

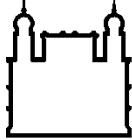
MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Doutorado em Programa de Pós-Graduação de Medicina Tropical

**Vacinas de rotavirus: processo de introdução e
efetividade em programas de imunização na
América Latina e Caribe**

LÚCIA HELENA DE OLIVEIRA

Rio de Janeiro,
Agosto de 2014



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

LÚCIA HELENA DE OLIVEIRA

Vacinas de rotavirus: processo de introdução e efetividade em programas de imunização na América Latina e Caribe

Tese apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título Doutor em Medicina Tropical

Orientadores: Orientador principal: Prof. Dr. Luiz Antonio Bastos Camacho
Co-orientador: Prof. Dr. José Paulo Gagliardi Leite

Rio de Janeiro,
Agosto de 2014

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Ciências Biomédicas/ ICICT / FIOCRUZ - RJ

O48 Oliveira, Lúcia Helena de

Vacinas de rotavirus: processo de introdução e efetividade em programas de imunização na América Latina e Caribe / Lúcia Helena de Oliveira. – Rio de Janeiro, 2014.

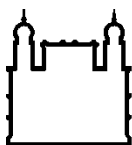
ix, 91 f. : il. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2014.

Bibliografia: f. 79-86

1. Vacinas contra rotavirus. 2. Efetividade. 3. Metanálise. 4. América Latina. 5. Região do Caribe. I. Título.

CDD 616.918



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

LÚCIA HELENA DE OLIVEIRA

Vacinas de rotavirus: processo de introdução e efetividade em programas de imunização na América Latina e Caribe

ORIENTADOR (ES): Prof. Dr. Luiz Antonio Bastos Camacho

Prof. Dr. José Paulo Gagliardi Leite

Aprovada em: 05/09/2014

EXAMINADORES:

Prof. Dr. José Cássio de Moraes - Presidente -Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo/São Paulo

Prof. Dr. Akira Homa - Biomanguinhos/Fundação Oswaldo Cruz/Rio de Janeiro

Prof. Dr. Ana Maria Bispo – Instituto Oswaldo Cruz/ Fundação Oswaldo Cruz /Rio de Janeiro

Prof. Dr. Reinaldo de Menezes Martins - Biomanguinhos/Fundação Oswaldo Cruz/Rio de Janeiro

Prof. Dr. Mauricio Barreto-Universidade Federal da Bahia

Rio de Janeiro, 05 de Agosto de 2014

*À minha filha, Carol, que me deu a
suprema felicidade de ser mãe e faz
com que me sinta orgulhosa pelo ser
humano admirável que se tornou.*

Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. Luiz Camacho, pelo cuidado na orientação dessa tese e apoio em todos os momentos mesmo na situação especial de vivermos a grandes distancias geográficas.

Ao meu co-orientador, Prof. José Paulo Leite, pela dedicação e por seu incentivo há muitos anos para que eu realizasse o sonho desse doutorado.

À minha família, especialmente minha mãe, Clair, e meu “segundo” pai, Nuno, que foram de fundamental importância apoiando-me emocionalmente nos momentos difíceis que vivi durante a realização dessa tese.

À coordenação da Pós- Graduação da Medina Tropical por me permitir realizar esse doutorado em condições particulares, uma vez que moro em outro país e, particularmente, à secretaria Lívia que foi incansável em mandar-me orientações.

Aos membros da banca pela disponibilidade de revisar esta tese e dar sugestões para seu aperfeiçoamento.

Ao meu chefe da Unidade de Imunizações da OPAS, Cuauhtemoc Ruiz Matus, que me estimulou e apoiou incondicionalmente para que eu pudesse realizar esse doutorado mesmo seguindo minhas atividades de rotina.

À Dra. Cristiana Toscano e Dr. Manish Patel pelo companheirismo durante muitas atividades de trabalho, incluindo os dois artigos que compõe esta tese.

À Martha Silveira e Prof. Evandro Coutinho que me ajudaram na realização da revisão sistemática e meta-análise que é parte desse estudo e, especialmente, à Martha que me acompanhou até o último minuto.

Ao Dr. Jon Andrus, Diretor Ajunto da OPAS, por sempre confiar no meu trabalho e estimular-me a crescer profissionalmente.

Ao Prof. Claudio Struchiner que me fez sentir o “gosto” pela pesquisa, quando me orientou no mestrado em epidemiologia.

Ao Dr. Ciro de Quadros (*in memoriam*) que me ensinou a ter paixão pelas imunizações e proporcionou-me a oportunidade de trabalhar ao seu lado na OPAS, onde seguirei seus passos, empenhando-me para que cada vez mais a população dos países da região das Américas tenha direito às vacinas.

***Se dominamos a nossa mente,
a felicidade virá.***

Dalai Lama

RESUMO

Vacinas de rotavirus: processo de introdução e efetividade na América Latina e Caribe

A doença causada pelo rotavirus é umas das principais causas de morbidade e mortalidade relacionadas à diarreia aguda em crianças no mundo causando, antes da introdução das vacinas, aproximadamente 453.000 mortes anualmente, particularmente nos países em desenvolvimento. No ano de 2006, duas vacinas foram licenciadas para prevenir os casos graves de diarreia por rotavirus do grupo A (RVA) e mortalidade por esta doença. Estas duas vacinas, monovalente (Rotarix[®] - RV1) e pentavalente (RotaTeq[®] – RV5), foram recomendadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para sua utilização nos programas de imunizações em 2007. Os países da América Latina e Caribe (ALC) e os Estados Unidos da América (EUA) foram os primeiros a incorporarem esta vacina na rotina de imunizações. Atualmente, 16 países da ALC introduziram estas vacinas no esquema de vacinação. O objetivo deste estudo é documentar o processo de introdução das vacinas de RVA em alguns países da ALC através de uma avaliação qualitativa –observacional, medir a efetividade da vacina RV1 na Bolívia, e realizar uma meta-análise para estimar a efetividade das vacinas RVA, segundo diferentes variáveis, na ALC. As evidências da eficácia da vacina, seu potencial impacto e custo-efetividade de sua introdução, mesmo sem dados locais, foram importantes para a decisão de introdução dessa vacina. Tanto no estudo da Bolívia como na meta-análise, as estimativas de efetividade variaram em grau de acordo ao grupo controle utilizado. No estudo caso-controle da Bolívia, a efetividade de RV1 para o esquema completo foi de 77,0% e 69,0% utilizando controles de hospital (outras doenças) e diarreias ELISA-negativo para RVA, respectivamente. A efetividade para uma dose da vacina foi de 56,0% com controles de hospital (outras doenças) e 36,0% com controles de diarreia ELISA-negativo. Na revisão sistemática foram identificados 806 estudos dos quais foram selecionados 8 para a meta-análise, envolvendo 27.713 participantes na análise final. As estimativas sumárias foram calculadas usando diferentes grupos controles. A efetividade para duas doses de RV1 contra hospitalizações variou de 63,5% a 72,2%; efetividade em crianças <12 meses variou de 75,4% a 81,8% para RV1, e de 56,5% a 66,4% para crianças maiores de >12 meses. A efetividade da RV5 variou de 76,1% a 88,8% nas diarreias com score Vesikari >11 em crianças de 6 a 11 meses. Em conclusão, foram identificados os principais fatores que apoiaram o processo de decisão de introdução das vacinas RVA, os quais foram de alta importância para documentar este processo, uma vez que a literatura sobre o tema é escassa. As vacinas de RVA conferem alta proteção para as hospitalizações por RVA. Para a vacina RV1, esta proteção é maior nos <12 meses comparado aos > 12 meses. Uma dose de vacina também confere proteção o que é especialmente importante nos países em desenvolvimento onde as diarreias ocasionam alta mortalidade.

Palavras chave: Vacinas contra Rotavirus; Efetividade; Meta-análise; América Latina; Região do Caribe

ABSTRACT

Rotavirus vaccines: introduction process and effectiveness in Latin American and Caribbean

The Rotavirus disease is one of the most significant causes of morbidity and mortality in relation to acute diarrhea in children around the world and there were approximately 453,000 deaths annually before the introduction of the vaccines, especially in developing countries. In 2006, two group A rotavirus (RVA) vaccines were licensed to prevent severe diarrhea and mortality due to rotavirus. The monovalent (Rotarix[®], RV1) and pentavalent (RotaTeq[®], RV5) were recommended by the World Health Organization (WHO) in 2007. Countries from Latin America, the Caribbean (LAC), and the United States were the first ones in the world to introduce these vaccines. Currently, 16 countries in LAC have introduced RVA vaccines in their immunization programs. The objective of this study is to document the RVA vaccines introduction process in some LAC countries through an observational-quality study measuring the effectiveness of the vaccine in a specific country, Bolivia, and to conduct a meta-analysis for estimating the vaccine's effectiveness according different variables in LAC. The evidence on efficacy, potential impact, and cost-effectiveness of vaccine introduction, even without local data, were important in the decision making process for vaccine introduction. The vaccine effectiveness, using different types of controls, leads to different degrees of effectiveness in the Bolivia study and in the meta-analysis too. A Bolivia case-control study shows RV1 effectiveness for a complete schedule of 77.0% and 69.0% with non-diarrhea controls and diarrhea ELISA negative test, respectively. For one dose of vaccine, effectiveness ranged from 56.0% using non-diarrhea hospital control to 36.0% using diarrhea ELISA negative test. Systematic review identified 806 studies but only 8 of them were selected for the meta-analysis involving 27,713 participants. Effectiveness of two doses of RV1 against rotavirus-related hospitalizations ranged from 63.5% to 72.2%; effectiveness ranged from 75.4% to 81.8% among infants <12 months for RV1, and from 56.5% to 66.4% for infants >12 months. The RV5 effectiveness ranged from 76,1% to 88,8% for diarrhea with a Vesikari score >11 in infants from 6 to 12 months. In conclusion, were identified the main factors that supported the decision –making process for the vaccine introduction in the countries and they are very important since the literature on this issue is very poor. RVA vaccines confer high protection against diarrhea due to rotavirus. RV1 effectiveness is higher in infants < 12 months and lower in infants > 12 months. One dose of vaccine confers some protection which is important especially in developing countries where mortality is high.

Key words: Rotavirus vaccines; Effectiveness; Meta-Analysis; Latin America; Caribbean region

Lista de siglas e abreviaturas

ALC: América Latina e Caribe

AL: América Latina

ACIP: Comité Assessor de Práticas de Imunização (Advisory Committee on Immunization Practices)

CDC: Centro de Controle e Prevenção de Doenças (Centers for Disease Control and Prevention)

EUA: Estados Unidos da América

FDA: Administração de Medicamentos e Alimentação (Food and Drug Administration)

GAVCS: Comité Assessor de segurança em vacinas (Global Advisory Committee on Vaccine Safety)

GAVI Alliance: Aliança Global para Vacinas e Imunizações (Global Alliance for Vaccines and Immunization)

GTA: Grupo Técnico Assessor em Doenças Preveníveis por Vacinação

IC: intervalo de confiança

IPV: vacina de poliomielite inativada

IS: intussuscepção ou invaginação intestinal

ODM: Objetivos de Desenvolvimento do Milênio

OPAS: Organização Pan Americana da Saúde

OPS: Organización Panamericana de la Salud

OMS: Organização Mundial da Saúde

VPC: vacina conjugada de pneumococo

PIB: produto interno bruto

ProVac: Promoção da Tomada de Decisões Baseada em Evidências para a Introdução de Novas Vacinas (Promotion of Evidence-Based Decision Making on New Vaccine Introductions)

RVA: rotavirus do grupo A

RV1: vacina de rotavirus monovalente (Rotarix)

RV5: vacina de rotavirus pentavalente (Rotateq)

SAGE: Grupo Consultor Estratégico de Expertos da OMS (Strategic Advisory Group of Experts)

VOP: vacina oral de poliomielite

VPH: vacina do papilloma humano

WHO: World Health Organization

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
Lista de siglas e abreviaturas	ix
1. Introdução	1
1.1 Vírus	1
1.2 Rotavíruses	3
1.2.2 Período de incubação e transmissibilidade.....	4
1.2.3 Características clínicas.....	5
1.3 Epidemiologia	6
1.3.1 Epidemiologia global	7
1.3.2 Epidemiologia na América Latina e Caribe (ALC).....	9
1.3.3 Vigilância epidemiológica e vigilância de genótipos.....	11
1.4 Vacinas de rotavírus do grupo A	12
1.4.1 RRV-TV.....	12
1.4.2 Vacinas contra rotavírus do grupo A atualmente disponíveis.....	13
1.4.3 Vacina Monovalente.....	13
1.4.4 Vacina pentavalente.....	14
1.5 Introdução da vacina contra rotavírus na ALC	18
1.5.1 Introdução da vacina conjugada de pneumococo e rotavírus na ALC.....	20
2. Justificativa	21
3. Objetivos	24
3.1 Objetivo geral:	24
3.2 Objetivos específicos:.....	24
4. Considerações Éticas	25
5. Metodologia	26
5.1 Artigo I.....	26
5.2 Artigo II.....	36
5.3 Artigo III.....	48

6. Discussão	67
7. Conclusões.....	77
8. Perspectivas.....	78
Referências bibliográficas	80

1. Introdução

1.1 Vírus

Os rotavirus são membros da família *Reoviridae*, gênero *Rotavirus*. As partículas virais foram descritas pela primeira vez através da microscopia eletrônica (ME) de biópsia de epitélio duodenal de crianças com diarreia aguda (1) assim como pela ME de fezes de crianças com diarreia aguda (2). Pela ME a partícula viral apresenta uma morfologia típica, semelhante a uma “roda de carroça” e a denominação rotavirus (do Latin, rota=roda) foi proposta por Flewett et al. (1978). (3, 4 , 5). O vírion, partícula infecciosa completa do rotavirus, tem de 80nm a 100nm de diâmetro, simetria icosaédrica, sendo desprovido de envelope. O genoma viral é constituído por RNA de dupla fita (RNA_{df}), com 11 segmentos, os quais são circundados por um capsídeo de três camadas concêntricas contendo o *core* (capsídeo interno); um capsídeo intermediário e um capsídeo externo (6).

Cada um dos segmentos do genoma viral codificam para proteínas estruturais (VPs): VP1, VP2, VP3, VP4, VP6 e VP7; e não estruturais (NSPs): NSP1, NSP2, NSP3, NSP4, NSP5 e NSP6. Cada segmento de genoma codifica uma proteína (VP ou NSP), à exceção do segmento 11, o qual codifica duas proteínas (NSP5 e NSP6) (5, 6).

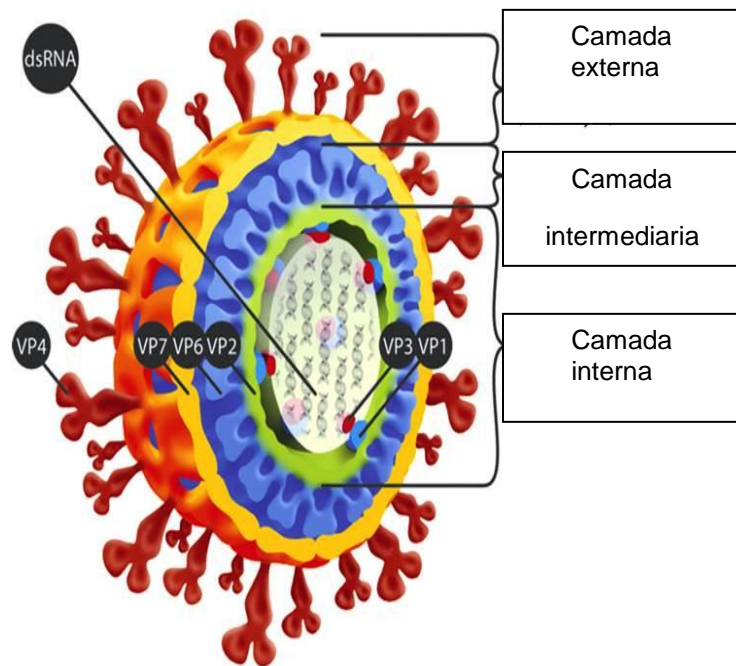
Ancorando o RNA_{df} estão as proteínas que constituem o *core* VP1, VP2 e VP3, as quais são funcionalmente importantes para a replicação viral, sendo estas proteínas codificadas pelos segmentos(4-6).

O capsídeo intermediário é constituído pela proteína VP6 (codificada pelo segmento 6) que é a proteína mais abundante do vírion e é a base para a classificação dos rotavirus em grupos de A a H(7). Os grupos A, B, C e H foram descritos em humanos e animais; enquanto os demais (D-G) foram descritos apenas em animais (galinhas, porcos, aves) (8). Acredita-se que os humanos sejam o único

reservatório para cepas humanas e a transmissão de cepas animais para humanos parece improvável(9). Os rotavirus do grupo A (RVA) são considerados os mais importantes em saúde pública, pois induzem às diarreias mais graves em crianças em nível global (8, 10).

O capsídeo externo é composto pelas proteínas estruturais VP4 e VP7. A proteína VP4 é codificada pelo gene 4 e é responsável pela classificação dos RVA em sorotipos/genótipos P (sensibilidade à protease); enquanto VP7 é codificada pelos genes 7, 8 ou 9, e é responsável pela classificação dos RVA em sorotipos/genótipos G (glicoproteína). As proteínas VP4 e VP7 contêm múltiplos epítomos antigênicos que induzem à síntese de anticorpos neutralizantes e, portanto, podem influenciar na eficácia das vacinas contra RVA (5, 6).

Figura 1: Estrutura do rotavirus. Adaptação de Usonis et al 2012(11)



Atualmente, estão descritos 27 genótipos G (G1-G27) e 37 genótipos P (P[1]-P[37]) (12, 13). A maioria dos RVA humanos associados à doença diarréica apresentam as combinações genótípicas G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8], ou G9P[8]. A maioria dos genótipos de RVA humanos co-circulam dentro de uma mesma estação, criando condições que favorecem as reestruturações (*reassortment*) dos vírus. As reestruturações, a mutação pontual, que define novas linhagens e sublinhagens de um genótipo, e o rearranjo, que são alterações do segmento genômico, são considerados os principais mecanismos de evolução da diversidade genética dos rotavirus (14-16).

1.2 Rotaviroses

1.2.1 Patogênese e resposta imune

O modelo de transmissão dos rotavirus é pouco conhecido, mas a disseminação é por contato pessoa-pessoa (transmissão fecal-oral), por fômites contaminados ou através da exposição de aerossóis respiratórios (9, 17, 18). A replicação viral ocorre na porção apical das vilosidades do intestino delgado, progredindo da parte proximal para a distal. O conhecimento da patogênese causada pelos rotavirus foi obtida principalmente pelos estudos em modelos animais(17). Dois mecanismos de diarreia foram descritos para os RVA: osmótico e secretório. O vírus desprende-se de sua capa externa e ativam-se as enzimas necessárias para a sua transcrição viral, ocorrendo sua replicação. A infecção resulta em uma extensiva necrose celular do epitélio do intestino delgado com atrofia das vilosidades, resultando em diminuição da absorção intestinal de sódio, glicose, água, lactose e sacarose, induzindo a uma diarreia isotônica (8, 19, 20). Isto é seguido por hiperplasia de célula cripta reativa acompanhada de aumento de secreção o que também contribui para a gravidade da diarreia (20).

O mecanismo secretório ocorre através da liberação da proteína NSP4 que atua como uma enterotoxina viral que é secretada das células infectadas, mas que também atua em células não infectadas, interferindo na estabilidade do metabolismo de Ca^{++}

Esta proteína NSP4 é um fator de virulência multifuncional e que explica a gravidade da gastroenterite ocasionada pelos RVA, mesmo sem ocorrer um dano histopatológico muito extenso (8, 20). A infecção pelos RVA é normalmente localizada no intestino (8, 20); embora alguns relatos descrevam que as infecções pelos RVA podem disseminar-se, induzindo a antigenemia e viremia (21-23). Antígenos e RNAdf de RVA já foram detectados no soro de crianças com gastroenterite grave e os mais altos níveis de antigenemia foram detectados no início da doença em crianças com febre alta (21, 22, 24); no entanto fatores do hospedeiro têm um importante papel nos níveis de antigenemia (25). Mesmo assim, o significado clínico da infecção pelos RVA extra-intestinal, mais que a associação de febre com a antigenemia ou viremia, permanece desconhecido e seu impacto no desenvolvimento de vacinas ou imunidade natural ainda deve ser determinado (22, 23, 25). Em síntese, a diarreia produzida pelos RVA é um mecanismo complexo e que envolve processos de má absorção, hiper secreção e de alteração de permeabilidade e motilidade do transito intestinal, sendo que a gravidade da mesma está relacionada a fatores do vírus e do hospedeiro (8).

As infecções por RVA induzem a uma resposta imune local intestinal e sistêmica a despeito de ser uma infecção superficial de mucosa (26). Observações epidemiológicas e de experimentação em animais indicam que infecção primária produz, principalmente, uma resposta imune humoral sorotípica específica, resultando em uma imunidade homotípica. Por outro lado, as infecções subsequentes induzem imunidade homotípica e heterotípica, a qual aumenta com o número de reinfecções (27, 28).

1.2.2 Período de incubação e transmissibilidade

O período de incubação é relativamente curto, usualmente menos de 48 horas, podendo ser de até 7 dias, e o início da doença é súbito (8, 20). As rotaviroses são altamente transmissíveis, sendo que a dose de infecção é baixa e o vírus é excretado em grandes quantidades (podendo chegar a 10^{11} partículas/g fezes/evacuação) antes e depois do início dos sintomas (29). Além disto, a partícula viral é extremamente resistente a intempéries climáticas, mantendo-se infecciosa em superfícies secas por

até 10 dias e nas mãos humanas por até 4 horas (30). Como mencionado anteriormente, a transmissão é, principalmente, fecal-oral, através de contato direto com os casos de RVA em crianças e adultos, incluindo aqueles com doença sub-clínica, e contato com objetos, alimentos, água e superfícies (29, 30).

1.2.3 Características clínicas

As manifestações clínicas da infecção variam e dependem se é uma primo-infecção ou uma reinfecção. A infecção natural adquirida pelo RVA produz a maior proteção contra reinfecção e doença grave. Depois da primeira infecção, 88% das crianças estão protegidas contra outro episódio de diarreia grave por RVA; 75% estarão protegidas contra diarreias por RVA e 40% contra qualquer infecção por este vírus (31).

Estudos de crianças com infecção por RVA têm demonstrado um espectro que varia desde a infecção assintomática até desidratação grave, choque e óbito (31). A doença é caracterizada por diarreia líquida de início súbito, febre e vômito (9, 31). A diarreia pode ser de moderada a grave persistindo, comumente, de 3 a 8 dias, com 10 a 20 episódios diários e tem duração auto-limitada. A febre e o vômito são mais proeminentes durante os primeiros dias da doença. Normalmente, a febre é baixa (<38,5°C), embora algumas crianças apresentem febre alta (>38,5°C) o que pode produzir convulsões naquelas que são propensas à convulsão febril. O vômito ocorre em 80% a 90% das crianças infectadas e, usualmente, é intenso e de duração curta, demorando 24 horas ou menos na maioria dos casos (31, 32). As infecções por RVA frequentemente são mais graves que diarreias por outras etiologias e estão mais associadas à desidratação e hospitalização (32). As doenças mais graves estão associadas por transaminases hepáticas elevadas e excreção prolongada de vírus nas fezes (9).

