet**, 2: 1281-1283.
- Cameron, D. J. S.; Bishop, R. F.; Davidson, G. P.; Townley, R.R.W. — 1976. New Virus associated with diarrhoea in neonates. **Med. J. Aust.**, 1: 85-86.

- Davidson, G. P.; Townley, R. R. W.; Bishop, R.F.; Holmes, I.H. - 1975. Importance of a new virus in acute sporadic enteritis in children. *Lancet*, 1: 242-245.
- Flewett, T. H.; Bryden, A. S.; Davies, H. - 1973. Virus particles in gastroenteritis. *Lancet*, 2: 1497
- Kapikian, A. Z.; Kim, H. W.; Wyatt, R.G.; Rodriguez, W. J.; Cline, W.L.; Parrott, R.H.; Chanock, R.M.-1974. Reovirus-like agent in stools: association with infantile diarrhoea and development of serologic tests. *Science*, 185: 1049 - 1053
- Konno, T.; Suzuki, H.; Ishida, N.- 1975. Reovirus-like agent in japanese infants with gastroenteritis. *Lancet*, 1: 918
- Montelli, A. C.; Toledo, M.R.F.; Silva, M.L.R.- 1980. Importância do diagnóstico etiológico das infecções e da sensibilidade dos agentes bacterianos às drogas. Informação da Soc. Bras. Microb. *Acta Amazonica*, 11(3): 531.
- Tan, G. S.; Townley, R.R.W.; Davidson, G.P.; Bishop, R.F.; Holmes, I.H.; Ruck B. J.- 1974. Virus in faecal extracts from children with gastroenteritis. *Lancet*, 1: 1109.
- Vasconcelos, J. C. - 1981. Bactérias enteropatogênicas de diarréia infantil aguda em Tucuruí, Pará. *Acta Amazonica*, 11(3): 527-535.
- Viera de Torres, B.; Mazzali de Ilja, R.; Esparza, J. - 1978. Epidemiological aspects of rotavirus infection in hospitalized venezuelan children with gastroenteritis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 27(3): 567-572.

(Aceito para publicação em 30/6/83).