A maioria das crianças com diarreia grave por RVA excretam o vírus por duas a três semanas, entretanto, uma entre cinco crianças, continuarão excretando o vírus

entre quatro e oito semanas, especialmente, aquelas com sintomas moderados ou sintomas de gastroenterite intermitente o que aumenta o risco de transmissão (29).

A doença rotavírica é mais comum e grave em crianças entre 3 e 36 meses de idade. Podem ocorrer múltiplas infecções durante a vida, entretanto os episódios após a primeira infecção são menos graves ou assintomáticos devido à imunidade cumulativa (33) e isto explica porque a doença em adultos é usualmente assintomática ou moderada (34). A doença clínica não é comum nos neonatos (33) o que pode estar influenciado pela imaturidade do intestino do neonato, anticorpos maternos e a capacidade reduzida de virulência dos RVA de se replicar no intestino do neonato (22). A exposição de neonatos aos RVA (assintomática) esta associada à redução da probabilidade do desenvolvimento da doença grave posteriormente (1, 33).

Atualmente não existe uma terapia específica contra as rotavirose como no caso de outras diarreias e o tratamento tem por objetivo a reposição de fluidos que previnam a desidratação e tratamento com zinco o qual diminui a gravidade e duração da diarreia. Sais de reidratação oral de baixa osmolaridade são mais efetivos na reposição de fluidos que as soluções reidratantes recomendadas inicialmente pela OMS. Adicionalmente, a criança deve continuar recebendo alimentação, incluindo o aleitamento materno (18).

1.3 Epidemiologia

Globalmente as rotavirose lideram como causa de diarreia e desidratação grave nas crianças ≤ 5 anos e 95,0% dessas crianças já terão sido infectadas entre os 3 e 5 anos de idade (4). A gravidade da doença é dependente da idade, onde a primeira infecção usualmente é a mais grave (22). Em países com renda baixa e média (menor Produto Interno Bruto -PIB), a mediana de idade para a ocorrência da primeira infecção varia entre 6 e 9 meses (80,0% ocorre antes do primeiro ano de idade); enquanto nos países com renda alta (maior PIB) , o primeiro episódio pode ocorrer mais tardiamente entre os 2 e 5 anos de idade, embora aproximadamente 65,0% ainda ocorra nos ≤ 1 ano (35).

Embora a doença acometa, principalmente, crianças ≤ 5 anos, apresentando-se de forma mais grave nos ≤ 2 anos, a infecção também pode ocorrer em adultos (17, 34). Hospedeiros imunodeprimidos desenvolvem uma doença mais grave e uma infecção mais prolongada (34). A doença apresenta um padrão sazonal nos países e regiões de clima temperado, com um pico de incidência entre os meses de outono e inverno, quando a temperatura ambiente e a umidade são baixas (36). Em climas tropicais a doença não apresenta este padrão de sazonalidade tão evidente, embora seja mais incidente durante os períodos secos e frios (34). A dispersão das partículas é maior pelo ar seco e temperaturas mais baixas, facilitando a propagação (37).

A incidência de RVA, desde a sua descrição, não variou durante o tempo, sendo muito similar em países desenvolvidos e em desenvolvimento, corroborando a noção de que medidas sanitárias, como água potável e redes de esgotos apropriadas, não são fatores importantes na transmissão desta doença (8, 9, 38). Por isto são conhecidos como vírus “democráticos” em relação à morbidade, pois afetam diferentes áreas geográficas, populações pobres e ricas, sem distinção de classe social ou etnia (8).

1.3.1 Epidemiologia global

As mortes relacionadas aos RVA representam 5,0% do total de mortes em crianças anualmente no mundo (39) e 29,0% das mortes causadas por diarreia (40). A Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou para o ano 2008 que ocorriam aproximadamente 453.000 (420.000 – 494.000) mortes em crianças, associadas à gastroenterite por RVA. Estas mortes representam 5,0% do total de mortes em crianças e uma taxa de mortalidade por causa específica de 86 mortes para 100.000 crianças ≤ 5 anos. Aproximadamente, 90,0% destas mortes estão em países de baixos PIB e IDH, localizados particularmente na África e Ásia, sendo relacionadas às dificuldades de acesso aos serviços de saúde. As taxas de mortalidade específica variam de 474 por 100.000 no Afeganistão a menos de 1 por 100.000 em 63 países, como por exemplo, Santa Lucia, Chile, Barbados, Dominica e Bahamas na ALC (41, 42). Independente da região do mundo ser rica ou pobre, na ausência de vacinação, aproximadamente 1 em

cada 5 crianças irão requerer uma visita médica por infecção por RVA e 1 em cada 50-70 será hospitalizada durante os primeiros 5 anos de vida (43). Mais recentemente, após a introdução da vacina em vários países do mundo foi estimado que RVA causa aproximadamente 197.000 (110.000 – 295.000) mortes em 2011, o que significa que ainda é a causa mais importante de mortalidade por diarreia (44).

Mesmo que a incidência de RVA seja a mesma em países desenvolvidos e países em desenvolvimento, existe uma grande disparidade relacionada à mortalidade, que, provavelmente, estaria relacionada às inequidades de acesso aos serviços de saúde e adequada terapia de reidratação, infecções concomitantes com outros vírus e bactérias enteropatogênicas, desnutrição e a circulação do vírus por períodos mais prolongados (9, 27, 45, 46). Uma minoria das mortes associadas aos RVA ocorre em países desenvolvidos e, na verdade, em uma revisão realizada por Parashar e colaboradores (2009) foi estimado para o ano 2004, que mais de 50,0% das mortes por RVA ocorriam em 6 países: Índia, Congo, China, Paquistão, Etiópia e República Democrática do Congo, sendo que na Índia representam um quarto do total de mortes (40). Na maioria dos países de baixos PIB e IDH da Ásia e África, a epidemiologia dos RVA é caracterizada por um ou mais períodos de intensa circulação do vírus, enquanto nos países de elevados PIB e IDH, com climas temperados é observada uma sazonalidade com picos de circulação no outono e inverno, conforme mencionado anteriormente. Na era pre-vacinação estima-se que ocorriam 114 milhões de episódios de gastroenterite que requeriam atenção domiciliar; 24 milhões de visitas aos serviços de saúde e 2,4 milhões de hospitalizações em crianças ≤ 5 anos, anualmente, em nível mundial (47).

Mesmo em países desenvolvidos como os Estados Unidos da América (EUA), por exemplo, onde a mortalidade era rara antes da introdução da vacina, a doença por RVA gerava 500.000 visitas médicas; 60.000 hospitalizações (3,0% a 5,0% do total de hospitalizações em ≤ 5 anos) e de 20 a 40 mortes (48).

Existem relatos na literatura mencionando a porcentagem de diarreias por RVA em crianças hospitalizadas antes da introdução da vacina. Em uma revisão de estudos

publicados entre 1986 e 2000, Parashar e colaboradores (2003) descreveram que a proporção de diarreias atribuíveis aos RVA demonstrava uma tendência de aumento diretamente relacionado com o crescimento do nível sócio-econômico; sendo a mediana para países com baixos PIB de 20,0%; países de PIB intermediários de 25,0% e para países com altos PIB de 34,0% (47). Corroborando estes dados, em outro estudo de Parashar et al. (2009) foi descrito que as taxas de detecção de RVA foram maiores em países com menores níveis de mortalidade, quando comparadas a países com alta mortalidade infantil (40).

A vigilância epidemiológica da doença rotavírica tem sido uma recomendação da OMS e, preferencialmente, os países devem estabelecer uma vigilância em hospitais sentinela. Os principais objetivos para o estabelecimento desta rede de vigilância em hospitais sentinela são: coletar dados que facilitarão e irão apoiar na introdução da vacina RVA e, posteriormente à introdução, usar os dados para monitorar o impacto da mesma (49). Em um relatório da OMS de vigilância epidemiológica de diarreias por RVA em hospitais sentinela de 35 países, representando as 6 Regiões da OMS e diferentes níveis sócio-econômicos, uma média de 40,0% (intervalo de 34,0% - 45,0%) dos casos de diarreia hospitalizados foram atribuídos aos RVA (50).

1.3.2 Epidemiologia na América Latina e Caribe (ALC)

A estimativa de carga de doença por RVA na ALC mostra que, antes da introdução da vacina, ocorriam 15.000 mortes, 75.000 hospitalizações, mais de um milhão de visitas aos serviços de saúde e 10 milhões de casos de diarreias por RVA (51). Este dado de mortalidade pode variar, considerando outras estimativas onde foi encontrado que, anualmente, morreriam 47.000 crianças na ALC (10).

Na ALC foi estabelecido, desde 2005, uma vigilância sentinela hospitalar onde são investigados os pacientes ≤ 5 anos hospitalizados por diarreia, segundo definição de casos padronizada no protocolo genérico da OMS (49, 52). Nestes pacientes foram coletadas amostras de fezes para a pesquisa de RVA, utilizando kits de ensaio imunoenzimático (EIE) para o diagnóstico laboratorial. Esta vigilância, promovida pela

Organização Pan Americana da Saúde (OPAS) para a Região das Américas, tem como objetivo que os países tenham uma estimativa da ocorrência da doença antes e depois da introdução da vacina contra RVA. A análise das tendências temporais de detecção de RVA nestes hospitais sentinela é uma das medidas que apoia a avaliação da magnitude da doença nos países, seu perfil epidemiológico, bem como o impacto da vacina. Outro dado que serve a esta vigilância é a caracterização dos genótipos circulantes e suas possíveis variações depois da introdução da vacina (49, 52-56). Esta vigilância foi um pilar fundamental para a realização de estudos de efetividade da vacina em alguns países onde os hospitais sentinela foram fonte para a captação dos casos de RVA nos estudos de caso-controle (57, 58).

Dados da vigilância epidemiológica demonstraram que em 11 países e territórios (Bolívia, Chile, El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicarágua, Paraguai, St. Vincent, Granadinas, Suriname e Venezuela) analisados durante o período 2006 - 2007, a porcentagem mediana de positividade para RVA em amostras de fezes de pacientes hospitalizados foi de 31,5% e 39,0% em 2006 e 2007, respectivamente; e média de 41,0% e 36,0% para os mesmos anos (53). No ano de 2011, a média de positividade para RVA na vigilância de hospitais sentinela em 15 países, que notificam à OPAS, foi de 19,0%, sendo que para este ano vários países já haviam introduzido uma vacina contra RVA (56). Estimativas de uma meta-análise, em países da América Latina, demonstraram taxas de positividade de RVA para pacientes hospitalizados de 29,7%(10).

Assim como já descrito em outros países (36), foi observada uma sazonalidade da doença rotavírica nos países da ALC, com um pico da doença de novembro a março, nos países do hemisfério Norte e de maio a setembro para os países do hemisfério Sul. No entanto, a sazonalidade mais evidente, para este período, foi observada nos países ao Norte da linha do Equador (53).

De Oliveira e colaboradores (2009) estimaram um risco de morte devido à diarreia por RVA de 1 para 2.874 crianças na ALC, representando um total de 3492 mortes anuais nos 10 países onde foi analisada a vigilância epidemiológica de diarreias por RVA em crianças hospitalizadas. Estes dados foram muito similares às estimativas

do ano 2004 da OMS (42, 53). Análises mais recentes, descritas por Linhares e colaboradores (2011) em uma meta-análise mostram que a taxa de mortalidade para 22 países da ALC foi de 88 (IC 95%: 79,3% – 97,1%) por 100.000 crianças \leq 5 anos. Também é importante mencionar que foi encontrada uma prevalência mais alta em pacientes internados que em pacientes ambulatoriais (10).

1.3.3 Vigilância epidemiológica e vigilância de genótipos

Dos genótipos prevalentes globalmente, G1P[8] representa, em geral, a causa primária da doença em humanos. Entretanto, outros genótipos também são responsáveis pela doença e, de uma para outra estação e de um local para outro, os genótipos dos RVA podem mudar. A base epidemiológica para o fenômeno do ciclo dos RVA ainda não é conhecida, mas é extremamente importante para predizer a apropriada composição e eficácia das vacinas (5).

Nos países em desenvolvimento, os genótipos de RVA devido à reestruturação com RVA de origem animal e mesmo entre genótipos humanos, podem ser uma causa frequente de doença em crianças (5). Os tipos G/P de genótipos mostram uma enorme variação de uma região para outra no mundo. Observa-se nos dados de vigilância epidemiológica da OMS de 2010, uma predominância de genótipos como G12P[8] e G12P[6] no sudeste da Ásia; G2P[6], G3P[6] e G1P[6] na região Sub-Saara da África; G1P[4] e G2P[8] no Pacífico Ocidental e G9P[4] nas Américas (59). Dados desta vigilância para o período de Janeiro a Dezembro de 2011 mostraram que as 5 combinações binárias mais detectadas foram: G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] e G9P[8] (60).

Em uma revisão sistemática realizada para o período de 1996 a 2007 com um total de ~110.000 genótipos de RVA de 100 países, foi observado que as combinações binárias prevalentes foram as mesmas que aquelas mencionadas anteriormente, representando 74,7% do total de genótipos estudados; existindo, no entanto, importantes variações geográficas e temporais (27).

Quanto à prevalência de genótipos na ALC, dados da rede de vigilância epidemiológica demonstraram que em 7 países (El Salvador, Guatemala, Guiana, Honduras, Nicarágua, St.Vincent, Granadinas e Suriname) os genótipos prevalentes foram: G1P[8] (32,0%); G9P[8] (20,9%) e G2P[4] (18,3%) no período de 2005 a 2007 (53). Linhares e colaboradores (2011) encontraram na ALC para o período anterior a 2009, que as combinações binárias prevalentes de G e P foram: G1P[8] 17,9% (IC 95%: 12,2% -24,4%); G2P[4] 9,1% (IC 95%: 4,9%-14,5%) e G9P[8] 8,8% (IC 95%:4,1%-15,0%). Individualmente, em relação ao genótipo P, os prevalentes foram: P[8] 56,2% (IC95%: 46,2%-65,9%); P[4] 22,1% (IC 95%: 11,5%-34,9%); em relação ao genótipo G, os mais prevalentes foram: G1 34,2% (IC 95%: 28,1%- 40,5%); G9 14,6% (IC 95%: 8,5% - 22,0%); G2 14,4% (IC 95%: 10,4% - 18,8%) (10).

1.4 Vacinas de rotavirus do grupo A

Desde os anos 1970 varias tentativas de formulação de uma vacina contra o RVA foram realizadas (61). Em 1979, a OMS estabeleceu que as diarreias causadas por RVA são uma importante causa de morbidade e mortalidade na população infantil no mundo e que, portanto, deveria haver um esforço para o desenvolvimento de medidas imunoproláticas para diminuir a carga da doença e mortalidade causadas por estes vírus (8).

1.4.1 RRV-TV

A primeira vacina licenciada foi a RotaShield™ (RRV-TV) do laboratório Wyeth Lederle Vaccines (8). Esta vacina tinha uma composição tetravalente (G1-G4), de vírus modificado geneticamente, para uso oral e durante os ensaios clínicos realizados na América do Norte, América do Sul e Europa demonstrou eficácia e segurança (61). Foi licenciada pelo *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA e recomendada pelo *Advisory Commitee on Immunization Practices* (ACIP) em Fevereiro de 1998 para

prevenir diarreias por RVA em um esquema de 3 doses (2, 4 e 6 meses), sendo incluída no esquema regular de vacinação dos EUA (61).

No entanto, em Julho de 1999 o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) recomendou a suspensão do uso desta vacina pelos profissionais de saúde em resposta à ocorrência de 15 casos de invaginação intestinal entre crianças que haviam recebido a vacina RRV-TV. O sistema de notificação de eventos adversos a vacinas dos EUA (*Vaccine Adverse Event Reporting System* - VAERS) monitorou os eventos adversos seguidos ao licenciamento da vacinas e depois da suspensão do uso da mesma no houve casos adicionais notificados (62).

1.4.2 Vacinas contra rotavirus do grupo A atualmente disponíveis

Existem duas vacinas orais contra RVA disponíveis no mercado internacional e com a seguinte composição: a) monovalente (G1P8), de vírus atenuado, comercializada com o nome de Rotarix™ (GlaxoSmithKline); b) pentavalente (G1-G4, P8) de RVA geneticamente modificado com o nome comercial de Rotateq™ (Merck). Existem outras duas vacinas, Lanzhou, produzida pelo Instituto de Produtos Biomédicos Lanzhou da China e Rotavin-M1 produzida pelo Polyvac no Vietnã. Estas últimas vacinas não são disponíveis para o mercado internacional e, portanto, não serão objeto da descrição a seguir.

1.4.3 Vacina Monovalente

A amostra viral da vacina Rotarix™ (RV1) foi obtida de fezes de uma criança com diarreia branda por RVA, se replica bem no intestino e é excretada nas fezes. O genótipo caracterizado foi o (P1A[8], G1) e o vírus foi atenuado por 43 passagens e, posteriormente, clonado e, em seguida, adaptado à cultura de células Vero, como preconizado pela OMS, recebendo o nome de RIX 4414. A vacina é de administração oral, com um esquema de duas doses, sendo a primeira aplicada entre 6 e 14 semanas

de idade e a segunda com um intervalo mínimo de 4 semanas depois da primeira dose. Segundo recomendações do laboratório produtor a segunda dose da vacina deve ser aplicada no máximo em crianças de até 32 semanas (63).

Os primeiros ensaios clínicos foram realizados na Finlândia demonstrando segurança, imunogenicidade e eficácia. A vacina então foi testada em países da América Latina (AL) e na Ásia, apresentando uma eficácia de 70,0% - 85,0% contra qualquer diarreia por RVA e de 85,0% - 93,0% contra diarreias graves por RVA. Resultados adicionais demonstraram uma eficácia de 83% (IC 95%: 40,0%-97,0%) contra genótipos não G1 que foram predominantemente G9. Também demonstrou ser uma vacina segura apresentando eventos adversos leves que não diferiram entre receptores da vacina e receptores de placebo (63).

Nos ensaios clínicos realizados na Finlândia e AL foram recrutadas 63.225 infantes e os resultados demonstraram uma diminuição de 42% (IC 95%: 29,0%-53,0%) nas hospitalizações por diarreias por qualquer etiologia. Os indivíduos que participaram do ensaio clínico foram acompanhados por varias semanas após a administração da primeira dose (mediana de 100 dias) e não foi evidenciado um aumento de risco de intussuscepção para os receptores de vacina (63). Esta vacina teve uma abordagem de licenciamento inovador. Normalmente uma vacina é licenciada em seu país de origem, mas neste caso a vacina foi primeiramente licenciada no México em 2004, posteriormente, em outros países e na União Européia (64).

1.4.4 Vacina pentavalente

A vacina RotateqTM (RV5) foi preparada a partir de uma amostra de RVA de origem bovina (WC3 genótipo GXPY). No laboratório este genótipo foi geneticamente modificado e foram incorporados os genótipos G1-G4 e P8 de origem humana na amostra WC3 bovina. Apresenta um nível de replicação e excreção inferior a Rotarix (65). A Rotateq mostrou uma eficácia variável em diversos ensaios clínicos nos EUA, China e África. Para melhorar a eficácia da vacina contra diversidades de genótipos,

foram preparados genótipos reestruturadas, contendo 10 genes de cepa bovina e um gene (G) individual de cada um dos genótipos humanos mais prevalentes: G1, G2, G3, G4 e [P8] que foram combinados em uma vacina pentavalente. Esta vacina foi formulada em apresentação líquida com um esquema de 3 doses, iniciando a partir de 6 semanas de idade, com um intervalo mínimo de 4 semanas (66).

Esta formulação foi avaliada em mais de 70.000 infantes, principalmente nos EUA e Finlândia, mas também em alguns países da América do Sul, Europa e Ásia. Os ensaios clínicos da vacina pentavalente demonstraram uma eficácia de 94,5% (IC 95%:92,2% - 96,6%) para os casos de gastroenterite por RVA (genótipos G1 - G4) em hospitalizações e emergência. Em um estudo satélite de caso-controle aninhado, foi encontrada uma eficácia de 74, 0% (IC 95%: 66,8% - 79,9%) para qualquer caso de RVA G1 - G4 durante o pico de sazonalidade da doença e 98,0%(IC 95%: 88,3% - 100%) para casos de diarreia grave por RVA G1 - G4. A vacina reduziu as visitas clínicas para os casos de RVA G1 - G4 em 86,6% (IC 95%: 73,9 – 92,5). Casos de intussuscepção (IS) foram monitorados intensamente após os primeiros 42 dias do recebimento da vacina e o risco foi similar entre vacinados e indivíduos que receberam placebo (66). A vacina foi licenciada nos EUA, pelo FDA, em Fevereiro de 2006 e recomendada para o uso na rotina de vacinação pelo Comitê Assessor de Práticas de Imunização (ACIP- *Advisory Committee on Immunization Practices*) do Centro de Controle de Doenças (CDC-*Centers for Disease Control and Prevention*) (67).

As vacinas monovalente e pentavalente mostraram uma alta eficácia em prevenir diarreia grave por RVA e seguras quanto à possibilidade de associação com invaginação intestinal (IS) (68). As duas vacinas foram pre-qualificadas pela OMS em Janeiro de 2007 e Agosto de 2008, respectivamente (69, 70). Em agosto de 2007 a OMS publicou um *position paper* onde recomendava fortemente a inclusão da vacina contra rotavírus nos programas nacionais de imunização na América Latina, Europa e Estados Unidos onde havia sido demonstrado, através dos ensaios clínicos, que a vacina é eficaz e que, portanto, teria um alto impacto em saúde pública. Os países que tomassem a decisão de introduzir a vacina também deveriam avaliar a existência de infraestrutura e financiamento apropriados para a introdução de uma nova vacina. A

decisão de introdução da vacina em países em desenvolvimento precisaria considerar temas como custo-efetividade, capacidade de compra da vacina com os preços estabelecidos, impacto no orçamento do programa e aspectos operacionais. As recomendações de esquemas e intervalo de doses, bem como limites de idade foram segundo as prescrições dos laboratórios produtores (71).

A vacina monovalente (RV1) foi recomendada para ser administrada em um esquema de duas doses por via oral em crianças entre 2 e 4 meses de idade, sendo que a primeira dose poderia ser aplicada a partir de 6 semanas e não deveria ser administrada após 12 semanas. O intervalo mínimo entre as doses deveria ser de 4 semanas e a última dose ser aplicada, no máximo, quando a criança tivesse 24 semanas de idade (72).

A vacina pentavalente (RV5) foi recomendada em uma esquema de 3 doses nas idades de 2, 4 e 6 meses por via oral, sendo que primeira dose poderia também ser administrada entre 6 e 12 semanas no máximo, com um intervalo de 4 a 10 semanas entre as doses, sendo que a última dose não poderia ser aplicada após 32 semanas (71).

Dado que neste momento não havia estudos nem vigilância pós-comercialização utilizando ambas vacinas e havendo um potencial risco de IS associada às mesmas, foram recomendadas estas restrições de idade e também foi recomendado que não se deveria realizar campanhas de vacinação (71).

Em abril e outubro de 2009, o Grupo Consultor Estratégico de Expertos da OMS (*Strategic Advisory Group of Experts - SAGE*) em imunizações revisou as novas informações dos ensaios clínicos realizados na Ásia e África e os dados de estudos de impacto em El Salvador, Nicarágua e EUA. O Comitê Consultor Global de Segurança de Vacinas da OMS (*GACVS- Global Advisory Committee on Vaccine Safety*) também revisou dados já disponíveis sobre a segurança das vacinas contra rotavirus. Isto originou uma atualização das recomendações de 2007 em um novo *position paper* publicado em Dezembro de 2009 (72).

Estas novas recomendações da OMS incluíam que a vacina deveria ser introduzida nos programas nacionais de imunizações em todos os países onde a diarreia representasse $\geq 10,0\%$ da mortalidade em crianças. Também revisou a recomendação das idades limites para aplicação das vacinas, sendo que a primeira dose de ambas as vacinas, poderia ser aplicada entre 6-15 semanas e a última dose até 32 semanas (72). Neste momento, já havia estudos referentes à imunogenicidade da vacina oral contra poliovírus (VOP), quando aplicada simultaneamente com a vacina contra rotavirus, demonstrando que não havia uma importante interferência (73, 74). É recomendado que as duas doses da vacina contra rotavirus monovalente sejam aplicadas com as duas doses de pentavalente (Difteria, Tétano, Coqueluche, *Haemophilus influenzae* B e Hepatite B) ou DTP (Difteria, Tétano e Coqueluche). Isto assegura uma cobertura da vacina contra rotavirus em idades mais precoces e reduz o risco potencial de aplicá-la fora do período de idade preconizado. Outro dado importante revisado pelo GACVS foi que a vacina contra rotavirus não afeta o estado clínico das crianças infectadas com o vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1 e criança nascida de mulher soropositiva para VIH-1) (72).

Em Janeiro de 2013 a OMS publicou novas recomendações baseadas em novas evidencias principalmente no que se refere à extensão dos limites de idade para a administração da vacina de rotavirus. Este *position paper* substitui os anteriores e foram recomendações do SAGE. O objetivo fundamental destas novas recomendações foi aperfeiçoar os esquemas de vacinação e não perder a oportunidade de vacinar crianças em risco para a doença diarreica grave por rotavirus. Previamente, a indicação da OMS limitava a primeira dose de vacina a 15 semanas de vida, o que excluía um número substancial de crianças de receber a vacina, principalmente em países de menores PIB, onde muitas vezes os esquemas de vacinação começam em períodos mais tardios. Nesta nova recomendação, a vacina de rotavirus deve ser aplicada, quando forem aplicadas as doses de DTP1 e DTP2 nos menores de 24 meses de idade. No entanto, a OMS continua recomendando que a primeira dose da vacina de rotavirus deve ser aplicada o mais breve possível, a partir das 6 semanas de idade para assegurar a proteção contra as formas de diarreia grave por RVA. Outra recomendação referiu-se que as vacinas de RVA devem ser administradas

simultaneamente com todas as outras vacinas do esquema de imunizações recomendado nos países (18).

O GTA da OPAS durante a reunião de outubro de 2012, também recomendou que a aplicação desta vacina poderia ser em idades mais tardias que as anteriormente fixadas. Esta recomendação deve ser para as crianças que vivem em lugares de difícil acesso e onde exista um maior risco de mortalidade. No entanto, o GTA recomenda que a vacina deva ser administrada o mais precocemente possível (75).

Ambas as mudanças nos esquemas de idade foram baseadas em modelos que estimaram que, quando a vacina é aplicada com restrição de idade, são prevenidas 115.800 (83.000 – 217.000) mortes por rotavirus; enquanto causariam 253 (76 - 689) mortes por IS. A vacinação sem a restrição de idade preveniria 203.000 (102.000 – 281.500) mortes por rotavirus; enquanto estaria associada a 547 (237 - 1160) mortes por IS. Este modelo prediz que se modificando a restrição de idade seriam prevenidas, adicionalmente, 47.200 (18.700 – 63.000) mortes por rotavirus e, adicionalmente, ocorreriam 294 (161 - 471) mortes por IS. Assim sendo, representaria um aumento do benefício - risco de 154 mortes evitadas para cada morte causada pela IS associada à vacina. Assim, em países de baixo e médio PIB o número adicional de vidas salvas removendo-se a restrição de idade para a aplicação da vacina contra rotavirus seria muito maior do que o excesso de casos IS causados pela vacina (72, 76-78).

É importante que os países que introduzam a vacina de rotavirus monitorem a ocorrência de IS para garantir a segurança da vacina nos programas de imunização (78). Jiang e colaboradores (2013) realizaram uma revisão da informação publicada sobre as taxas de incidência de IS em nível global desde 2002 e encontraram que a média de incidência é 74 por 100.000 (intervalo: 9 - 328) entre crianças <1 ano de idade com um pico de incidência nas crianças entre 5 e 7 meses de idade (69).

1.5 Introdução da vacina contra rotavirus na ALC

Em 2006, ano de licenciamento das vacinas monovalente e pentavalente de rotavirus, 6 países da AL introduziram uma destas vacinas na rotina dos programas

nacionais de imunização: Brasil, El Salvador, México, Nicarágua, Panamá e Venezuela. Foi a primeira vez na história dos programas de imunização que países em desenvolvimento introduzem uma nova vacina ao mesmo tempo em que os países desenvolvidos; pois neste mesmo ano os EUA introduziram a vacina pentavalente (54).

Embora houvesse recomendações da OMS e OPS com relação à implementação da vigilância epidemiológica sentinela de rotavírus, anteriormente à introdução de uma vacina de rotavírus (49, 56), neste momento nenhum dos países havia implementado esta vigilância, demonstrado que outros fatores influenciaram para a introdução da mesma; incluindo publicações locais sobre esta doença (79).

Até Maio de 2014, 16 países e um território da ALC incluíram uma destas vacinas nos seus calendários de vacinação de rotina para os menores de um ano. Em 2006, como mencionado anteriormente: Brasil, El Salvador, México, Nicarágua, Panamá e Venezuela; em 2007 Equador; em 2008 Bolívia; em 2009 Colômbia, Honduras, Peru e Ilhas Caiman; em 2010 Guatemala, Guiana e Paraguai; em 2012; República Dominicana e em 2014 Haiti (80). Em 2014 todos os países da ALC utilizam a vacina monovalente à exceção do México e Ilhas Caiman. Guiana e Nicarágua usaram a vacina pentavalente até o ano de 2013, e em 2014 começaram um processo de transição da vacina pentavalente para monovalente (80).

A inclusão destas vacinas nestes países representa que, aproximadamente, 80,0% da coorte de nascidos vivos da ALC está em países onde a vacina de rotavírus faz parte do calendário básico de vacinação, considerando dados populacionais de 2011. No entanto, as coberturas vacinais são heterogêneas entre países e dentro das diferentes áreas geográficas de um mesmo país. Dados de cobertura vacinal para rotavírus em menores de um ano notificados à OPAS em 2013 demonstram uma média de 82,0% para AL variando entre 100,0% no Equador e Nicarágua a 72,0% no Paraguai (81).

1.5.1 Introdução da vacina conjugada de pneumococo e rotavirus na ALC

Ainda que não seja objeto deste estudo, é importante mencionar que o processo de introdução das vacinas de rotavirus foi acompanhado paralelamente à introdução da vacina de pneumococo conjugada (VPC) a partir do ano 2008 no calendário nacional de imunização para crianças menores de um ano. À diferença da vacina de rotavirus, a introdução da VPC ocorreu nos países da ALC vários anos depois do seu licenciamento o qual ocorreu no ano 2000, sendo que a OMS recomendou sua inclusão nos programas de imunizações em 2007, quando já estava licenciada em mais de 70 países. Naquele momento a vacina disponível no mercado era a VPC 7 (82).

No continente americano a vacina VPC foi introduzida no ano 2000 nos Estados Unidos; em 2002 no Canadá e em 2003 nas Bermudas. A partir do ano 2008 esta vacina começa a ser incorporada pelos países da ALC de forma acelerada. Atualmente, 26 países e territórios da ALC introduziram as novas vacinas de pneumococo conjugadas, VPC 10 valente ou VPC 13 valente (2008: Costa Rica, México, Uruguai, Guiana Francesa; 2009: Peru, Barbados, e Ilhas Caiman; 2010: Aruba; Brasil, Equador, El Salvador, Panamá e Nicaragua; 2011: Honduras, Guiana, Chile, Colômbia e Curaçau; 2012: Argentina, Bahamas, Guatemala, Paraguai, Trinidad e Tobago; 2013 República Dominicana e 2014: Bolívia (80). Muitos países introduziram as duas vacinas no mesmo ano ou em anos subsequentes o que também gerou lições aprendidas, principalmente logísticas e programáticas, quanto à introdução de mais de uma vacina no calendário de imunizações em breves períodos (79).

2. Justificativa

A doença rotavírica é umas das principais causas de morbidade e mortalidade relacionadas à diarreia em crianças no mundo afetando, principalmente, aquelas crianças ≤ 5 anos. Como já mencionado, antes da introdução da vacina, esta doença causava aproximadamente 453.000 mortes anualmente em todo o mundo, das quais 80,0% ocorrem em países em desenvolvimento (41). Na ALC, estima-se que ocorriam 15.000 mortes e 75.000 hospitalizações relacionadas à diarreia por rotavirus, anualmente, em crianças de idade antes da introdução das vacinas de rotavirus (51).

A OMS recomenda a introdução destas vacinas nos programas de imunizações, pois tanto a vacina monovalente G1 [P8], como a vacina pentavalente G1, G2, G3, G4 [P8] apresentaram resultados significativos de eficácia nos ensaios clínicos em diferentes países e regiões do mundo (63, 66), conforme abordado anteriormente com maiores detalhes.

Dados de Maio de 2014 indicam que, dos 194 países que compõe a OMS, 60 introduziram uma destas vacinas em nível universal para os menores de um ano de idade. Destes 60 países, 16 (28%) estão na região da ALC (83).

Os países da ALC e os EUA foram os primeiros países a introduzir esta vacina nos programas nacionais de imunização em 2006, ano no qual estas vacinas foram licenciadas. Naquele ano 6 países da América Latina introduziram esta vacina no seu esquema nacional de vacinação em menores de um ano: Brasil, El Salvador, México, Nicarágua, Panamá e Venezuela. Para o ano 2014, como referido anteriormente, 16 países e um território já haviam incorporado esta vacina nos programas nacionais de vacinação, incluindo uma ilha do Caribe: Equador (2007), Bolívia (2008), Colômbia, Honduras, Peru e Ilhas Caiman (2009), Guatemala, Guiana e Paraguai (2010), República Dominicana (2012) e Haiti (2014) além dos seis países anteriormente citados (55, 84).

Nos países latino-americanos, desde a introdução de uma destas vacinas, vários estudos de impacto e efetividade foram realizados, demonstrando que as vacinas são efetivas, principalmente para as diarreias graves que, em geral, implicam em hospitalizações e mortes. No entanto, estes estudos demonstraram diminuição nas hospitalizações e mortalidade em crianças com uma grande variação na magnitude do efeito protetor das vacinas, inclusive, quando se compara o efeito das duas diferentes vacinas que atualmente estão disponíveis (57, 58, 85-90).

É importante mencionar que as vacinas contra rotavirus, quando comparadas às vacinas anteriormente utilizadas nos programas de imunizações, são muito mais caras, sendo que o custo de um esquema completo de vacinação de rotavirus é de aproximadamente U\$ 15,00 para as vacinas monovalente (2 doses) e pentavalente (3 doses). Este valor representava, no ano de 2006, 97,3% do custo total de vacinas utilizadas nos programas de rotina de imunizações (Difteria, Tétano, Coqueluche, Hepatite B, *Haemophilus influenzae* B, OPV, BCG, sarampo-rubéola-caxumba) (54).

Outro ponto importante a ser considerado é o fato de que, atualmente, existem outras novas vacinas que também estão disponíveis para serem introduzidas nos programas nacionais de imunização como a vacina de pneumococo conjugada, varicela, hepatite A, influenza, e, considerando outros grupos de idade, estão disponíveis a vacina de vírus do papiloma humano (VPH), hepatite B em adolescentes, influenza e pneumococo polissacarídica em adultos, entre outras novas vacinas que estarão disponíveis em um futuro próximo. Isto representa um importante gasto financeiro para os governos, tornando imperativo que as decisões de introdução de novas vacinas estejam baseadas em evidências que fundamentem este gasto.

Considerando que um grande número de países já introduziu a vacina contra RVA estão na ALC e que os países desta região foram os primeiros a introduzi-la, gerando muitas lições aprendidas sobre a introdução de novas vacinas e dados sobre o impacto da mesma, justifica-se que, após oito anos de sua introdução, seja avaliado sistematicamente o processo de introdução destas vacinas e seja estimada para a ALC uma medida sumária de efetividade destas vacinas em relação a seu esquema completo ou incompleto; nas diferentes idades, ou seja, em crianças de 6 a 12 meses e

nos maiores de 12 meses e também em relação a outras variáveis que possam ser mensuradas. Também é importante mencionar que, do nosso conhecimento, não existe nenhum outro estudo que avalie os aspectos relacionados à introdução das vacinas RVA e que realize uma revisão sistemática e meta-análise estimando a efetividade destas vacinas na ALC até esta data. Além disto, este estudo poderá discutir as heterogeneidades encontradas nos estudos de impacto das diferentes vacinas, uma vez que a eficácia das mesmas nos ensaios clínicos foi bastante alta enquanto nos estudos de efetividade, além de serem mais baixas, apresentaram variações nos seus resultados.

Outro ponto a ressaltar são os Objetivos de Desenvolvimento do Milênio das Nações Unidas (ODM), assinadas pelos países em setembro de 2000. Esta é uma importante diretriz que está sendo utilizada pelos governos em saúde pública e a Meta do Milênio número 4 estabeleceu uma redução de dois terços na mortalidade em crianças ≤ 5 anos no período de 1990 a 2015. Considera-se que 75,0% das causas de mortalidade neste grupo de idade são por causas neonatais, pneumonias, diarreias, malária, sarampo e o vírus da imunodeficiência humana (VHI-1) /Síndrome da deficiência adquirida (SIDA).

O presente estudo acoplará uma avaliação sistemática do processo de introdução das vacinas RVA baseada em uma análise qualitativa observacional, um estudo de efetividade em um país latino-americano e uma revisão sistemática e meta-análise para estimar a efetividade em crianças ≤ 5 anos na ALC. As conclusões deste estudo poderão apoiar as decisões quanto à introdução de uma vacina contra RVA nos outros países ALC e justificar sua introdução em países de outras regiões do mundo que ainda não a utilizam nos programas públicos de vacinação.

3. Objetivos

3.1 Objetivo geral:

Avaliar o processo de introdução das vacinas de rotavirus e sua efetividade nas hospitalizações por diarreias rotavíricas em crianças ≤ 5 anos em um período de oito anos na ALC.

3.2 Objetivos específicos:

1. Analisar sistematicamente o processo de introdução de novas vacinas, com foco nas vacinas RVA, em cinco países da América Latina.
2. Avaliar a efetividade da vacina contra RVA monovalente nas hospitalizações por diarreia nas crianças < 3 anos na Bolívia.
3. Estimar a efetividade das vacinas contra RVA nas hospitalizações por diarreia nas crianças ≤ 5 anos, segundo as diferentes vacinas, número de doses, gravidade da doença e epidemiologia dos genótipos de RVA circulantes na ALC.

4. Considerações Éticas

O estudo caso-controle sobre efetividade da vacina monovalente na Bolívia foi aprovado pelo escritório de sujeitos humanos do *Centers for Diseases Control and Prevention* (CDC) pelo comitê de ética da OPAS e pelo Comité Nacional de Bioética Boliviano. Os coordenadores de vigilância epidemiológica obtiveram consentimento informado dos pais ou responsáveis legais das crianças que participaram do estudo.

Os dois outros estudos, documentação sistemática da introdução de novas vacinas em países selecionados da América Latina e a revisão sistemática com meta-análise sobre estudos de impacto da vacina contra RVA não necessitaram ser submetidos a comitês de ética por não envolverem diretamente sujeitos humanos.

5. Metodologia

A descrição dos métodos e os resultados estão inseridos nos artigos I, II e III.

5.1 Artigo I

Título: *Systematic documentation of new vaccine introduction in selected countries of the Latin American Region.*

Periódico: Vaccine 31S(2013) C114-C122doi: 10.1016/j.vaccine.2013.06.022 (acesso livre).

Autores: **Lúcia Helena de Oliveira**, Cristiana M. Toscano, Jennifer Sanwogou, Cuauhtemoc Ruiz-Matus, Gina Tambini, Mirta Roses-Periago, Jon K. Andrus.

O artigo faz uma avaliação observacional qualitativa sistemática da introdução de novas vacinas, incluindo a vacina de RVA, em cinco países da América Latina. Foram avaliados os processos de toma de decisão, documentada a estrutura estabelecida nos países e revisados os fatores chave relativos à introdução da vacina. Estes fatores incluíram dados nacionais sobre mortalidade e morbidade antes da introdução da vacina, fontes de financiamento, mecanismos para introduzi-la, desafios na sua implementação e na avaliação do impacto da mesma.



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Vaccine

journal homepage: www.elsevier.com/locate/vaccine

Review

Systematic documentation of new vaccine introduction in selected countries of the Latin American Region

Lúcia H. de Oliveira^{a,*}, Cristiana M. Toscano^b, N. Jennifer Sanwogou^a, Cuauhtémoc Ruiz-Matus^a, Gina Tambini^c, Mirta Roses-Periago^d, Jon K. Andrus^e^a Comprehensive Family Immunization Project, Pan American Health Organization, Washington, DC, USA^b Department of Community Health, Institute of Tropical Pathology and Public Health, Federal University of Goiás, Goiânia, Goiás, Brazil^c Family and Community Health, Pan American Health Organization, Washington, DC, USA^d Director, Pan American Health Organization, Washington, DC, USA^e Deputy Director, Pan American Health Organization, Washington, DC, USA

ARTICLE INFO

Article history:

Received 31 July 2012

Received in revised form 30 April 2013

Accepted 8 May 2013

Keywords:

Immunization programs

Evidence-based decision making

Immunization policy

New vaccines

Rotavirus vaccine

Pneumococcal conjugate vaccines

ABSTRACT

Background: Countries in Latin America were among the first developing countries to introduce new vaccines, particularly rotavirus (RV) and pneumococcal conjugate vaccines (PCVs), into their national immunization schedules. Experiences and lessons learned from these countries are valuable to donors, immunization partners, and policy makers in other countries wishing to make informed decisions on vaccine introduction.

Objectives: In order to enhance knowledge and promote understanding of the process of new vaccine introduction in the Latin American Region, with particular focus on RV and PCV, we conducted a systematic qualitative assessment. We evaluated the decision-making process, documented the structure in place, and reviewed key factors pertaining to new vaccine introduction. These include country morbidity and mortality data available prior to vaccine introduction, funding sources and mechanisms for vaccine introduction, challenges of implementation, and assessment of vaccine impact.

Methods: From March 2010 to April 2011, we evaluated a subset of countries that had introduced RV and/or PCV in the past five years through interviews with key informants at the country level and through a systematic review of published data, gray literature, official technical documents, and country-specific health indicators. Countries evaluated were Bolivia, Brazil, Nicaragua, Peru, and Venezuela.

Results: In all countries, the potential of new vaccines to reduce mortality, as established by Millennium Development Goal 4, was an important consideration leading to vaccine introduction. Several factors—the availability of funds, the existence of sufficient evidence for vaccine introduction, and the feasibility of sustainable financing—were identified as crucial components of the decision-making process in the countries evaluated.

Conclusions: The decision making process regarding new vaccine introduction in the countries evaluated does not follow a systematic approach. Nonetheless, existing evidence on efficacy, potential impact, and cost-effectiveness of vaccine introduction, even if not local data, was important in the decision making process for vaccine introduction.

© 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Contents

1. Introduction	C115
2. Objectives	C115
3. Methods	C115
4. Results	C117
4.1. Bolivia	C117
4.1.1. EPI structure	C117
4.1.2. Disease burden data pre-introduction	C117

* Corresponding author at: c/o PAHO, 525 23rd Street NW, Washington, DC 20037, USA. Tel.: +1 202 974 3753; fax: +1 202 974 3635.
E-mail address: oliveir@paho.org (L.H. de Oliveira).

4.1.3.	Vaccine introduction	C117
4.1.4.	Financing and purchase	C118
4.1.5.	Implementation challenges	C118
4.1.6.	Vaccine impact evaluation	C118
4.2.	Nicaragua	C119
4.2.1.	EPI structure	C119
4.2.2.	Disease burden data pre-introduction	C119
4.2.3.	Vaccine introduction	C119
4.2.4.	Financing and purchase	C119
4.2.5.	Implementation challenges	C119
4.2.6.	Vaccine impact evaluation	C119
4.3.	Brazil	C120
4.3.1.	EPI structure	C120
4.3.2.	Disease burden data pre-introduction	C120
4.3.3.	Vaccine introduction	C120
4.3.4.	Vaccine production and technology transfer	C120
4.3.5.	Financing and purchase	C120
4.3.6.	Implementation challenges	C120
4.3.7.	Vaccine impact evaluation	C120
4.4.	Peru	C120
4.4.1.	EPI structure	C120
4.4.2.	Disease burden data pre-introduction	C120
4.4.3.	Vaccine introduction	C120
4.4.4.	Financing and purchase	C120
4.4.5.	Implementation challenges	C120
4.4.6.	Vaccine impact evaluation	C121
4.5.	Venezuela	C121
4.5.1.	EPI structure	C121
4.5.2.	Disease burden data pre-introduction	C121
4.5.3.	Vaccine introduction	C121
4.5.4.	Financing and purchase	C121
4.5.5.	Implementation challenges	C121
4.5.6.	Vaccine impact evaluation	C121
5.	Discussion	C121
6.	Conclusion	C121
	Conflict of interest	C121
	Acknowledgments	C121
	Appendix A. Supplementary data	C121
	References	C121

1. Introduction

One hallmark of the twenty-first century is the development and availability of new vaccines. In January 2006, two new human oral vaccines against rotavirus (RV) were licensed and made available [1,2]. The World Health Organization's (WHO) Strategic Advisory Group of Experts (SAGE) has recommended RV introduction in all National Expanded Programs on Immunization (EPI) where diarrheal deaths account for more than 10% of mortality among children aged less than 5 years (<5 y). In 2000, a heptavalent pneumococcal conjugate vaccine (PCV7) was licensed, with 10-valent (PCV10) and 13-valent (PCV13) PCVs made available in 2009 and 2010. SAGE has also recommended the introduction of PCVs, especially in countries with high child mortality [3,4].

Countries in the Latin American and the Caribbean (LAC) Region were among the first developing countries to introduce RV and PCV into their EPIs. In 2006, LAC Ministries of Health passed a resolution at the Pan American Organization (PAHO) calling upon Member States to mobilize additional resources to introduce new vaccines, while requiring PAHO to support countries in obtaining the evidence necessary to make informed decisions on vaccine introduction. Both RV and PCV were considered priority new vaccines for the Region [5].

As of June 2012, 15 countries and one territory in LAC had introduced RV and 21 countries and five territories had introduced PCV into their immunization schedules [6].

These vaccines are important for achieving Millennium Development Goal 4 (MDG4), which aims for a two-thirds reduction in mortality for children <5 y by 2015 [7]. Thus, countries must make informed decisions regarding the introduction of new vaccines [8].

2. Objectives

We conducted an evaluation of the process of new vaccine introduction in the Latin American (LA) Region focusing on RV and PCV. Our objectives were to enhance the understanding of the process of new vaccine introduction and to share lessons learned with other countries considering the introduction of new vaccines. Below, we provide a summary of lessons learned and offer recommendations for donors, immunization partners, and policy makers in countries wishing to make informed decisions on vaccine introduction.

3. Methods

We conducted an observational qualitative study, based on a systematic assessment of the process of new vaccine introduction in five countries (Bolivia, Brazil, Nicaragua, Peru, and Venezuela).

Criteria for making decisions on new vaccine introduction include political, technical, and programmatic aspects associated with the introduction (Fig. 1) [9,10]. The following criteria were assessed: EPI structure, morbidity and mortality data available

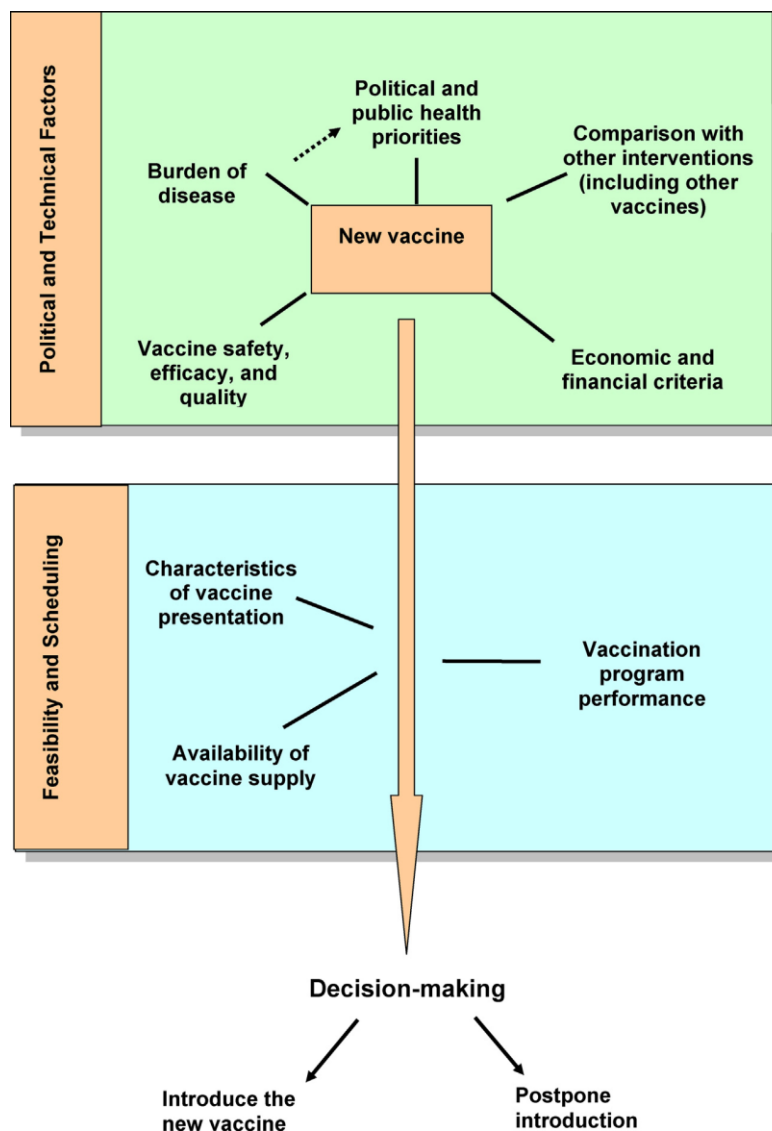


Fig. 1. Decision-making criteria for new vaccine introduction.

prior to vaccine introduction, introduction process, funding, challenges of implementation, and impact assessment.

To highlight the diversity of experiences in the LA Region, we selected five countries that had introduced RV and/or PCV as case studies. Countries were chosen based on select variables (Table 1). All countries agreed to participate in the assessment providing official government authorization.

Demographic and socioeconomic indicators of countries assessed are presented in Table 2.

The study was conducted from March 2010 to February 2011. We first reviewed published data, gray literature, and official country-specific health indicators (Table 3). We then conducted interviews with key informants at the country level, using standardized piloted questionnaires (online annex).

In each country, we conducted an average of 10 interviews addressing select issues (Table 4).

Two investigators reviewed and summarized all data. Findings were compiled for each country, aggregated for the Region, and

Table 1
Vaccine introduced, year of introduction and criteria for country selection. Assessment of new vaccine introduction in the Americas, 2010–2011.

Country	Vaccine introduced, year	Variable considered for country selection
Bolivia	Rotavirus vaccine, August 2008	GAVI country Surveillance in place prior to vaccine introduction
Brazil	Rotavirus vaccine, March 2006	Technology transfer agreements in place for vaccine introduction
Nicaragua	Rotavirus vaccine, October 2006	Surveillance in place prior to vaccine introduction
Peru	Rotavirus vaccine and 7-valent conjugate pneumococcal vaccine, 2009	Joint introduction of two new vaccines
Venezuela	Rotavirus vaccine, April 2006	Surveillance in place prior to vaccine

Table 2
Selected country demographic and socioeconomic indicators for Bolivia, Brazil, Nicaragua, Peru, and Venezuela.

	Bolivia 2007	Brazil 2005	Nicaragua 2005	Peru 2007	Venezuela 2005
Basic demographic indicators					
Total population (thousands)	9524	186,075	5455	28,508	26,726
Population < 5 years (thousands)	986	13,967	535	2373	2280
Population < 1 year (thousands)	254	3343	134	600	584
Proportion of urban population (%)	65	84	56	76	92
Proportion of rural population (%)	35	16	44	24	8
Life expectancy at birth (years)	65	72	72	73	73
Total fertility rate (child/woman)	4	2	3	3	3
Crude birth rate (per 1000 pop)	28	18	25	21	22
Ethnic distribution (%)	Quechua: 31% Aymara: 25% Guarani: 6% Euro/mixed: 38%	Mulattos & Blacks: 49.6% White: 49.4%	Indigenous/Afro descendants: 15% Mestizos: 85%	Amerindian: 45% Mestizo: 35% African decent: between 6 and 10% Japanese/Chinese/other: 3%	Indigenous: 2.3% Mestizos/Mulattos/Zambo: 75%
Basic socioeconomic indicators					
Current GNI ^a per capita (US\$)	1190	3970	890	3340	
GDP ^b per capita (international PPP adjusted US\$)	4015	8505	2314	7676	4950
Annual GDP growth rate (%)	0	3	4	9	9924
Annual Public National Health Expenditure as a proportion of GDP (%)	2	4	4	2	10
Annual Private National Health Expenditure as a proportion of GDP (%)	3	2	4	2	4
HDI ^c Index	Medium	Medium	Medium	High	High
Annual death average (thousands)	72.81	136	26	154	136
Crude death rate (per 1000 pop)	8	5	5	5	5
Under 5 mortality estimated (per 1000 live births)	62	23	28	24	23

^a Gross National Income.

^b Gross National Product.

^c Human Development Index.

discussed among a group of economists, immunization experts, epidemiologists, and national EPI managers.

4. Results

The main issues identified are summarized in Table 5.

4.1. Bolivia

4.1.1. EPI structure

Established in 1979, the EPI in Bolivia is funded by the government treasury, with additional support from international and non-governmental organizations (NGOs), and bilateral cooperation agencies. A vaccine law ensuring specific EPI budgetary funding line from the national treasury was recently issued.

4.1.2. Disease burden data pre-introduction

Acute diarrheal disease in children <5 y is a notifiable disease and the main cause of death and hospitalization in this age group. In 2004, the WHO estimated that diarrhea caused 4% of the total 18,117 deaths in children <5 y in Bolivia [11].

Bolivia was among the first countries in the Region to initiate sentinel surveillance for diarrheal disease in 2005. The country estimated rotavirus disease burden based on data from acute diarrheal disease and rotavirus sentinel surveillance systems, and on estimates of rotavirus in non-hospitalized diarrhea cases from the international literature.

Prior to RV introduction, cost-of-illness [12,13] and cost-effectiveness studies [14] were conducted. The country used local data to make the case for vaccine introduction. The process was transparent and technical. Discussions began in 2003 and reached high political levels after 2006.

4.1.3. Vaccine introduction

Making national authorities aware of new vaccine introduction was a crucial process that involved various partners, including officials from academia, the Immunization Interagency Coordinating Committee (ICC), and the Bolivian National Immunization Technical Advisory Group (NITAG).

RV was introduced in August 2008. Several challenges were encountered. Staff turnover at all EPI levels consumed resources and posed operational and training difficulties. Vaccine

Table 3
Country, regional, and global documents reviewed. Assessment of new vaccine introduction in the Americas, 2010–2011.

<p>Regional/global level data</p> <p>World Health Organization (WHO) disease burden estimates for rotavirus and pneumococcal invasive disease</p> <p>Regional, Pan American Health Organization (PAHO) Technical Advisory Group on Vaccine-preventable Diseases (TAG), reports addressing new vaccines and their introduction</p> <p>International Expanded Immunization Program (EPI) country evaluations conducted in last 10 years</p> <p>Information from the PAHO's Revolving Fund regarding vaccine procurement and cost and doses purchased by country</p> <p>Immunization coverage reported annually by countries to PAHO, from 2005–2009</p> <p>Rotavirus and pneumococcal disease sentinel surveillance data and indicators reported to PAHO from 2004–2009 and regional surveillance reports</p> <p>Published literature on epidemiology, disease burden, surveillance, and economic evaluations of pneumococcal and rotavirus vaccines in the select countries</p> <p>Country level data</p> <p>Flowchart of the current structure of country's Ministry of Health (MoH)</p> <p>Vaccine laws available in country</p> <p>New vaccine introduction plans</p> <p>Five-year EPI plans for the period of 2005–2009</p> <p>Annual EPI Plan of Action from year of vaccine introduction till 2009</p> <p>Rotavirus and pneumococcal disease surveillance protocols/guidelines/manuals</p> <p>Burden of disease, cost-effectiveness, economic analyses, and other relevant estimates or studies conducted at the ministerial level and/or commissioned by the MoH</p> <p>Reports of the National Immunization Technical Advisory Group Meetings (NITAGs) in which new vaccines were addressed and discussed</p> <p>Reports of the Immunization Interagency Committee (ICC) reports in which new vaccines were addressed and discussed</p> <p>Country-level data on vaccine coverage for rotavirus/pneumococcal vaccines, including intermediate level data, from the year of vaccine introduction to 2009</p> <p>Country level surveillance data including:</p> <p>Sentinel surveillance for rotavirus and pneumococcal disease</p> <p>Mandatory surveillance of acute diarrheal, meningitis, and respiratory diseases available in countries for the period of 2005–2009</p> <p>Annual budgets for the Ministry of Health, EPI program, and new vaccines for 2005–2010</p> <p>GAVI plan for new vaccine introduction</p> <p>Any other relevant document specific to a given country, such as an assessment conducted by the MoH, Non-Governmental Organizations (NGOs) or international organizations</p>

distribution was difficult in hard-to-reach areas. In October 2008, vaccine delivery was interrupted for three months, resulting in shortages in many parts of the country.

4.1.4. Financing and purchase

GAVI provided financial support for RV introduction for the period 2008–2011 [15]. Bolivia's government co-financed the vaccine, providing the highest level of co-financing among GAVI countries to date.

4.1.5. Implementation challenges

Second dose of RV (RV2) vaccine coverage (40%) was lower than expected in 2008. Possible causes include vaccine stock-out and age restrictions for RV administration [16].

4.1.6. Vaccine impact evaluation

A case-control study is being conducted to assess the effectiveness of RV. Trends in the incidence of severe rotavirus and all-cause gastroenteritis among children are also being evaluated. These studies will help Bolivia estimate the impact of vaccination against rotavirus.

Table 4
Key informants interviewed and issues addressed in country-level interviews. Assessment of new vaccine introduction in the Americas, 2010–2011.

	Key informant	Key issues addressed
1	EPI ^a PAHO ^b consultant in the country	Political and technical environment, PAHO's role, overall information on the decision-making process and participating institutions
2	EPI coordinator at time of new vaccine introduction	Decision-making process, data used to generate evidence, key institutions and staff involved in the process, planning and introduction of the vaccine, critical assessment of the introduction process
3	Expert investigator involved in studies and projects on surveillance, disease burden, or cost effectiveness of new vaccines	Country-level data on new vaccine disease burden, communication of data and its uses during the decision-making process, assessment of impact of vaccine introduction
4	Coordinator of the department overseeing EPI in the MoH, at time of new vaccine introduction	Political and technical environment, overview of the decision-making process and key challenges
5	President or coordinator of the NITAG ^c at the time when new vaccine was introduced	Role of the NITAG, content of technical discussions, sources of information considered, main recommendations from NITAG
6	UNICEF ^d technical officer responsible for immunization activities	Partnerships with international organizations
7	Institution or Agency participating in the Immunization Interagency Coordinating Committee (ICC)	Partnerships with other global partners and donors and their roles in the decision-making process and vaccine introduction
8	National authority responsible for assigning financial resources and budget to immunization activities, particularly to new vaccines	Process of assignment of funds for EPI, funding for new vaccines, sustainability of the program and plans for additional vaccine introduction
9	National regulatory agency	Regulatory process, roles and responsibilities of regulatory agency, quality-control procedures in place
10	Current EPI coordinator and new vaccine surveillance technical office (if different than at time of vaccine introduction)	Vaccine coverage over time following vaccine introduction, main challenges in routine immunization program, impact of vaccine introduction, operational challenges
11	Current coordinator of the department overseeing EPI in the MoH	Current political and technical environment, overview of the current decision-making process and plans for future vaccine introduction
12	National vaccine manufacturers receiving technology transfer for new vaccines	Technology transfer processes, installed manufacturing capacity
13	Coordinator of the department overseeing or negotiating technology transfer agreements in the government	National policy for vaccine production and self-sufficiency of vaccine production. Process of decision making and negotiation for technology transfer, priority issues in tech transfer agreements

^a Expanded Immunization Program.

^b Pan American Health Organization.

^c National Immunization Technical Advisory Group.

^d United Nations Children's Fund.

Table 5

Regional overviews: main issues identified in the assessment of case-study countries. Assessment of new vaccine introduction in the Americas, 2010–2011.

Issues	Bolivia	Brazil	Peru	Nicaragua	Venezuela
Availability of vaccines	GAVI funding	National funds available and technology transfer agreement	National funds available	Donation for three years followed by GAVI funding	National funds available
Decision making trigger	Technical	Political/technology transfer	Technical and Political	Political/donation	Political
PAHO ^a /WHO ^b recommendations and vaccine pre-qualification	Major factor for initiating technical discussions and for driving decision on which vaccine should be introduced	Not relevant	– Major factor for initiating technical discussion – Not significant factor for driving decision on which vaccine should be introduced	Major factor for technical discussion and for driving decision regarding which vaccine to be introduced	– Major factor for initiating technical discussion – Not significant factor for driving decision on which vaccine should be introduced
NITAGs ^c role	Important	Minimal	Non-existent	Important	Non-existent
ICC ^d and international cooperation	+++	Minimal	+	++	Minimal
Local vaccine-preventable disease research capacity and production of evidence	Significant	Significant	Significant	Significant	Significant
Local evidence from surveillance or disease burden estimates from national data	Significant, Surveillance from 2005–2008	Data from local studies and outbreak in 2005. No surveillance data or disease burden estimates available	No surveillance data available. Disease estimates and DALYs ^f from secondary data	Data from diarrheal diseases surveillance and outbreak in 2005. No disease burden estimates available	Significant, Surveillance data available
Political transit of EPI ^e staff	Significant	Minimal	Significant	Minimal	Significant

^a Pan American Health Organization.^b World Health Organization.^c National Immunization Technical Advisory Group.^d Immunization Interagency Coordinating Committee.^e Expanded Immunization Program.^f Disability adjusted life-years.

4.2. Nicaragua

4.2.1. EPI structure

The Nicaraguan EPI was created in 1980. Nicaragua has neither a national vaccine law nor a specific budget line for vaccine purchases. In addition to funding from the National Treasury, the country receives significant support from international agencies.

4.2.2. Disease burden data pre-introduction

Acute diarrhea in children <5 y is a notifiable disease, being the main cause of morbidity and one of the main causes of mortality in this age group. The WHO estimated the rotavirus disease burden for 2004 to be 220 child deaths, with a mortality rate of 30 deaths per 100,000 children <5 y [17]. Rotavirus sentinel surveillance began after RV introduction in October 2006.

Research on pediatric diarrheal diseases has been conducted in Nicaragua since 1983 with studies on various disease aspects [18,19], including vaccine clinical trials [1,20]. Taking into account local morbidity data and published studies in LA [21], Nicaragua's MoH estimated the prevalence of rotavirus among children and the potential impact of RV on rotavirus economic burden [22].

During an outbreak of acute diarrhea (February–April 2005), a total of 47,470 cases and 52 deaths were reported. Rotavirus was identified in 42% of children hospitalized with diarrhea [23].

4.2.3. Vaccine introduction

The Decision making process for RV introduction was initiated in high political levels and later discussed at the EPI. In 2006, the MoH was offered a three-year donation of RV from one of the vaccine manufacturers. This donation, local disease burden estimates, and

the outbreak of rotavirus were the principal considerations of the country's decision-making process.

Based on this evidence, Nicaragua's NITAG and the National Committee for Health Research and Ethics (CONIS) recommended RV introduction [24]. Many organizations provided technical support in the process, including the Pediatric Society, The American University, NicaSalud, the Japan International Cooperation Agency (JICA); PATH; UNICEF; and PAHO.

4.2.4. Financing and purchase

To ensure financial sustainability after the donation period (2006–2009), the MoH requested GAVI support for RV vaccine for 2009–2015 [25]. In 2015, the country will assume full funding of rotavirus vaccines.

4.2.5. Implementation challenges

Challenges encountered during RV introduction include insufficient capacity of the regulatory agency to perform lot-by-lot quality control, difficulties vaccinating populations in hard-to-reach areas, and lack of resources for training and social mobilization activities.

Vaccine coverage for RV third dose (RV3) was 79% in 2007 and increased to 98% in 2010.

The country implemented rotavirus sentinel surveillance in October 2006.

4.2.6. Vaccine impact evaluation

Several studies have evaluated the vaccine's impact and effectiveness [26,27]. Results indicated 58% effectiveness of three doses against severe rotavirus disease [26]. In addition, assessments using

secondary hospitalization data in the country demonstrated RV initial impact [28].

4.3. Brazil

4.3.1. EPI structure

Brazil's EPI was established in 1973. In 1975, the country passed a vaccine law requiring federal health institutions to purchase and distribute vaccines. EPI funding is provided in full by the Government treasury. New vaccine sustainability has been strengthened by a new vaccine budget law passed in 2010, which prevents Congress from rejecting vaccination budget lines prepared by the MoH and approved by Ministry of Planning and Budget.

4.3.2. Disease burden data pre-introduction

Research groups had generated some evidence in selected hospitals in the country [29], but limited data on rotavirus specific disease burden was available when the country decided to introduce RV. Although acute diarrhea is a notifiable disease in the country, rotavirus sentinel surveillance was not established.

In 2005, a large rotavirus outbreak of occurred in Brazil's Amazon region [30], which substantially stimulated discussion regarding RV introduction.

4.3.3. Vaccine introduction

The decision making process for RV introduction was initiated in 2005 in high political levels stimulated by a potential technology transfer agreement, and later brought for discussion at the EPI. After the decision had been made, discussion took place at a NITAG's special meeting in 2005.

The decision making process for new health technology policy decisions, including new vaccines, was further structured in Brazil as of 2008, with the establishment of a secretariat charged for decision making for the public health care system considering all evidence and information available [31].

4.3.4. Vaccine production and technology transfer

Over the past 20 years, Brazil has developed a strong infrastructure for local vaccine manufacturing. As part of the National Program for Sufficiency for Vaccine and Biologicals established by the MoH in 1985, the country has made investments to improve quality and enhance the capacity for internal supply [32]. Today, Brazil is an important potential source of vaccines for the developing world [33].

4.3.5. Financing and purchase

When RVs were made available in early 2006, the MoH initiated discussions on a technology transfer agreement with vaccine manufacturers and Biomanguinhos/Fiocruz, a national public vaccine producer.

Shortly thereafter, in March 2006, the country introduced RV. In 2007, an agreement was established, with an expected timeline of 5 years for full technology transfer.

4.3.6. Implementation challenges

Challenges encountered during implementation include insufficient cold chain capacity, limited training received by healthcare staff, and lack of time to prepare for vaccine introduction.

RV3 coverage in Brazil reached 77% in 2007 and 81% in 2010. Rotavirus sentinel surveillance system began in 2007.

4.3.7. Vaccine impact evaluation

Several studies have assessed rotavirus vaccine effectiveness [34,35]. An impact assessment study, using secondary hospitalization data, showed an initial RV impact [36–40]. Most of these studies have been conducted independently by research groups

[34–37], a few by the vaccine manufacturer [38,39], and one by the MoH with support from PAHO and the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) [40].

Time series analysis of diarrhea hospitalization using secondary data from the National Hospitalization Information System demonstrated significant reductions in morbidity and mortality following RV introduction [37,40].

4.4. Peru

4.4.1. EPI structure

The Peruvian EPI was created in 1979. In June 1993, the country enacted a vaccine law assuring government funding for most immunization activities.

4.4.2. Disease burden data pre-introduction

Rotavirus is the most common cause of severe diarrhea in Peruvian children. The WHO estimated the 2004 rotavirus disease burden to be 691 child deaths, with a mortality rate of 23 deaths per 100,000 children <5 y [41].

Before introduction, Peru lacked national estimates of pneumococcal disease burden, but, given regional data, the country acknowledged the cause for concern [42].

In 2008, the MoH commissioned a study that demonstrated that pneumonia was the second leading cause of loss of healthy life years [43]. At the time of RV and PCV introduction, sentinel surveillance of rotavirus and pneumococcal disease had not been established.

4.4.3. Vaccine introduction

In 2006, Peru's EPI began discussing the introduction of new vaccines. In 2008, with support from the *Comité Consultivo* (committee resembling NITAG), the Minister of Health decided to include rotavirus, pneumococcal, and influenza vaccines in the country's EPI.

International partners reported having had limited participation in the decision-making process. Research groups generated substantial evidence on RV development, epidemiology, economic burden and cost-effectiveness. However, few studies on pneumococcal disease were generated in Peru. Therefore, the country considered regional evidence, specifically a study assessing the cost-effectiveness of PCV, in deciding to introduce PCV [44]. RV and PCV were introduced in 2009.

4.4.4. Financing and purchase

Health funding in Peru has increased significantly from 2000–2007, with immunization funding increasing from 6.5% of the MoH budget in 2000 to 44% in 2006 [45]. Since 2008, Peru has purchased RV and PCV through PAHO's Revolving Fund.

4.4.5. Implementation challenges

Challenges identified during vaccine introduction include lack of a specific social mobilization plan for RV and PCV introduction, insufficient staff training prior to vaccine introduction, limited cold chain capacity, and introduction of PCV at three and five months of age rather than at two and four months as recommended.

RV3 coverage was 41% in 2009 and increased to 75% in 2010. PCV3 coverage was 8.8% in 2009 and increased to 83.2% in 2010. Possible reasons for lower-than-expected coverage include the age restriction for RV and PCV vaccine schedule used in Peru, which, in turn, may have led to missed vaccination opportunities [16]. Additionally, issues with vaccine distribution and vaccine registration presented challenges to the introduction of the vaccines.

In 2009, Peru began reporting rotavirus diarrhea and bacterial pneumonia and meningitis.

4.4.6. Vaccine impact evaluation

To our knowledge, few studies assessing the impact of vaccine introduction have been conducted. Recently, Peru requested PAHO's support in evaluating the impact of PCV introduction in the country.

4.5. Venezuela

4.5.1. EPI structure

Established in 1997, the Venezuelan EPI receives regular budget funds from the government and has benefited from extrabudgetary funding since September 2005. The country also possesses a vaccine law that declares immunization a public good but does not provide information on vaccine funding.

4.5.2. Disease burden data pre-introduction

Diarrhea is the third leading cause of child death in Venezuela, representing 7% of child deaths <1 y, and the main cause of death and hospitalization in children <5 y. The WHO estimated the disease burden for Venezuela in 2004 to be 428 child deaths due to rotavirus, with a mortality rate of 15 deaths per 100,000 children <5 y [46].

Research groups have produced studies on RV development, efficacy, and safety and on the disease's epidemiology, genotype distribution, and economic burden. In Venezuela, acute diarrhea is a notifiable disease. Rotavirus sentinel surveillance began in 2004.

4.5.3. Vaccine introduction

Substantial local evidence was available when the decision to introduce RV was made. Following technical discussions, the decision was made at the vice-minister level.

International partners were not involved in the decision-making process. There is no functioning ICC, nor a technical advisory committee or NITAG equivalent in Venezuela. RV was introduced into the EPI in April 2006.

4.5.4. Financing and purchase

Though MoH and immunization budgets increased significantly from 2000–2009, there was a sharp reduction in immunization expenditures in 2009–2010. Since 2006, Venezuela has purchased RV through PAHO's Revolving Fund.

4.5.5. Implementation challenges

Challenges during vaccine introduction include limitations in cold chain capacity and limited communication and social mobilization activities.

Very low RV2 coverages have been reported: 26% in 2006, 19% in 2007, 47% in 2008, 54% in 2009, and 48% in 2010. Potential reasons include missed vaccination opportunities, age restrictions for the second dose of the vaccine, lack of routine supervision activities, an inadequate information system and population estimates used for vaccine coverage estimation [16].

4.5.6. Vaccine impact evaluation

To our knowledge, few studies assessing the impact of vaccine introduction have been conducted.

5. Discussion

The decision making process regarding new vaccine introduction in the countries evaluated does not follow a systematic approach. In most countries, the process was initiated as a political decision, later supported by technical aspects. Nonetheless, existing evidence on efficacy, potential impact, and cost-effectiveness of vaccine introduction, even if not local data, was important in the decision making process for vaccine introduction in all countries.

Reaching MDG4 and society's perception of vaccines as a public good were also important motivators in governmental decisions to introduce new vaccines. The availability of vaccines and funds for vaccine introduction either through donation, co-funding by GAVI, or national funds for vaccine purchase was essential in the process. In countries funding the EPI program, vaccine laws have proven essential for supporting the decision-making process on vaccine introduction and sustainability.

Although few countries possessed surveillance and local disease burden data prior to new vaccine introduction, all countries studied implemented surveillance during or following vaccine introduction and are planning to conduct impact assessments.

Limited evidence is available in the literature on the process of new vaccine introduction. The issues identified in this study are being addressed by PAHO through the ProVac Initiative, which has been working in the LAC Region since 2004 to strengthen the decision making process for new vaccine introduction [47].

6. Conclusion

Despite the fact that the countries assessed do not represent the Region as a whole, the results are useful for each respective country, and lessons learned valuable for other countries and Regions.

Political commitment is crucial in the decision making process, but coordination with technical sectors for evidence based decision making is of utmost importance.

Mechanisms for sharing the scientific evidence with decision makers need to be enhanced.

Countries should capitalize on NITAG's role in providing technical support during the decision-making process and on the participation of other technical agencies and institutions supporting immunization.

Lastly, prior to vaccine introduction countries must conduct cold-chain assessments at all levels and more accurately forecast vaccine demand and financial needs in order to avoid lack of resources during the implementation period.

Conflict of interest

None of the authors has reported a conflict of interest.

Acknowledgments

We would like to thank the MoHs in Bolivia, Brazil, Nicaragua, Peru, and Venezuela for agreeing to participate in this assessment and providing invaluable information and insights on the process of new vaccine introduction. We also wish to acknowledge PAHO's representatives and immunization focal points in countries and in the Area of Family and Community Health. Most importantly, we would like to recognize the country program officers and field workers who provide immunization services to the people of the Americas. They deserve the highest recognition for their unwavering dedication.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.05.032>.

References

- [1] Ruiz-Palacios GM, Perez-Schael I, Velazquez FR, Abate H, Breuer T, Clemens SC, et al. Safety and efficacy of an attenuated vaccine against severe rotavirus gastroenteritis. *N Engl J Med* 2006;354(1):11–22.

- [2] Vesikari T, Matson DO, Dennehy P, Van Damme P, Santosham M, Rodriguez Z, et al. Safety and efficacy of a pentavalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine. *N Engl J Med* 2006;354(1):23–33.
- [3] Pneumococcal conjugate vaccine for childhood immunization—WHO position paper. *Wkly Epidemiol Rec* 2007;82(12):93–104.
- [4] WHO position paper on Haemophilus influenzae type b conjugate vaccines. (Replaces WHO position paper on Hib vaccines previously published in the Weekly Epidemiological Record. *Wkly Epidemiol Rec* 2006;81(47):445–52.
- [5] PAHO. Resolution CD47.R10. In: 47th Directing Council. Pan American Health Organization; 2006.
- [6] PAHO.XIX Technical Advisory Group on Vaccine-preventable diseases meeting. Pan American Health Organization; 2011.
- [7] Andrus JK, Crouch AA, Fitzsimmons J, Vicari A, Tambini G. Immunization and the Millennium Development Goals: progress and challenges in Latin America and the Caribbean. *Health Aff (Millwood)* 2008;27(2):487–93.
- [8] Andrus JK, Toscano CM, Lewis M, Oliveira L, Roper AM, Davila M, Fitzsimmons JW. A model for enhancing evidence-based capacity to make informed policy decisions on the introduction of new vaccines in the Americas: PAHO's ProVac initiative. *Public Health Rep* 2007;122(6):811–6.
- [9] WHO. Vaccine introduction guidelines: Adding a vaccine to a national immunization programme: decision and implementation. In: WHO/IVB/0518. World Health Organization; 2005.
- [10] PAHO. Introduction and implementation of new vaccines: field guide. In: Publicación científica y técnica No. 632. Pan American Health Organization; 2010.
- [11] Bolivia: Plan de introducción de vacuna contra rotavirus 2007–2012. La Paz, Bolivia: Ministerio de Salud y Deportes/Programa Ampliado de Inmunización; 2008.
- [12] Etienne K, Rowlinson E. Carga económica de rotavirus en niños hospitalizados por EDA. In: Edited by communication p. La Paz, Bolivia: Cortesía del PAI de Bolivia; 2006.
- [13] Rocha M. Carga económica de la enfermedad diarreica en la comunidad en niños menores de 5 años en Bolivia. In: personal communication. Edited by Bolivia CdPd; 2007.
- [14] Smith ER, Rowlinson EE, Iniguez V, Etienne KA, Rivera R, Mamani N, Rheingans R, Patzi M, Halkyer P, Leon JS. Cost-effectiveness of rotavirus vaccination in Bolivia from the state perspective. *Vaccine* 2011;29(38):6704–11.
- [15] GAVI: GAVI Fact Sheet Bolivia. In. Edited by GAVI; 2008.
- [16] Rotavirus vaccines. *Wkly Epidemiol Rec* 2007, 82(32):285–295.
- [17] WHO. NICARAGUA – WHO estimates of child deaths due to rotavirus infection. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2006.
- [18] Espinoza F, Paniagua M, Hallander H, Hedlund KO, Svensson L. Prevalence and characteristics of severe rotavirus infections in Nicaraguan children. *Ann Trop Paediatr* 1997;17(1):25–32.
- [19] Espinoza F, Paniagua M, Hallander H, Svensson L, Strannegard O. Rotavirus infections in young Nicaraguan children. *Pediatr Infect Dis J* 1997;16(6):564–71.
- [20] Linhares AC, Velazquez FR, Perez-Schael I, Saez-Llorens X, Abate H, Espinoza F, et al. Efficacy and safety of an oral live attenuated human rotavirus vaccine against rotavirus gastroenteritis during the first 2 years of life in Latin American infants: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase III study. *Lancet* 2008;371(9619):1181–9.
- [21] Kane EM, Turcios RM, Arvay ML, Garcia S, Bresee JS, Glass RI. The epidemiology of rotavirus diarrhoea in Latin America. Anticipating rotavirus vaccines. *Rev Panam Salud Publica* 2004;16(6):371–7.
- [22] Nicaragua Plan for the Introduction of the Rotavirus Vaccine in Nicaragua, 2006. Managua, Nicaragua: Ministry of Health; 2006.
- [23] Amador JJ, Vicari A, Turcios-Ruiz RM, Melendez DA, Malek M, Michel F, et al. Outbreak of rotavirus gastroenteritis with high mortality, Nicaragua, 2005. *Rev Panam Salud Publica* 2008;23(4):277–84.
- [24] Nicaragua Recomendaciones del Comité Nacional de Prácticas de Inmunización sobre la Introducción de la Vacuna contra Rotavirus en Nicaragua. Managua: CNPI; 2006.
- [25] Nicaragua Comprehensive Multi-Year Plan for the National Immunization Programme 2007–2011 (cMYP). Managua, Nicaragua: Ministry of Health; 2007.
- [26] Patel M, Pedreira C, De Oliveira LH, Tate J, Orozco M, Mercado J, et al. Association between pentavalent rotavirus vaccine and severe rotavirus diarrhoea among children in Nicaragua. *JAMA* 2009;301(21):2243–51.
- [27] Mast TC, Khawaja S, Espinoza F, Paniagua M, Palacios Del Carmen L, Cardellino A, Sanchez E. Case-control Study of the Effectiveness of Vaccination With Pentavalent Rotavirus Vaccine in Nicaragua. *Pediatr Infect Dis J* 2011;30(11):e209–15.
- [28] Orozco M, Vasquez J, Pedreira C, De Oliveira LH, Amador JJ, Malespin O, Andrus J, Tate J, Parashar U, Patel M. Uptake of rotavirus vaccine and national trends of acute gastroenteritis among children in Nicaragua. *J Infect Dis* 2009;200(Suppl. 1):S125–30.
- [29] Sartori AM, Valentim J, de Soarez PC, Novaes HM. Rotavirus morbidity and mortality in children in Brazil. *Rev Panam Salud Publica* 2008;23(2):92–100.
- [30] Siqueira AA, Santelli AC, Alencar Jr LR, Dantas MP, Dimech CP, Carmo GM, et al. Outbreak of acute gastroenteritis in young children with death due to rotavirus genotype G9 in Rio Branco, Brazilian Amazon region, 2005. *Int J Infect Dis* 2010;14(10):e998–903.
- [31] BRASIL. Ministério da Saúde: PORTARIA N° 2587, DE 30 DE OUTUBRO DE 2008: Dispõe sobre a Comissão de Incorporação de Tecnologias do Ministério da Saúde e vincula sua gestão à Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. In. Edited by Ministério da Saúde, vol. 2587, Brasília, Brazil; 2008.
- [32] FIOCRUZ/Ministry of Health: HEIC Report. In., vol. 1. Rio de Janeiro, Brazil; Oswaldo Cruz Foundation; 2010: 1–17.
- [33] Milstien JB, Gaule P, Kaddar M. Access to vaccine technologies in developing countries: Brazil and India. *Vaccine* 2007;25(44):7610–9.
- [34] Justino MC, Linhares AC, Lanzieri TM, Miranda Y, Mascarenhas JD, Abreu E, et al. Effectiveness of the monovalent G1P[8] human rotavirus vaccine against hospitalization for severe G2P[4] rotavirus gastroenteritis in Belem, Brazil. *Pediatr Infect Dis J* 2011;30(5):396–401.
- [35] Correia JB, Patel MM, Nakagomi O, Montenegro FM, Germano EM, Correia NB, Cuevas LE, Parashar UD, Cunliffe NA, Nakagomi T. Effectiveness of monovalent rotavirus vaccine (Rotarix) against severe diarrhoea caused by serotypically unrelated G2P[4] strains in Brazil. *J Infect Dis* 2010;201(3):363–9.
- [36] Safadi MA, Berezin EN, Munford V, Almeida FJ, de Moraes JC, Pinheiro CF, Racz ML. Hospital-based surveillance to evaluate the impact of rotavirus vaccination in Sao Paulo, Brazil. *Pediatr Infect Dis J* 2010;29(11):1019–22.
- [37] Gurgel RQ, Ilozue C, Correia JB, Centenari C, Oliveira SM, Cuevas LE. Impact of rotavirus vaccination on diarrhoea mortality and hospital admissions in Brazil. *Trop Med Int Health* 2011;16(9):1180–4.
- [38] Lanzieri TM, Costa I, Shafi FA, Cunha MH, Ortega-Barria E, Linhares AC, Colindres RE. Trends in hospitalizations from all-cause gastroenteritis in children younger than 5 years of age in Brazil before and after human rotavirus vaccine introduction, 1998–2007. *Pediatr Infect Dis J* 2010;29(7):673–5.
- [39] Lanzieri TM, Linhares AC, Costa I, Kolhe DA, Cunha MH, Ortega-Barria E, Colindres RE. Impact of rotavirus vaccination on childhood deaths from diarrhoea in Brazil. *Int J Infect Dis* 2011;15(3):e206–10.
- [40] do Carmo GM, Yen C, Cortes J, Siqueira AA, de Oliveira WK, Cortez-Escalante JJ, et al. Decline in diarrhoea mortality and admissions after routine childhood rotavirus immunization in Brazil: a time-series analysis. *PLoS Med* 2011;8(4):e1001024.
- [41] WHO. PERU – WHO estimates of child deaths due to rotavirus infection. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2006.
- [42] O'Brien KL, Wolfson LJ, Watt JP, Henkle E, Deloria-Knoll M, McCall N, Lee E, Mulholland K, Levine OS, Cherian T. Burden of disease caused by Streptococcus pneumoniae in children younger than 5 years: global estimates. *Lancet* 2009;374(9693):893–902.
- [43] PRAES: La carga de enfermedad y lesiones en el Peru In. Lima: PRAES USAID-Peru. 2008.
- [44] Sinha A, Constenla D, Valencia JE, O'Loughlin R, Gomez E, de la Hoz F, Valenzuela MT, de Quadros CA. Cost-effectiveness of pneumococcal conjugate vaccination in Latin America and the Caribbean: a regional analysis. *Rev Panam Salud Publica* 2008;24(5):304–13.
- [45] Peru: La vacuna contra neumococo, sustentación técnica económica de su introducción al esquema regular. In. Lima: Ministerio de Salud; 2007.
- [46] WHO. VENEZUELA – WHO estimates of child deaths due to rotavirus infection. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2006.
- [47] Jauregui B, Sinha A, Clark AD, Bolanos BM, Resch S, Toscano CM, Matus CR, Andrus JK. Strengthening the technical capacity at country-level to make informed policy decisions on new vaccine introduction: lessons learned by PAHO's ProVac Initiative. *Vaccine* 2011;29(5):1099–106.

5.2 Artigo II

Título: *Effectiveness of monovalente RVA vaccine in Bolivia: case-control study.*

Periódico: British Medical Journal, 2013; 346:f3726.doi:10.1136/bmj.f3726 (acesso livre).

Autores: Manish Patel, Maritza Patzi, Desiree Pastor, Aleida Nina, Yelin Roca, Leovigildo Alvarez, Volga Iniguez, Rosario Rivera, Ka Ian Tam, Osbourne Quaye, Mochael Bowen, Umesh Parashar, **Lúcia Helena de Oliveira.**

O artigo avalia a efetividade de duas doses da vacina monovalente de RVA nas admissões hospitalares por RVA na Bolívia. Este estudo caso-controle demonstra que a vacina confere alta proteção para as hospitalizações por RVA e que esta proteção é mantida por pelo menos dois anos para diversas cepas diferentes das cepas das cepas vacinais.

RESEARCH

Effectiveness of monovalent rotavirus vaccine in Bolivia: case-control study

 OPEN ACCESS

Manish M Patel *epidemiologist*¹, Maritza Patzi *epidemiologist*², Desiree Pastor *epidemiologist*³, Aleida Nina *microbiologist*⁴, Yelin Roca *microbiologist*⁵, Leovigildo Alvarez *microbiologist*⁶, Volga Iniguez *research microbiologist*⁷, Rosario Rivera *microbiologist*⁷, Ka Ian Tam *microbiologist*¹, Osbourne Quayle *microbiologist*¹, Michael Bowen *research microbiologist*¹, Umesh Parashar *epidemiologist*¹, Lucia Helena De Oliveira *epidemiologist*⁸

¹Viral Gastroenteritis Team, DVD, NCIRD, MS-A34, Centers for Disease Control and Prevention, 1600 Clifton Road, NE, Atlanta, GA 30333, USA; ²Ministerio de Salud, La Paz, Bolivia; ³PanAmerican Health Organization, La Paz, Bolivia; ⁴Laboratorio de Virologia, INLASA, Ministerio de Salud y Deportes, La Paz, Bolivia; ⁵National Reference Laboratory, CENETROP, Santa Cruz, Bolivia; ⁶Laboratorio de Virologia, Cochabamba, Bolivia; ⁷Instituto de Biologia Molecular y Biotecnologia, Universidad Mayor de San Andres, La Paz, Bolivia; ⁸PanAmerican Health Organization, Washington DC, USA

Abstract

Objective To evaluate the effectiveness of two doses of a monovalent rotavirus vaccine (RV1) against hospital admission for rotavirus in Bolivia.

Design Case-control study.

Setting Six hospitals in Bolivia, between March 2010 and June 2011.

Participants 400 hospital admissions for rotavirus, 1200 non-diarrhea hospital controls, and 718 rotavirus negative hospital controls.

Main outcome measures Odds of antecedent vaccination between case patients and controls; effectiveness of vaccination ((1-adjusted odds ratio)×100), adjusted for age and other confounders; and stratified effectiveness by dose, disease severity, age group, and serotype.

Results In comparison with non-diarrhea controls, case patients were more likely to be male and attend day care but less likely to have chronic underlying illness, higher level maternal education, and telephones and computers in their home. Rotavirus negative controls were somewhat more similar to case patients but also were more likely to be male and attend day care and less likely to have higher level maternal education and computers in their homes. The adjusted effectiveness of RV1 against hospital admission for rotavirus was 69% (95% confidence interval 54% to 79%) with rotavirus negative controls and 77% (65% to 84%) with non-diarrhea controls. The effectiveness of one dose of RV1 was 36% and 56%, respectively. With both control groups, protection was sustained through two years of life, with similar efficacy against hospital admission among children under 1 year (64% and 77%) and over 1 year of age (72% and 76%). RV1 provided significant protection against diverse serotypes, partially and fully heterotypic to the G1P[8] vaccine. Effectiveness using the two control groups was 80% and 85% against

G9P[8], 74% and 93% against G3P[8], 59% and 69% against G2P[4], and 80% and 87% against G9P[6] strains.

Conclusion The monovalent rotavirus vaccine conferred high protection against hospital admission for diarrhea due to rotavirus in Bolivian children. Protection was sustained through two years of life against diverse serotypes different from the vaccine strain.

Introduction

The World Health Organization recommends two live attenuated oral rotavirus vaccines, a monovalent RIX4144 strain human vaccine (RV1, Rotarix, GlaxoSmithKline Biologicals) and a pentavalent bovine-human WC3 reassortant vaccine (RV5, RotaTeq, Merck Vaccines, Whitehouse Station, NJ), for all children worldwide to help to control the large burden of deaths and hospital admissions due to rotavirus.¹ An outstanding question for the global community is whether oral rotavirus vaccines will work well under routine conditions of public health programs, particularly in countries with high mortality where they potentially offer the greatest life saving benefits. Rotavirus vaccines have performed well in middle and high income settings, where efficacy has ranged from 77% to 98%.²⁻⁵ In contrast, the efficacy of these vaccines in controlled clinical trial conditions was lower in low income settings in Asia and Africa, ranging from 18% to 64%.^{6,7} Although the reasons for the lower performance of live, oral vaccines in developing countries are not fully understood, it is likely attributable to host or environmental factors that impair a robust immune response such as competing enteric pathogens, micronutrient malnutrition, breast milk interference, or circulating maternal antibodies.⁸

Correspondence to: M Patel Aul3@CDC.GOV

No commercial reuse: See rights and reprints <http://www.bmj.com/permissions>

Subscribe: <http://www.bmj.com/subscribe>

Full realization of the life saving potential of rotavirus vaccines hinges on identifying modifiable factors associated with their lower performance in high mortality settings.

Some 45 middle and high income countries, including 14 in Latin America, have introduced a rotavirus vaccine in the past seven years and consequently have experienced dramatic reductions in the burden of severe rotavirus disease, including indirect benefits to children who remained unvaccinated.⁹ Data have been limited on the performance of rotavirus vaccines under ordinary conditions of a public health program in high mortality settings. A published study from Nicaragua showed that the effectiveness of the RV5 vaccine was similar (about 50%) to that seen in the clinical trials from low income settings in Africa and Asia.¹⁰ No data are available for the effectiveness of the RV1 vaccine in routine programmatic use in countries with high childhood mortality, as classified by WHO.¹¹ Effectiveness data are particularly needed to gain a better understanding of the benefit-risk balance because of the recent safety concerns of a low level risk of intussusception associated with RV1 in Mexico and Brazil.¹² Thus, our primary objective was to evaluate the effectiveness of two doses of RV1 against hospital admissions for rotavirus in Bolivia, the first GAVI eligible country worldwide to introduce RV1 vaccine.

Methods

Study design and setting

Bolivia is a lower-middle income country in South America with an annual birth cohort of about 263 000 and a gross national income of \$1699 (£1092; €1284) per capita in 2009.¹³ The Bolivian Ministry of Health added RV1 to the routine childhood immunization schedule in August 2008, recommending two doses of RV1 for all children in Bolivia at 2 and 4 months of age. From March 2010 to June 2011 we did a case-control evaluation at six hospitals in four of the largest cities in Bolivia (La Paz, El Alto, Cochabamba, and Santa Cruz) to assess the effectiveness of RV1 against hospital admissions for rotavirus. These hospitals are ministry hospitals that were selected on the basis of WHO guidelines for rotavirus surveillance that recommend selecting hospitals that admit more than 250 children for gastroenteritis each year.¹⁴ These six hospitals were estimated to have 19% of all hospital admissions for diarrhea among children before the introduction of vaccine.

Participants: cases

We defined cases as children admitted to the hospital overnight for treatment of acute diarrhea, defined as at least three loose stools in a 24 hour period. Inclusion criteria were onset of diarrhea less than 14 days before the hospital visit; a rotavirus positive stool sample during the first 48 hours of admission (to avoid nosocomial infection); and eligibility to receive at least one dose of RV1, defined as being born after June 1, 2008 and being at least 8 weeks of age when admitted to hospital. We excluded cases when we were unable to contact a parent or care-taker to obtain consent, identify three hospital controls, or verify vaccination status through parental card or vaccination registry. To identify case patients, we did active hospital based surveillance 24 hours a day in the emergency department and inpatient wards. Bulk stool specimens were collected within 48 hours of admission. Specimens were stored at 2-8°C before transfer to the national laboratory on a weekly basis during the first nine months of the study and to a local laboratory during the last six months of the study. Rotavirus testing was done with a commercially available enzyme immunoassay (ProSpecT ELISA, Oxoid, UK). Specimens were stored frozen at -70°C

until they were shipped to the Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA for genotyping analysis. Genotyping was done on samples with sufficient stools, as described by Hull et al.¹⁵

Participants: controls

We assessed effectiveness by using two groups of controls: children admitted to hospital for conditions other than diarrhea (that is, hospital controls) and children with rotavirus negative diarrhea (that is, test negative controls). For non-diarrhea hospital controls, inclusion criteria were seeking care in the emergency department or being admitted to the same hospital as the case for an acute illness unrelated to diarrhea or a vaccine preventable condition (measles, mumps, rubella, diphtheria, pertussis, tetanus, tuberculosis, hepatitis B); being born within 30 days of the case's date of birth; and being eligible to receive at least one dose of RV1, defined as being born after June 1, 2008 and being at least 8 weeks of age when admitted to hospital. We excluded controls when we were unable to contact a parent or care-taker to obtain consent, identify three hospital controls for each case, or verify vaccination status through parental card or vaccination registry. After a rotavirus case was identified, we routinely queried emergency department and hospital admission logs daily during the subsequent two weeks to identify three consecutive hospital controls. All efforts were made to capture the child during the hospital visit to avoid logistical challenges of home visits and potential loss to follow-up. We also sought to assess vaccine effectiveness by using children with rotavirus negative diarrhea as controls (test negative controls). Test negative controls were those children who were enrolled during the surveillance for rotavirus diarrhea but tested negative for rotavirus by enzyme immunoassay.

Variables

We conducted face to face interviews with parents of case patients and hospital controls during the hospital visit. After written informed consent had been given, we obtained information on vaccination history, demographics, socioeconomic factors, history of breast feeding, and medical history. For cases, we also gathered information on clinical characteristics, treatment, and course of illness. We selected variables on the basis of recommendations from a WHO guideline document on studies of the effectiveness of rotavirus vaccines.¹⁶ The primary objective of the study was to assess differences in antecedent exposure to the full series (two doses versus zero) among cases compared with non-diarrhea controls and compared with test negative controls.

Data sources

We obtained vaccination history from the parent and considered it confirmed if the parent showed a vaccination card with the date of vaccination, the type of vaccine used, and the name of the child. If parents reported any vaccination but did not possess a card, we obtained confirmation by review of vaccine cards at the clinic where the child was reportedly vaccinated. We identified vaccination records at the clinic on the basis of the participant's name, sex, and date of birth. We obtained a photocopy of the vaccination record for cases and controls, and, after data entry into an electronic database, we verified all RV1 vaccination dates against this record.

Sample size for vaccine effectiveness

Using a precision based approach,¹⁷ we estimated that we needed a total of 170 case patients to compute a vaccine effectiveness

of 60% with a confidence limit width of 30%, using a matched design with a control to case ratio of three to one and vaccine coverage of 50%. We enrolled a total of 400 case patients to allow for subgroup analyses including effectiveness of partial vaccination, strain specific effectiveness, and effectiveness stratified by age. Because we did not specifically calculate sample sizes for the subgroup analyses (strain specific and age stratified vaccine effectiveness), we did a post hoc power analysis and present vaccine effectiveness results when expected power using χ^2 exceeded 80% at a significance level of 0.05 given the observed number of cases and controls for each of the secondary outcomes.

Efforts to minimize bias

To minimize bias associated with differential surveillance and diagnosis, we used a standard WHO recommended case definition for severe gastroenteritis at all surveillance sites and laboratory confirmed diagnosis of rotavirus with a validated enzyme immunoassay with high sensitivity and specificity. For non-diarrhea controls, we excluded children with diseases not preventable by rotavirus vaccine because they would be less likely to receive rotavirus vaccine than the source population from which the cases arose. Information bias was minimized by blinding coordinators who verified vaccination records from knowledge of case or control status and the study hypothesis. Efforts to determine vaccine status were similar between cases and controls.

Statistical methods

Our primary aim was to calculate the vaccine effectiveness of two doses of RV1 against hospital admission for rotavirus. To assess for a potential gradient in protection by severity, we analyzed for vaccine effectiveness against rotavirus diarrhea with a clinical severity score of at least 11 and at least 15 on a 20 point Vesikari scoring scale that was used in the RV1 clinical trials.⁴

We firstly did bivariate analyses to assess for differences in indicators of socioeconomic condition between rotavirus case patients and the two groups of controls to identify potential confounders or biases for the association between RV1 vaccination and rotavirus disease. We used the Wilcoxon rank sum test or χ^2 test to assess differences.

We constructed two separate logistic regression models for non-diarrhea and test negative controls to calculate odds ratios with associated 95% confidence intervals.¹⁸ For both models, we considered cases and controls to be vaccinated with the respective number of doses (one or two) if the most recent dose was administered 14 days before the case patient's hospital visit (the reference date). Children who received two doses did not contribute to the one dose vaccine effectiveness analysis, and children who received one dose of vaccine did not contribute to the two dose vaccine effectiveness analysis. For non-diarrhea controls, we used a conditional logistic regression model to estimate the crude odds ratio, because these controls were matched to case-patients by hospital and date of birth (± 30 days). To estimate a crude odds ratio with test negative controls comparable to the crude odds ratio for non-diarrhea controls generated through a matched analysis, we used an unconditional logistic regression that included hospital, age (in months), and month/year of birth in the base model, because test negative controls were unmatched with regard to age and hospital during the design phase of the study. For both control groups, we then assessed for confounding by using multivariate modeling. To the base models, we included all additional variables with

$P < 0.20$ in the bivariate analyses. We then used a hierarchical backward elimination approach to select the variables in the final model individually, excluding those variables at a significance level of $P > 0.05$.¹⁹ For substantive reasons, we retained age in months, month/year of birth, and hospital for test negative controls. To assess for potential clustering by hospital, we included hospital as a random effect in the regression models, but it did not alter the model outcomes.

We did subgroup analyses to assess protection from partial dose vaccination (that is, one dose of RV1), strain specific protection, and protection among children 6-11 months of age compared with those aged 12 months or over. We assessed for interaction by age (6-11 months versus > 11 months of age) and the prevalent strains by including an interaction term for age and vaccination and for strain type and vaccination in the model.

Finally, to assess the potential for bias in our estimates of effectiveness, we did a "bias indicator" analysis to examine whether two doses of RV1 provided protection against cases of diarrhea that tested negative for rotavirus with non-diarrhea controls, under the hypothesis that significant vaccine effectiveness against test negative diarrhea would be due to residual confounding in the non-diarrhea controls. For this analysis, we compared vaccination rates among rotavirus negative diarrhea cases and non-diarrhea controls and adjusted for age, hospital, and month/year of birth by using unconditional logistic regression.

We estimated the adjusted odds ratio by using the exponential of the coefficient for the vaccination variable in the model. We calculated the 95% confidence interval for the adjusted odds ratio by using the standard error of the coefficient,¹⁸ and we subsequently calculated vaccine effectiveness as $(1 - \text{adjusted odds ratio}) \times 100\%$. Statistical significance was designated as $P < 0.05$. We used SAS statistical software (version 9.2) for analyses.

Results

Participants

We approached a total of 451 case patients, 1247 non-diarrhea controls, and 817 test negative controls. Of these, we excluded 51 (11%), 47 (4%), and 99 (12%), respectively, and the final analysis included 400 case patients, 1200 non-diarrhea controls, and 718 test negative controls (fig 1). In comparison with non-diarrhea controls, case patients were more likely to be male and attend day care but less likely to have chronic underlying illness, higher level maternal education, and telephones and computers in their home (table 1). Test-negative controls were somewhat more similar to case-patients but also were more likely to be male and attend day care and less likely to have higher level maternal education and computers in their homes. Vaccine records were confirmed for all participants in the analysis. Adherence to the age recommendations was good; only 10% of the children were vaccinated outside the recommended age windows of 2 and 4 months of age (fig 2).

Vaccine effectiveness estimates

We identified no difference greater than 10% between the crude and adjusted estimates of vaccine effectiveness for either the primary or secondary analyses in the study (tables 2, 3, and 4). The adjusted vaccine effectiveness of a full series of two doses of RV1 against hospital admission for rotavirus was 77% (95% confidence interval 65% to 84%) with non-diarrhea controls and 69% (54% to 79%) with test negative controls (table 2). One dose of RV1 also provided significant protection

of 56% (32% to 72%) with non-diarrhea controls and 36% (0% to 59%) with test negative controls.

Of the 400 case patients admitted to hospital for rotavirus diarrhea, 373 (93%) had rotavirus diarrhea with a Vesikari score of 11 or greater and 191 (48%) had a Vesikari score of 15 or greater. Protection was similar against each of the severity outcomes in the study. With non-diarrhea controls, RV1 provided protection of 76% (64% to 84%) for a Vesikari score of 11 or above and 74% (54% to 85%) against a score of at least 15. When we used test negative controls, vaccine effectiveness was 69% (53% to 79%) for Vesikari score of 11 or above and 62% (37% to 88%) for a severity score of at least 15 (table 2).

Of the 400 cases, 295 had sufficient stool samples for genotyping. Commonly detected strains included G9P[8] (n=107; 36%), G2P[4] (74; 25%), G3P[8] (52; 18%), and G9P[6] (23; 8%). Others were non-typeable (24; 8%) or other sparsely detected strains (15; 5%). Vaccine effectiveness ranged from 59% to 93% against four different strains, without any significant interaction by type of strain (P=0.70). With non-diarrhea controls, strain specific effectiveness was 85% (69% to 93%) and 93% (70% to 98%) against the partially heterotypic G9P[8] and G3P[8] strains and 69% (14% to 89%) and 87% (19% to 98%) against the fully heterotypic G2P[4] and G9P[6] strains (table 3). With test negative controls, strain specific effectiveness was 80% (60% to 90%) and 74% (22% to 91%) against the partially heterotypic G9P[8] and G3P[8] strains and 59% (7% to 78%) and 80% (37% to 94%) against the fully heterotypic G2P[4] and G9P[6] strains.

We found no significant difference in effectiveness of RV1 against hospital admission for rotavirus between the two age groups when using non-diarrhea controls (P=0.42) or test negative controls (P=0.35) (table 4). For non-diarrhea controls, vaccine effectiveness was 77% (51% to 89%) for children aged 6-11 months compared with 76% (59% to 86%) for those aged 12 months or over. For test negative controls, vaccine effectiveness was 64% (34% to 80%) for children aged 6-11 months compared with 72% (52% to 86%) for those aged 12 months or over. Similarly, effectiveness was high for both age groups when we restricted the analysis to hospital admissions with severity scores of 11 or greater and to admissions related to the most prevalent strain, G9P[8].

In the bias indicator analysis, RV1 did not confer protection against non-rotavirus diarrhea cases in comparison with non-diarrhea controls for one dose (9%, -33% to 37%) or two doses (9%, -27% to 24%) of RV1.

Discussion

Using two different sources of controls, we have shown that RV1 vaccination under routine conditions of a public health program in a GAVI eligible country with high child mortality conferred protection of about 54% to 84% (lowest and highest upper and lower confidence limits of all two dose vaccine effectiveness estimates) against hospital admission for rotavirus. Given the national rotavirus vaccine coverage of 80% in 2011 (increased from 65% in 2009 and 76% in 2010),²⁰ we would expect that vaccination is preventing some 43% to 67% of the national burden of hospital admissions for rotavirus in Bolivia. These are particularly encouraging findings given that the efficacy of rotavirus vaccines has ranged from 18% to 64% in clinical trials from other similar high mortality settings.^{3 6 7} We also assessed for duration of protection and noted that effectiveness was sustained through two years of life, the age period within which most of the hospital admissions for rotavirus occur in low and lower-middle income settings.²¹⁻²³ In addition,

one dose of RV1 provided nearly 40-50% protection against hospital admission for rotavirus in Bolivia, a finding that was not assessed in the clinical trials. This early effect of vaccine on rotavirus diarrhea has important implications for countries where the burden of severe disease, particularly deaths, occurs before the full series is administered or where children may not return for their full series. Lastly, vaccine effectiveness was high against the range of circulating rotavirus strains during this evaluation, including against fully heterotypic G2P[4] and G9P[6] strains. Taken together, these results show the powerful effect of vaccination on improving child health in Bolivia and offer substantial encouragement for decision makers in low and lower-middle income countries considering introduction of vaccine to curb the burden of severe and fatal rotavirus disease.

Comparison with other studies

In Bolivia, RV1 provided higher protection (~71-77%) against outcomes of similar severity than RV5 provided in the low income setting of Nicaragua (50%).¹⁰ In fact, effectiveness for RV1 in Bolivia was similar to that for RV1 in El Salvador (76%),²⁴ a slightly more developed lower-middle income country in Central America, and comparable to RV1 efficacy for first two years of life in the large clinical trial from 10 Latin American countries (80%).² In this trial, the efficacy of RV1 in Nicaragua was 78% (18 to 96) through two years of life.²⁵ The differing efficacy by vaccine type might reflect a chance occurrence, as data on effectiveness of RV5 in Latin America are available only from a single country.¹⁰ Furthermore, in clinical trials, the efficacy of RV1 in the first year of life in Malawi (49%) was comparable to that of RV5 in low and lower-middle income countries in Africa (48%) and Asia (39%).^{6 7 26} The possibility of inter-study differences in case severity might also explain some of the variation in vaccine effectiveness; however, all studies applied comparable WHO recommended case definitions and Vesikari severity scores, which should have minimized this effect. As rotavirus vaccines are introduced in additional low and lower-middle income countries in Africa and Asia, further assessments of effectiveness of both RV1 and RV5 in these settings to compare the performance of the two vaccines will be important.

In clinical trials from Africa and in some post-licensure studies from low socioeconomic settings, protection from both RV5 and RV1 seemed to be lower among children older than 1 year compared with those aged under 1.^{6 24 27 28} We did not see this phenomenon in Bolivia, which is consistent with the sustained effectiveness of 79-83% seen through two years of life in the large RV1 clinical trial in high and middle income countries from Latin America.² In addition, two studies in impoverished populations in Brazil and Australia have suggested that RV1 (G1P[8]) effectiveness against fully heterotypic strains (such as G2P[4]) might diminish more rapidly than that against homotypic strains, but confidence bounds were too wide for a meaningful conclusion.^{29 30} In Bolivia, we saw sustained protection against partially heterotypic G9P[8] strains, which is consistent with findings from the large Latin America pre-licensure RV1 trial, but we also did not have sufficient power to assess duration of protection against fully heterotypic G2P[4] strains. Although these findings are encouraging, our data should be interpreted with some caution as the study was not specifically designed to evaluate effectiveness among specific age groups. Such questions could be better assessed as the vaccine program matures and additional older children are vaccinated.

Strengths and limitations of study

Some limitations must be considered. Estimates of vaccine protection obtained through observational studies hinge upon differences in exposure to vaccination between cases and controls and thus are subject to biases relating to recording and ascertainment of exposure. The availability of documentation of vaccination status differed between case patients (93%), test negative controls (88%), and non-diarrhea controls (98%) in our study and might have biased our estimates of effectiveness to some extent. The control population might be enriched with non-vaccinees if controls with missing vaccine history were more likely to be vaccinated than were cases with missing history, which might have increased our estimates of effectiveness. If controls with missing vaccine history had lower vaccination rates than cases with missing history, effectiveness estimates might be biased towards null. In addition, each of the control groups might have its own specific biases. For example, a false positive enzyme immunoassay result for rotavirus could lead to misclassification of a test negative control as a case. If the vaccine offers any protection, this would enrich the case population with vaccinees thus falsely lowering estimates of effectiveness. However, test negative controls have previously proved to be good controls in studies of rotavirus vaccine effectiveness when compared with community or non-diarrhea controls,^{29 31-33} and the similarity in estimates of effectiveness with both control groups in our study provides further reassurance.

Although some differences in demographics and socioeconomic indicators existed between the cases, non-diarrhea controls, and test negative controls, we did not identify any substantial differences between the crude and adjusted estimates of vaccine effectiveness. However, some residual unmeasured confounding could still be present. Bias related to health seeking behavior is possible, but the test negative diarrhea controls are likely to have similar healthcare seeking patterns as rotavirus diarrhea cases and thus to be less prone to this potential bias than are non-diarrhea controls. In addition, our bias indicator analysis did not identify any significant bias with the non-diarrhea controls. Lastly, if fecal shedding of RV1 leads to horizontal transmission of vaccine virus and resultant immune response in unvaccinated contacts of vaccine recipients, as was shown in a clinical trial in the Dominican Republic, this might decrease the attack rates of disease in unvaccinated children and decrease estimates of RV1 effectiveness as measured through observational studies.³⁴

Conclusions and policy implications

In conclusion, our study provides evidence for protection by RV1 vaccination against hospital admissions for rotavirus and severe rotavirus disease caused by four different rotavirus strains during the first two years of life in a low income setting in Latin America. Attainment of significant protection from one dose of RV1 also is encouraging for target populations in low and lower-middle income settings, who can develop severe and fatal rotavirus disease during the first few months of life. Further research is needed to refine our understanding of the heterogeneous immune response to rotavirus vaccines in low socioeconomic settings. Potential strategies to improve vaccine efficacy that warrant investigation may include altering the age at rotavirus immunization to avoid the negative influence of circulating maternal antibodies, decoupling rotavirus vaccines and oral polio vaccine, and adding additional doses in the routine schedule or as a booster with the measles dose at the end of infancy. Although understanding the reasons for lower efficacy is important, it should not hinder use of currently available

rotavirus vaccines. Our study provides compelling data favoring broader use of rotavirus vaccine in low income settings to reduce the burden of severe and fatal rotavirus disease among children.

We thank the sentinel hospital rotavirus surveillance team in Bolivia for their efforts in the enrollment of the participants for the rotavirus vaccine effectiveness evaluation.

Contributors: MMP, UP, DP, VI, and LHDO created and designed the study. DP, MP, AN, RR, and YR collected the data. AN, YR, VI, RR, KIT, OQ, and MP did the specimen analysis. MMP did the data analysis. MP, DP, VI, MB, UP, and LHDO interpreted the data. MMP drafted the report. DP, MP, AN, YR, VI, RR, KIT, OQ, MB, UP, and LHDO critically revised the report.

Funding: Support for this project was provided by the Program for Appropriate Technology in Health (PATH) through funding from the Global Alliance for Vaccines and Immunisation (GAVI). The views expressed by the authors do not necessarily reflect the views of GAVI or PATH. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing interests: All authors have completed the ICMJE uniform disclosure form at www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (available on request from the corresponding author) and declare: support for this project was provided by PATH through funding from GAVI; no financial relationships with any organizations that might have an interest in the submitted work in the previous three years; no other relationships or activities that could appear to have influenced the submitted work.

Ethical approval: This case-control evaluation was approved by human subjects' offices at the Centers for Disease Control and Prevention, the Pan American Health Organization, and the Bolivian National Bioethics Committee. Surveillance coordinators obtained informed consent from parents or legal guardian of the child.

Data sharing: No additional data available.

- 1 World Health Organization. Rotavirus vaccines: an update. *Wkly Epidemiol Rec* 2009;84:533-40.
- 2 Linhares AC, Velazquez FR, Perez-Schael I, Saez-Llorens X, Abate H, Espinoza F, et al. Efficacy and safety of an oral live attenuated human rotavirus vaccine against rotavirus gastroenteritis during the first 2 years of life in Latin American infants: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase III study. *Lancet* 2008;371:1181-9.
- 3 Madhi SA, Cunliffe NA, Steele D, Witte D, Kirsten M, Louw C, et al. Effect of human rotavirus vaccine on severe diarrhea in African infants. *N Engl J Med* 2010;362:289-98.
- 4 Ruiz-Palacios GM, Perez-Schael I, Velazquez FR, Abate H, Breuer T, Clemens SC, et al. Safety and efficacy of an attenuated vaccine against severe rotavirus gastroenteritis. *N Engl J Med* 2006;354:11-22.
- 5 Vesikari T, Matson DO, Dennehy P, Van Damme P, Santosham M, Rodriguez Z, et al. Safety and efficacy of a pentavalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine. *N Engl J Med* 2006;354:23-33.
- 6 Armah GE, Sow SO, Breiman RF, Dallas MJ, Tapia MD, Feikin DR, et al. Efficacy of pentavalent rotavirus vaccine against severe rotavirus gastroenteritis in infants in developing countries in sub-Saharan Africa: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2011;376:606-14.
- 7 Zaman K, Dang DA, Victor JC, Shin S, Yunus M, Dallas MJ, et al. Efficacy of pentavalent rotavirus vaccine against severe rotavirus gastroenteritis in infants in developing countries in Asia: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2011;376:615-23.
- 8 Patel M, Shane AL, Parashar UD, Jiang B, Gentsch JR, Glass RI. Oral rotavirus vaccines: how well will they work where they are needed most? *J Infect Dis* 2009;200(suppl 1):S39-48.
- 9 Patel MM, Glass R, Desai R, Tate JE, Parashar UD. Fulfilling the promise of rotavirus vaccines: how far have we come since licensure? *Lancet Infect Dis* 2012;12:561-70.
- 10 Patel M, Pedreira C, De Oliveira LH, Tate J, Orozco M, Mercado J, et al. Association between pentavalent rotavirus vaccine and severe rotavirus diarrhea among children in Nicaragua. *JAMA* 2009;301:2243-51.
- 11 World Health Organization. World health report, WHO, 2003:182-4 (available at www.who.int/whr/2003/en/member_states_182-184_en.pdf).
- 12 Patel MM, Lopez-Collada VR, Bulhoes MM, De Oliveira LH, Bautista Marquez A, Flannery B, et al. Intussusception risk and health benefits of rotavirus vaccination in Mexico and Brazil. *N Engl J Med* 2011;364:2283-92.
- 13 United Nations Children's Fund. Annual number of births, 2012. <http://data.un.org/Data.aspx?d=SOWC&f=inID%3A75>.
- 14 World Health Organization. Generic protocols for (i) hospital-based surveillance to estimate the burden of rotavirus gastroenteritis in children and (ii) a community-based survey on utilization of health care services for gastroenteritis in children. WHO, 2002 (available at http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/WHO_V&B_02.15.pdf).
- 15 Hull JJ, Teel EN, Kerin TK, Freeman MM, Esona MD, Gentsch JR, et al. United States rotavirus strain surveillance from 2005 to 2008: genotype prevalence before and after vaccine introduction. *Pediatr Infect Dis J* 2011;30(1 suppl):S42-7.
- 16 World Health Organization. Generic protocol for monitoring impact of rotavirus vaccination on rotavirus disease burden and viral strains. WHO, 2009 (available at www.who.int/nvui/rotavirus/WHO_IVB_08.16_eng.pdf).

What is already known on this topic

Early studies have shown that the monovalent rotavirus vaccine has had a substantial effect on reducing severe childhood diarrhea after routine introduction in middle and high income settings

However, the efficacy of rotavirus vaccine is lower in low income settings with the highest childhood mortality due to diarrhea

In recently published clinical trials of rotavirus vaccines in Africa, waning of efficacy was also noted among children older than 1 year, and concerns exist about protection against strains heterotypic to the vaccine component

What this study adds

These data offer the first evidence of homotypic and heterotypic protection by the monovalent rotavirus vaccine against severe rotavirus disease after routine use in a high mortality setting

The vaccine provided good protection among children under 1 year of age who bear the largest portion of the severe and fatal childhood rotavirus disease

Protection was sustained during the second year of life, a finding that the clinical trials were not powered to evaluate

- 17 Satten GA, Kupper LL. Sample size determination for pair-matched case-control studies where the goal is interval estimation of the odds ratio. *J Clin Epidemiol* 1990;43:55-9.
- 18 Hosmer DW, Lemeshow S. *Applied logistic regression*, 2nd ed. Wiley, 2000.
- 19 Kleinbaum DG, Klein M, Pryor ER. Modeling strategy for assessing interaction and confounding. In: *Logistic regression: a self-learning text*, 2nd ed. Springer, 2002.
- 20 World Health Organization. WHO-UNICEF estimates of Rota_last coverage, 2012. http://apps.who.int/immunization_monitoring/globalsummary/timeseries/tswucoveragerota_last.html.
- 21 Bahl R, Ray P, Subodh S, Shambharkar P, Saxena M, Parashar U, et al. Incidence of severe rotavirus diarrhea in New Delhi, India, and G and P types of the infecting rotavirus strains. *J Infect Dis* 2005;192(suppl 1):S114-9.
- 22 Bresee JS, Hummelman E, Nelson EA, Glass RI. Rotavirus in Asia: the value of surveillance for informing decisions about the introduction of new vaccines. *J Infect Dis* 2005;192(suppl 1):S1-5.
- 23 Cunliffe NA, Kilgore PE, Bresee JS, Steele AD, Luo N, Hart CA, et al. Epidemiology of rotavirus diarrhoea in Africa: a review to assess the need for rotavirus immunization. *Bull World Health Organ* 1998;76:525-37.
- 24 De Palma O, Cruz L, Ramos H, de Baires A, Villatoro N, Pastor D, et al. Effectiveness of rotavirus vaccination against childhood diarrhoea in El Salvador: case-control study. *BMJ* 2010;340:c2825.
- 25 Ruiz-Palacios GM, Rivera L, Saez-Llorens X, Vergara R, Cheuvart B, Bouckenoghe A, Linhares A, et al. RIX4414 (Rotarix) has demonstrated efficacy during the first 2 years of life in infants from 11 Latin American Countries (abstract). Presented at the 10th International Rotavirus Symposium, 19-21 September 2012, Bangkok, Thailand.
- 26 Madhi S, Lerumo T, Louw C, Kirsten M, Neuzil K, Steele D, et al. Efficacy of human rotavirus vaccine RIX4414 (Rotarix™) in South African infants during the first year of life—an interim report [abstract]. Presented at the 8th International Rotavirus Symposium, June 3, 2008: Istanbul, Turkey.
- 27 Cunliffe NA, Witte D, Ngwira BM, Todd S, Bostock NJ, Turner AM, et al. Efficacy of human rotavirus vaccine against severe gastroenteritis in Malawian children in the first two years of life: a randomized, double-blind, placebo controlled trial. *Vaccine* 2012;30(suppl 1):A36-43.
- 28 Patel M, Pedreira C, De Oliveira LH, Umana J, Tate J, Lopman B, et al. Duration of protection of pentavalent rotavirus vaccination in Nicaragua. *Pediatrics* 2012;130:e365-72.
- 29 Correia JB, Patel MM, Nakagomi O, Montenegro FM, Germano EM, Correia NB, et al. Effectiveness of monovalent rotavirus vaccine (Rotarix) against severe diarrhea caused by serotypically unrelated G2P[4] strains in Brazil. *J Infect Dis* 2010;201:363-9.
- 30 Snelling TL, Andrews RM, Kirkwood CD, Culvenor S, Carapetis JR. Case-control evaluation of the effectiveness of the G1P[8] human rotavirus vaccine during an outbreak of rotavirus G2P[4] infection in central Australia. *Clin Infect Dis* 2011;52:191-9.
- 31 Boom JA, Tate JE, Sahni LC, Rench MA, Hull JJ, Gentsch JR, et al. Effectiveness of pentavalent rotavirus vaccine in a large urban population in the United States. *Pediatrics* 2010;125:e199-207.
- 32 Boom JA, Tate JE, Sahni LC, Rench MA, Quayle O, Mijatovic-Rustempasic S, et al. Sustained protection from pentavalent rotavirus vaccination during the second year of life at a large, urban United States pediatric hospital. *Pediatr Infect Dis J* 2010;29:1133-5.
- 33 Staat MA, Payne DC, Donauer S, Weinberg GA, Edwards KM, Szilagyi PG, et al. Effectiveness of pentavalent rotavirus vaccine against severe disease. *Pediatrics* 2011;128:e267-75.
- 34 Rivera L, Pena LM, Stainier I, Gillard P, Cheuvart B, Smolenov I, et al. Horizontal transmission of a human rotavirus vaccine strain—a randomized, placebo-controlled study in twins. *Vaccine* 2011;29:9508-13.

Accepted: 28 May 2013

Cite this as: *BMJ* 2013;346:f3726

This is an Open Access article distributed in accordance with the Creative Commons Attribution Non Commercial (CC BY-NC 3.0) license, which permits others to distribute, remix, adapt, build upon this work non-commercially, and license their derivative works on different terms, provided the original work is properly cited and the use is non-commercial. See: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>.

Tables

Table 1 Comparison of characteristics of case patients with rotavirus diarrhea, controls with non-rotavirus diarrhea, and controls with non-diarrheal illness, March 2010 to June 2011. Values are numbers (percentages) unless stated otherwise

Characteristic	Cases (rotavirus positive*) (n=400)	Controls			
		Rotavirus negative† (n=718)	P value	Non-diarrhea‡ (n=1200)	P value
Median (range) age, months	12 (1-35)	12 (2-32)	0.26§	12 (1-36)	0.27§
Male sex	260 (65)	400 (56)	0.002	642 (54)	<0.001
Chronic underlying illness	21 (5)	39 (5)	0.89	118 (10)	0.01
History of breast feeding	371 (93)	674 (94)	0.69	1161 (97)	0.002
Day care attendance	61 (15)	57 (8)	<0.001	117 (10)	0.009
Low birth weight (<2500 g)	34/367 (9)	83/680 (12)	0.15	113/1135 (10)	0.7
Maternal education:			0.01		<0.001
None	7/398 (2)	14/712 (2)		20/1194 (2)	
Primary school	119/398 (30)	230/712 (32)		279/1194 (23)	
Secondary school	210/398 (53)	311/712 (44)		591/1194 (50)	
Tertiary school	62/398 (16)	157/712 (22)		304/1194 (25)	
Median (range) No of children in home	2 (1-18)	2 (1-20)	0.12§	2 (1-10)	<0.001§
Median (range) No of people in home	4.5 (1-16)	4.0 (1-20)	0.86§	4 (1-20)	0.47§
Socioeconomic parameters:					
Median (range) No of rooms in home	3 (1-11)	3 (1-11)	0.03§	4 (1-11)	<0.001§
Electricity in home	392 (98)	707 (98)	0.56	1176 (98)	0.92
Own motorized vehicle	99 (25)	177 (25)	0.97	343 (29)	0.14
Telephone in home	85 (21)	171 (24)	0.33	353 (29)	0.002
Computer in home	59 (15)	141 (20)	0.04	284 (24)	<0.001

*Patients admitted to hospital or emergency department with acute gastroenteritis who had enzyme immunoassay stool testing positive for rotavirus.

†Patients admitted to hospital or emergency department with acute gastroenteritis who had enzyme immunoassay stool testing negative for rotavirus.

‡Non-diarrhea hospital controls were matched by age (± 30 days) and hospital.

§P value for Wilcoxon rank sum test.

Table 2 | Effectiveness of rotavirus vaccine against rotavirus disease by severity, Bolivia

Group	One dose vaccinees*			Two dose vaccinees*		
	No/total (%)	Vaccine effectiveness, % (95% CI)		No/total (%)	Vaccine effectiveness, % (95% CI)	
		Crude	Adjusted		Crude	Adjusted
Rotavirus disease requiring hospital admission						
Cases	100/192 (52)	—	—	208/300 (69)	—	—
Non-diarrhea controls†	226/343 (66)	57 (35 to 71)	56 (32 to 72)	857/974 (88)	80 (70 to 86)	77 (65 to 84)
Test negative controls‡	131/208 (63)	39 (8 to 60)	36 (0 to 59)	510/587 (87)	70 (56 to 79)	69 (54 to 79)
Severe rotavirus disease (Vesikari severity score ≥11)						
Cases	92/177 (52)	—	—	196/281 (70)	—	—
Non-diarrhea controls†	207/316 (66)	55 (30 to 70)	54 (28 to 70)	803/912 (88)	79 (68 to 85)	76 (64 to 84)
Test negative controls‡	131/208 (63)	42 (11 to 62)	34 (–5 to 69)	510/587 (87)	70 (55 to 79)	69 (53 to 79)
Very severe rotavirus disease (Vesikari score ≥15)						
Cases	53/91 (58)	—	—	100/138 (72)	—	—
Non-diarrhea controls†	112/166 (67)	40 (–1 to 68)	40 (–9 to 66)	407/461 (88)	77 (60 to 87)	74 (54 to 85)
Test negative controls‡	131/208 (63)	24 (–27 to 55)	6 (–63 to 78)	510/587 (87)	66 (44 to 79)	62 (37 to 88)

*Cases and controls were considered vaccinated with respective number of doses (one or two) if most recent dose was administered ≥14 days before date of case's hospital visit.

†Because non-diarrhea controls were matched on age and hospital, conditional logistic regression was used to compute odds ratio for vaccination (one or two doses) versus no vaccination; crude vaccine effectiveness includes only vaccination in model; adjusted vaccine effectiveness for model with hospital admission includes sex, number of children and rooms in home, and computer; model for Vesikari ≥11 includes sex and number of children and rooms in home; model for Vesikari ≥15 includes sex and number of rooms in home.

‡Unconditional logistic regression was used to compute odds ratio for vaccination (one or two doses) versus no vaccination among cases and test negative controls; crude vaccine effectiveness adjusts only for age in months, month/year of birth, and hospital; adjusted vaccine effectiveness for model with hospital admission includes age in months, month/year of birth, hospital, sex, number of children and rooms in home, and computer; model for Vesikari ≥11 includes age in months, month/year of birth, hospital, sex, and number of children and rooms in home; model for Vesikari ≥15 includes age in months, month/year of birth, hospital, sex, and number of rooms in home.

Table 3| Strain specific effectiveness of two doses of rotavirus vaccine* against hospital admission with rotavirus, Bolivia

Group	No/total (%)	Vaccine effectiveness (95% CI)	
		Crude	Adjusted
G9P[8] hospital admission			
Cases	52/77 (68)		
Non-diarrhea controls†	233/253 (92)	86 (71 to 93)	85 (69 to 93)
Test negative controls‡	510/586 (87)	80 (64 to 89)	80 (60 to 90)
G3P[8] hospital admission			
Cases	30/42 (71)		
Non-diarrhea controls†	126/130 (97)	92 (70 to 98)	93 (70 to 98)
Test negative controls‡	510/586 (87)	72 (23 to 89)	74 (22 to 91)
G2P[4] hospital admission			
Cases	45/56 (80)		
Non-diarrhea controls†	163/180 (91)	68 (16 to 88)	69 (14 to 89)
Test negative controls‡	510/586 (87)	60 (14 to 81)	59 (7 to 78)
G9P[6] hospital admission			
Cases	7/14 (50)		
Non-diarrhea controls†	31/43 (72)	88 (25 to 98)	87 (19 to 98)
Test negative controls‡	510/586 (87)	77 (33 to 93)	80 (37 to 94)

*Cases and controls were considered vaccinated with two doses if the most recent dose was administered ≥ 14 days before date of case's hospital visit.

†For non-diarrheal controls, crude vaccine effectiveness includes only vaccination in model; adjusted vaccine effectiveness for model with G9P[8] includes sex; model for G3P[8] includes number of children rooms in home; model for G2P[4] includes number of children in home and maternal education; model for G9P[6] includes only vaccination.

‡For test negative controls, crude vaccine effectiveness adjusts only for hospital, age in months, and month/year of birth; adjusted vaccine effectiveness for G9P[8] includes hospital, age in months, month/year of birth, and sex; G3P[8] includes hospital, age in months, month/year of birth, sex, and maternal education; G2P[4] includes hospital, age in months, month/year of birth, and number of children in home; G9P[6] includes hospital, age in months, and month/year of birth.

Table 4 Effectiveness (% (95% CI)) of full series of rotavirus vaccine* against rotavirus disease stratified by age, Bolivia

Subgroups	Non-diarrhea controls†		Test negative controls‡	
	Crude	Adjusted	Crude	Adjusted
Rotavirus hospital admission				
All ages	80 (70 to 86)	77 (65 to 84)	70 (53 to 80)	69 (54 to 79)
Age 6-11 months	79 (57 to 90)	77 (51 to 89)	65 (38 to 80)	64 (34 to 80)
Age ≥12 months	78 (62 to 87)	76 (59 to 86)	76 (62 to 87)	72 (52 to 86)
Vesikari score ≥11 (severe diarrhea)				
All ages	79 (68 to 85)	76 (64 to 84)	70 (56 to 79)	69 (53 to 79)
Age 6-11 months	79 (58 to 89)	78 (55 to 91)	66 (39 to 81)	66 (34 to 82)
Age ≥12 months	78 (63 to 87)	76 (59 to 86)	77 (62 to 87)	72 (51 to 86)
G9P[8] hospital admission				
All ages	86 (71 to 93)	85 (69 to 93)	80 (64 to 89)	80 (60 to 90)
Age 6-11 months	89 (65 to 97)	90 (65 to 97)	81 (51 to 92)	82 (59 to 92)
Age ≥12 months	83 (59 to 93)	82 (47 to 94)	78 (73 to 95)	78 (46 to 91)

*Cases and controls were considered vaccinated with respective number of doses (one, two, or three) if most recent dose was administered ≥14 days before date of case's hospital visit.

†Because non-diarrhea controls were matched on age and hospital, conditional logistic regression was used to compute odds ratio for vaccination versus no vaccination; crude vaccine effectiveness includes only vaccination in model; adjusted vaccine effectiveness for model with hospital admission includes sex, day care, and computer for 6-11 months and sex, number of children, and rooms for ≥12 months; model for Vesikari ≥11 includes sex, day care, and telephone for 6-11 months and sex and number of children and rooms for ≥12 months; model for Vesikari ≥15 includes none for 6-11 months and sex and number of rooms for ≥12 months.

‡Unconditional logistic regression was used to compute odds ratio for vaccination versus no vaccination among cases and test negative controls; crude vaccine effectiveness adjusts only for month/year of birth and hospital; adjusted vaccine effectiveness for model with hospital admission and Vesikari ≥11 includes month/year of birth, hospital, sex, and day care for 6-11 months and month/year of birth, hospital, and day care for ≥12 months; adjusted model for G9P[8] includes month/year of birth and hospital for 6-11 and ≥12 months.

Figures

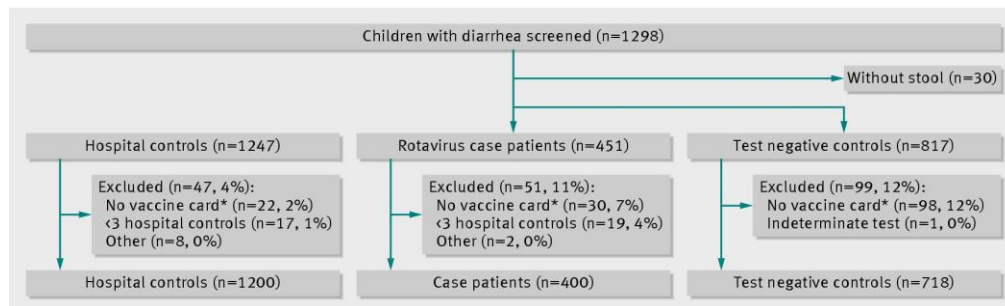


Fig 1 Flow chart depicting enrollment of rotavirus case patients, non-diarrhea controls, and test negative controls. *Children with or without verbal history of vaccination and for whom no records were found in vaccination clinics

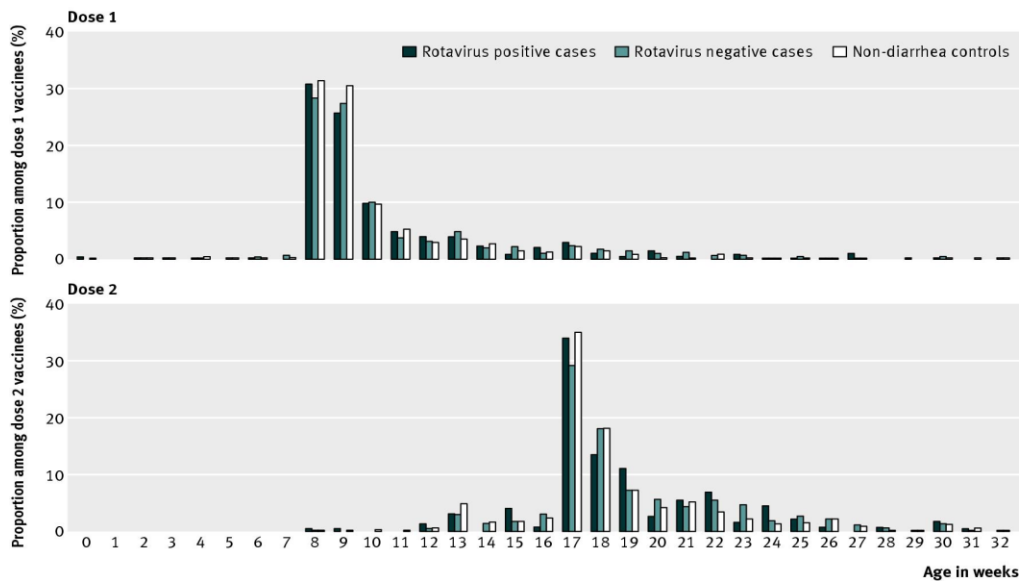


Fig 2 Age at rotavirus vaccine administration among rotavirus positive cases, rotavirus negative controls, and non-diarrhea controls

5.3 Artigo III

Título: Rotavirus vaccines effectiveness in Latin America and Caribbean countries: a systematic review and meta-analysis.

Periódico: submetido *ProVac-EPIC Supplement - Vaccine* em 8 de Maio de 2014.

Autores: **Lúcia Helena de Oliveira**, Luis Antonio Bastos Camacho, Evandro da Silva Coutinho, Cuauhtemoc Ruiz-Matus e José Paulo Gagliardi Leite.

O artigo estima a efetividade das vacinas de RVA nas hospitalizações de crianças ≤ 5 anos, segundo as diferentes vacinas, número de doses, gravidade da doença e epidemiologia dos genótipos de RVA circulantes na ALC utilizando a metodologia de revisão sistemática e meta-análise.

Rotavirus vaccine effectiveness in Latin American and Caribbean countries: a systematic review and meta-analysis

Lúcia Helena de Oliveira^{1*}, Luis Antonio Bastos Camacho², Evandro Silva Freira Coutinho²,
Cuauhtemoc Ruiz-Matus¹, José Paulo Gagliardi Leite³.

Abstract

Introduction: There are two group A rotavirus (RVA) vaccines available worldwide since 2006: monovalent (Rotarix[®], RV1) and pentavalent (RotaTeq[®], RV5). Currently, 16 countries and 1 territory in Latin America and the Caribbean (LAC) have introduced RVA vaccines and since their introduction several impact and effectiveness studies have been conducted in different countries. The purpose of this study was to assess RVA vaccine effectiveness in LAC countries.

Methodology: We conducted a systematic review and meta-analysis of studies in children under-five who were admitted with laboratory-confirmed RVA diarrhea. We searched Medline, WoS, Lilacs, Scopus, SciELO and other sources from 2006 to October 2013. Two independent evaluators identified the studies that met predefined selection criteria and extracted relevant information according to a protocol. Pooled estimates were obtained with fixed and random-effects models and stratified according to selected effect modifiers.

Results: Of the 806 articles meeting the initial criteria, 8 case-control studies which involved 27,713 participants (6,265 cases and 21,448 controls) were included in the final analyses. The pooled estimates were calculated using different types of controls, leading to different degrees of effectiveness. The effectiveness of two doses of RV1 against rotavirus-related hospitalizations ranged from 63.5% (95% CI: 39.2-78.0) to 72.2% (95%CI: 60.9-80.2). Effectiveness ranged from 75.4% (95%CI: 64.6- 82.9) to 81.8% (CI 95%:72.3- 88.1) among infants <12 months for RV1, and from 56.5% (95%CI: 26.2-74.3) to 66.4 (95%CI: 54.1-75.5) for infants >12 months. The RV5 effectiveness for diarrhea with a Vesikari score >11 in infants 6 to 11 months old ranged from 76.1% (95%CI: 57.6- 86.6) to 88.8% (95%CI: 78.3- 94.3). Also, it showed 63.5% (95%CI: 29.4- 82.6) of effectiveness against G2P[4].

Conclusion: RVA vaccines consistently showed protection against diarrhea-related hospitalizations in LAC. Results were more robust for RV1. Effectiveness was shown with different types of controls, but appeared somewhat higher with community controls. Effectiveness was higher among infants <12 months and lower in older children.

Key words: Rotavirus vaccines; Effectiveness; Meta-analysis; Latin America; Caribbean region

Introduction

Group A RVA infect nearly every child by the age of 3–5 years and are globally the leading cause of severe, dehydrating diarrhea in children under five years of age [1, 2]. Globally, RVA diarrhea in 2008 resulted in 453,000 deaths in children under five, comprising 37% of deaths attributable to diarrhea and 5% of all deaths in children < 5 years [3]. In Latin America and the Caribbean (LAC), RVA caused an estimated 15,000 deaths, 75,000 hospitalizations, and 2 million outpatient visits annually before the introduction of RVA vaccines [4]. More recently, after the introduction of RVA vaccines in many countries, RVA caused an estimated 197,000 deaths in 2011 which means that it still is the most important cause of diarrhea-related mortality worldwide [5].

RVA are non-enveloped dsRNA viruses with a segmented genome (11 gene segments) and based on their two outer capsid proteins, VP7 and VP4, RVA have been classified into G (Glycoprotein) and P (Protease-sensitive) genotypes [6, 7]. In 2006, two new human, live-attenuated oral vaccines, RotaTeq[®] (RV5) (Merck and Co.) and Rotarix[®] (RV1) (GSK Biologicals, Rixensart, Belgium), were licensed. RotaTeq[®] (RV5) is an oral pentavalent human-bovine reassortant vaccine (G1, G2, G3, G4, P [8]) that is administered in a 3-dose schedule. Rotarix[®] (RV1) is an oral attenuated human monovalent vaccine (G1P [8]) that is administered in a two-dose schedule. These vaccines have proven to be safe and effective in clinical trials in different countries [8, 9]. They are recommended for use in all countries by the World Health Organization (WHO), particularly in those countries with high diarrhea-related mortality in children <5 years [10].

As of May 2014, 16 LAC countries and one territory have introduced RVA vaccines into their universal immunization program: Brazil, El Salvador, Mexico, Nicaragua, Panama, and

Venezuela in 2006; Ecuador in 2007; Bolivia in 2008; Colombia, Honduras, Peru, and Cayman Island in 2009; Guatemala, Guyana, and Paraguay in 2010; Dominican Republic in 2012 and Haiti in 2014 [11, 12].

In LAC, since the introduction of RVA vaccines, several studies have demonstrated their effectiveness, especially for severe diarrhea leading to hospitalizations and deaths. However, these studies have shown reductions in child hospitalization and mortality with a variation in the magnitude of the protective effect of the vaccines, also when comparing the effect of two different vaccines that are currently available [13-19]. In this paper we reviewed the benefits, limitations, and consistency of results in studies measuring RVA vaccine effectiveness in LAC children. We critically assess the similarities and differences in methodology and findings of observational studies and compare RVA vaccine effectiveness.

2. Methods

2.1 Inclusion criteria

We selected the studies using the following criteria: those conducted in LAC countries in hospitalized children > 5 years; intervention restricted to monovalent or pentavalent RVA vaccines; RVA cases confirmed with laboratory diagnosis; and comparative studies where it was possible to calculate vaccine effectiveness. If data were duplicated or shared in more than one study, we included the most recent publication.

2.2 Literature search

We searched MEDLINE (PubMed data base), Lilacs, Scopus, Web of Science and SciELO, from 2006 to October 2013 using key words related to rotavirus, such as “rotavirus

infection”, “rotavirus disease”, ”rotavirus hospitalization”, “rotavirus death” “rotavirus vaccines” and “rotavirus impact and effectiveness studies” in all countries of LAC. We also contacted 10 experts on RVA studies from LAC looking for unpublished articles, thesis, and reviewed the literature of relevant articles to locate additional publications. Additionally, we obtained and confirmed some data from researchers. There was no restriction regarding languages.

2.3 Study selection and data extraction

In the first phase three independent evaluators reviewed the abstracts in order to identify the studies that met predefined criteria. In the second phase two independent evaluators selected studies where all the relevant information should be abstracted in a data-collection form based on a standardized protocol. Disagreements between evaluators were resolved through discussion. That process was summarized in a flow chart (PRISMA) [20].

2.4 Quality assessment of the methodology

We assessed the methodological quality of the selected studies using the Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for observational studies in meta-analysis [21]. A NOS system score ranges from 0 to 9, with 7 or higher being generally considered satisfactory. We calculated the pooled odds ratios and the respective 95% confidence intervals using fixed and random effect models. The pooled odds ratios were converted into vaccine effectiveness (VE) using the following formula: $VE = (1 - \text{odds ratio}) \times 100$. As the case-control studies presented different control groups such as community, hospitalized controls, RVA negative test (EIA), and combined controls, we decided to summarize the effectiveness of the most common control groups established in the studies which was the hospitalized controls. However, we also pooled

estimations using the other control groups when the number of studies allowed for this type of analysis.

Heterogeneity among studies was assessed through: (i) visual inspection of forest-plots; (ii) chi-squared for heterogeneity and; (iii) Higgins I-squared (I^2). In the case of the latter, values over 40% were considered as indicative of relevant inconsistency between studies.

The main exposition variables studied were vaccine type (RV1 or RV5) and vaccine schedule (complete or incomplete). A subgroup analysis was also performed to explore the role of potential effect modifiers such as the Vesikari Score (>11 and >15), age (6 to 12 months and >12 months); Vesikari Score > 11 and >15 by ages 6 to 12 months and >12 months.

A sensitivity analysis was conducted both to explore possible sources of heterogeneity and assess the accuracy of our findings [22]. We performed an analysis to evaluate the impact on effectiveness by using different types of controls and removing some studies.

Statistical analysis was performed using Stata software. StataCorp 2007. Stata Statistical Software: Release 10. College Station, TX: StataCorp LP.

3. Results

3.1 Identification and characteristics of selected studies

We selected 806 records meeting protocol eligibility criteria and excluded 58 duplicated articles. We excluded an additional 670 articles that did not meet the selection criteria after a thorough revision of titles, abstracts and, in many cases, methodologies. After reviewing the full text of 12 records, four were excluded (Figure 1).

The remaining eight records were case-control studies considered to have a satisfactory methodological quality based on NOS score 7 or higher. Two studies had not been published when the systematic review was conducted and were located by contacting specialists [14, 23].

The final eight studies included a total of 27,713 participants (6,265 cases and 21,448 controls) and all of them were among children <5 years of age. Six studies estimated VE for the RV1 vaccine and two for the RV5 vaccine. From the selected studies, three were conducted in Brazil, two in Nicaragua, and one in each of the following countries: Bolivia, Colombia and El Salvador. Severe diarrhea hospitalizations were the main outcome to estimate VE of complete vaccination schedules using different types of controls (Table 1). Six case-control studies were designed using individual matching, at least for age, and one used frequency matching. The pooled measures of VE for the different outcome definitions showed an important variation according to the type of control. We could not perform any meta-analysis including all of the eight case-control studies together due to the different interventions and specific objectives across studies.

3.2 Effectiveness of Group A RVA vaccines

VE according to different subgroups used primarily hospital controls. If the study was not designed using hospital controls, we performed an analysis using another type of control.

Figure 2 presents the results obtained in our study using random-effect models due to the heterogeneity of estimates across studies.

The pooled estimate of three studies [14, 18, 24] which assessed VE of one dose of RV1 was 55.5% (Figure 1); however, when we performed the analysis using EIA test negative as a control group in the Patel et al. study [18], the pooled VE was reduced to 49.8%.

As shown also in Figure 2, five studies [14, 18, 23-25] evaluated VE of two doses of RV1 against RVA hospitalizations and the pooled measure was 63.5%. When the VE estimate with hospitalized controls was replaced by community controls, used in the Justino et al. study [25], the VE improved to 72.2%.

VE for two doses of RV1 in children from 6 to 12 month was 75.4% in the primary analysis [18, 24-26], and improved to 81.8% when the alternative estimate using community controls of Justino et al. [25] was considered. Regarding the VE in children >12 month, effectiveness was also improved, when using the community control of Justino et al. [25], increasing to 66.4% compared with the results shown on Figure 2 [18, 24-26].

The random-effects pooled measure including three studies [23-25] for RV1 Vesikari > 11 score in all ages presented a VE of 48.2% (Table 2). A sensitivity analysis was done without considering the Cotes-Cantillo et al. study [23], to explore the degree of VE variation. The results changed significantly and VE was 65.0% (95%CI: 40.6 to 79.3). For RV5 Vesikari >11, including two studies [15, 19], pooled VE was 68.4%. Analysis for RV1 Vesikari >15 contemplated three studies [23-25] and VE was 39.2% (Table 2). Sensitivity analysis disregarding Cotes-Cantillo et al. [23] showed a pooled VE of 65.3% (95%CI: 48.6 to 91.5), which is similar to the previous analysis, with both estimates presenting large confidence intervals.

Some of the studies [15, 19, 23, 24] allowed to stratify the subset with Vesikari >11 score by age. The pooled VE in children from 6 to 12 months was 76.2% and 76.1% for RV1 and RV5, respectively, with no substantial heterogeneity between them. However, it is important to note that these analyses contemplated only two studies for RV1 and two for RV5 (Figure 1). The same analysis for RV5 was performed with community controls [15, 19], increasing the VE to 88.8% (95%CI: 78.3 to 94.3), and using combined controls, VE was 76.0% (95%CI: 68.0 to 82.0).

Two studies measured RV1 effectiveness in the subgroup Vesikari >15, by age [23, 24]. The pooled VE for 6 to 11 months was 82.0% (CI 95%:20.8 to 95.9) using community controls

for the De Palma et al. study [24] and EIA test negative for the Cotes-Cantillo et al. study [23]. In the subgroup Vesikari >15, age >12 months, the pooled VE was 81.8% (CI 95%:29.9 to 95.3). In both age groups, the accuracy of the pooled estimates was affected by the large confidence intervals in the Cotes-Cantillo et al. study [23]. The random effects pooled VE from three studies of RV1 [14, 18, 25] was 63.5% (95%CI: 29.4 to 82.6) for the genotype G2P[4] in all ages with a complete vaccination schedule.

4. Discussion

According to our knowledge, this is the first meta-analysis studying RVA effectiveness in LAC which is the main strength of this study. Overall, our findings showed that both vaccines, RV1 and RV5, protected against RVA-diarrhea hospitalizations, especially in children <5 years with a complete vaccination schedule, for whom the effectiveness estimate was around 75%. We highlight the 63.5% effectiveness of RV1 against genotype G2P[4] since this strain seems to be naturally re-emerging in Latin America [27]. Also of interest was the pooled 55.4% VE for one dose of RV1 among infants < 12 months. That implies substantial protection in settings where it is difficult to reach children to complete vaccination schedules and, when it is not possible to administer the complete schedule before 12 months of age, countries should consider giving only one dose of the vaccine. Another important point to be considered is that a significant proportion of RVA cases occur before the age in which the vaccine schedule should be completed [1].

In general, we did not find significant differences in the magnitude of the pooled measures for the main outcomes when compared with the results of the selected studies included in our meta-analysis. Overall, the magnitude of VE across studies indicated the vaccine afforded substantial protection in several countries, which was consistent across different programmatic conditions, peak seasons of RVA infection, and environmental and social and economic status.

The results from this study represent the protective effect of the vaccines in the “real world”, which is often lower compared to the artificial settings of clinical trials. The efficacy of the RV1 against severe RVA gastroenteritis and against RVA-associated hospitalization was 85%, and reached 100% in the case of more severe RVA gastroenteritis in the clinical trial [8]. For the RV5, the efficacy was 94.5% for hospitalizations and emergency visits related to RVA genotypes G1-G4 causing gastroenteritis [9]. This discrepancy of RVA efficacy and the effectiveness of immunization programs for RVA is consistent with results that have been reported in the literature in low and middle income countries of Africa [28].

In this meta-analysis, all studies were case-controls, their case definitions were based on WHO recommendations [29], effectiveness was measured by adjusting for potential confounding variables, and presence of RVA was tested by EIA. Also, cases and controls established the vaccination status based on records which show a degree of accuracy in measuring the main exposure. Many of them remark the exclusion criteria of controls when infants presented a vaccine-preventable disease, avoiding selection bias. Those features give confidence that the studies included in the meta-analysis are homogenous. However, we found an important variation regarding the type of controls in the studies identified. Primarily, we tried to analyze the data using hospital controls, but some of the studies did not use this type of controls as mentioned in the Results session. Consequently, we performed different analysis using different control groups and the effectiveness consistently increased when we included community controls in the pooled measure for all of the outcomes studied.

These findings deserve special attention because it has been recognized that case studies using multiple control groups occasionally produce discordant results [30]. Also, some authors consider the presence of a control selection bias if results are different depending on the control

group utilized. However, the case-control approach is widely used to evaluate VE and all of the observational studies must control confounding variables to ensure estimates are not biased. Nevertheless, protocol studies must evaluate the possibility of a control selection bias which is liable to be introduced when they are not representative of the population producing the cases [31]. Some of the studies in this this meta-analysis, and also other authors, refer that neighborhood controls provide the advantage of controlling potential confounding variables, particularly, socio-demographic status and vaccination access [24, 25, 30]. On the other hand, it is recognized that the "ideal" control group rarely exists in epidemiologic studies [32].

Our study has some limitations, especially regarding the issue discussed above, where different types of controls were used in the studies and different subgroups were also analyzed across the studies. This has shown a variation in the estimates resulting from studies with different types of controls, but the pooled measure of some critical endpoints was performed with a few studies. This also hampered the analysis of the publication bias and the performance of meta-regression. Some of the analyses are not sufficiently robust to conclude the real effectiveness in these different subgroups. This was of particularly concern in the case of RV5, which was assessed in only two studies, one of them sponsored by the vaccine manufacturer. On the other hand, consistent results from different outcomes provided wider and complementary perspectives of the performance of RVA vaccination. Another possible limitation refers to selecting only case-control studies as mentioned before. The definition and selection of controls from studies were assessed with a good score in the NOS. However, it could be possible that this score did not identify some of the weaknesses of the study design, in particular, the control selection.

The studies of Cotes-Cantillo et al. [23] and Justino et al. [25] presented discrepant VE results when compared with other studies, since they showed that the estimation of effectiveness had an important variation in its magnitude. The sensitivity analyses, when we excluded Cotes-Cantillo et al. study [23], significantly increased the effectiveness of the outcomes in the meta-analysis which also occurred when the community control from the Justino et al. study [25] was used. Authors explored some explanations for this discrepancy. In the Justino et al.[25] study, it is recognize that hospital controls are under-vaccinated; in the Cotes-Cantillo et al. study [23] – which found a lower VE – authors raised the issue of the high vaccine coverage when the study was conducted.

In the systematic review we found a significant number of studies in LAC that measured the impact of these vaccines, focusing mainly on RV1, but they were conducted with different designs and estimation measures; thus, it was not possible for us to include them in the meta-analysis. However, all of these studies showed that vaccines had a significant impact in reducing RVA-diarrhea hospitalizations in children under five years of age [13, 16, 33] which is consistent with the vaccine effectiveness results presented in our findings.

In LAC, 16 countries and one territory had introduced the RVA vaccines up to May 2014, but few of them performed studies measuring effectiveness, according to our systematic review. Nonetheless, it would be difficult to conduct effectiveness studies in other LAC countries due to the high vaccine coverage in most of them [34], which hampers the contrast of the odds of exposure between cases and controls. Fifty seven countries– mostly middle-and high-income countries – have introduced RVA vaccines into their national immunization programs [35]. Therefore, there are many opportunities to conduct effectiveness studies in countries where coverage still allows it, as well as in those that will be introducing the vaccines in the future.

These studies should consider analyzing the same outcomes and using the same group of controls that could generate a meta-analysis involving a greater number of studies in different settings.

In summary, in our meta-analysis on RVA vaccine effectiveness in LAC we found evidence that these vaccines provide good protection against hospitalizations caused by RVA diarrhea in children from 6 to 12 months; lower protection with incomplete schedule and in children >12 months, especially when considering RV1, since there was a greater number of studies to meta-analyze. This evidence ratifies the importance of these vaccines as a public health intervention, reducing the burden of severe RVA disease and supports WHO recommendation to introduce the vaccine into the routine immunization program [10].

Conflicts of interest

We declare that we have no conflicts of interest.

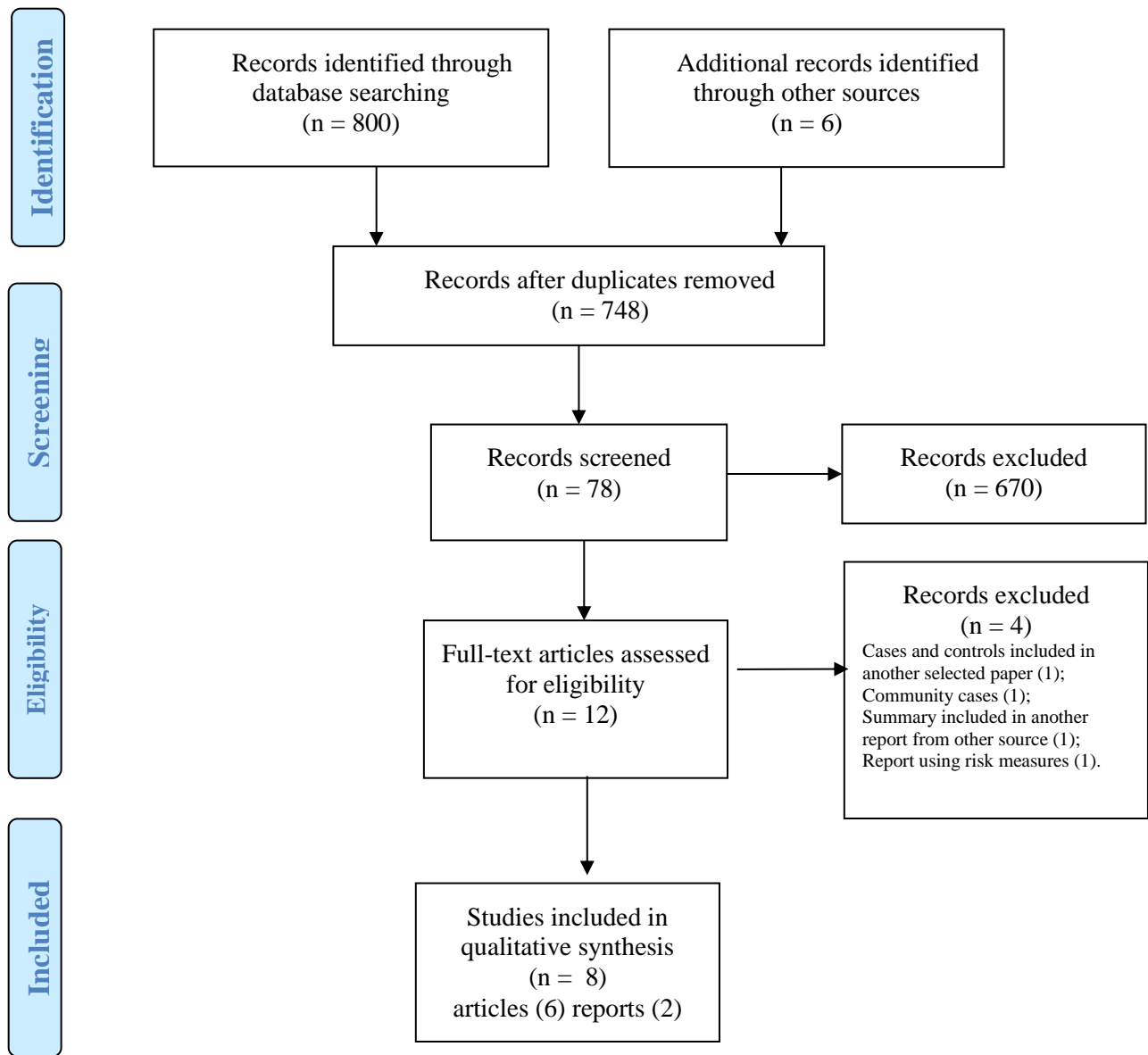
References

1. Sanderson, C., et al., *Global review of rotavirus morbidity and mortality data by age and region*. 2011, London School of Hygiene & Tropical Medicine: London.
2. World Health Organization, *Rotavirus vaccines WHO Position Paper - January 2013*. Wkly Epidemiol Rec 2013 **88**: p. 49-64.
3. Tate, J.E., et al., *2008 estimate of worldwide rotavirus-associated mortality in children younger than 5 years before the introduction of universal rotavirus vaccination programmes: a systematic review and meta-analysis*. Lancet Infect Dis, 2012 **12**(2): p. 136-41.
4. Pan American Health Organization. *Experts Meeting in Mexico City to discuss Rotavirus 2004* [cited 2014 26 March]; Available from: <http://www.paho.org/english/ad/fch/im/sne2605.pdf>.
5. Lanata, C.F., et al., *Global causes of diarrheal disease mortality in children <5 years of age: a systematic review*. PLoS One, 2013. **8**(9): p. e72788.
6. Estes, M.K. and J. Cohen, *Rotavirus gene structure and function*. Microbiol. Rev, 1989. **53**(4): p. 410-449.

7. Estes, M.K. and A.Z. Kapikian, *Rotaviruses*, in *Fields virology.*, Knipe D, et al., Editors. 2007, Wolters Kluwer Health; Lippincott, Williams and Wilkins: Philadelphia, Pennsylvania, USA. p. 1917-1975.
8. Ruiz-Palacios, G.M., et al., *Safety and efficacy of an attenuated vaccine against severe rotavirus gastroenteritis*. N Engl J Med, 2006. **354**(1): p. 11-22.
9. Vesikari, T., et al., *Safety and efficacy of a pentavalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine*. N Engl J Med, 2006. **354**(1): p. 23-33.
10. World Health Organization, *Rotavirus vaccines*. Wkly Epidemiol Rec, 2009. **84**: p. 533-40.
11. de Oliveira, L.H., et al., *Progress in the introduction of the rotavirus vaccine in Latin America and the Caribbean*. Pediatr Infect Dis J, 2011. **30**: p. S61-S66.
12. Organización Panamericana de la Salud. *Mapa de introducción de las nuevas vacunas*. 2014 [cited 2014 26 May]; Available from: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=1857&Itemid=1628&lang=es.
13. do Carmo GM, et al., *Decline in diarrhea mortality and admissions after routine childhood rotavirus immunization in Brazil: a time-series analysis*. PLoS Med 2011. **8**(4): p. e1001024.
14. Ichihara, M.Y., et al., *Effectiveness of rotavirus vaccine against hospitalized rotavirus diarrhea: A case-control study*. Vaccine, 2014. **32**(23): p. 2740-7.
15. Mast, T.C., et al., *Case-control study of the effectiveness of vaccination with pentavalent rotavirus vaccine in Nicaragua*. Pediatr Infect Dis J, 2011. **30**(11): p. e209-15.
16. Molto, Y., et al., *Reduction of diarrhea-associated hospitalizations among children aged <5 years in Panama following the introduction of rotavirus vaccine*. Pediatr Infect Dis J, 2011. **30**: p. S16-S20.
17. Patel, M., *Association between pentavalent rotavirus vaccine and severe rotavirus diarrhea among children in Nicaragua*. JAMA, 2009. **301**(21): p. 2243.
18. Patel, M., et al., *Effectiveness of monovalent rotavirus vaccine in Bolivia: case-control study*. BMJ, 2013. **346**: p. f3726.
19. Patel, M., et al., *Duration of protection of pentavalent rotavirus vaccination in Nicaragua*. Pediatrics, 2012. **130**(2): p. e365-e372.
20. Liberati, A., et al., *The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration*. PLoS Med, 2009. **6**(7): p. e1000100.
21. Wells, G.A., et al. *The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomised studies in meta-analyses*. 2014 [cited 2104 21 March]; Available from: http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp.
22. Egger, M., G. Smith, and G. Altman, *Systematic reviews in health care: meta-analysis in context*. 2007, BMJ: London.
23. Cotes-Cantillo, K., et al., *Effectiveness of the monovalent rotavirus vaccine in Colombia: a case-control study*. Vaccine, 2014. **32**(25): p. 3035-40.
24. de Palma, O., et al., *Effectiveness of rotavirus vaccination against childhood diarrhoea in El Salvador: case-control study*. BMJ, 2010. **340**(jun15 2): p. c2825-c2825.
25. Justino, M.C., et al., *Effectiveness of the monovalent G1P[8] human rotavirus vaccine against hospitalization for severe G2P[4] rotavirus gastroenteritis in Belem, Brazil*. Pediatr Infect Dis J, 2011. **30**(5): p. 396-401.

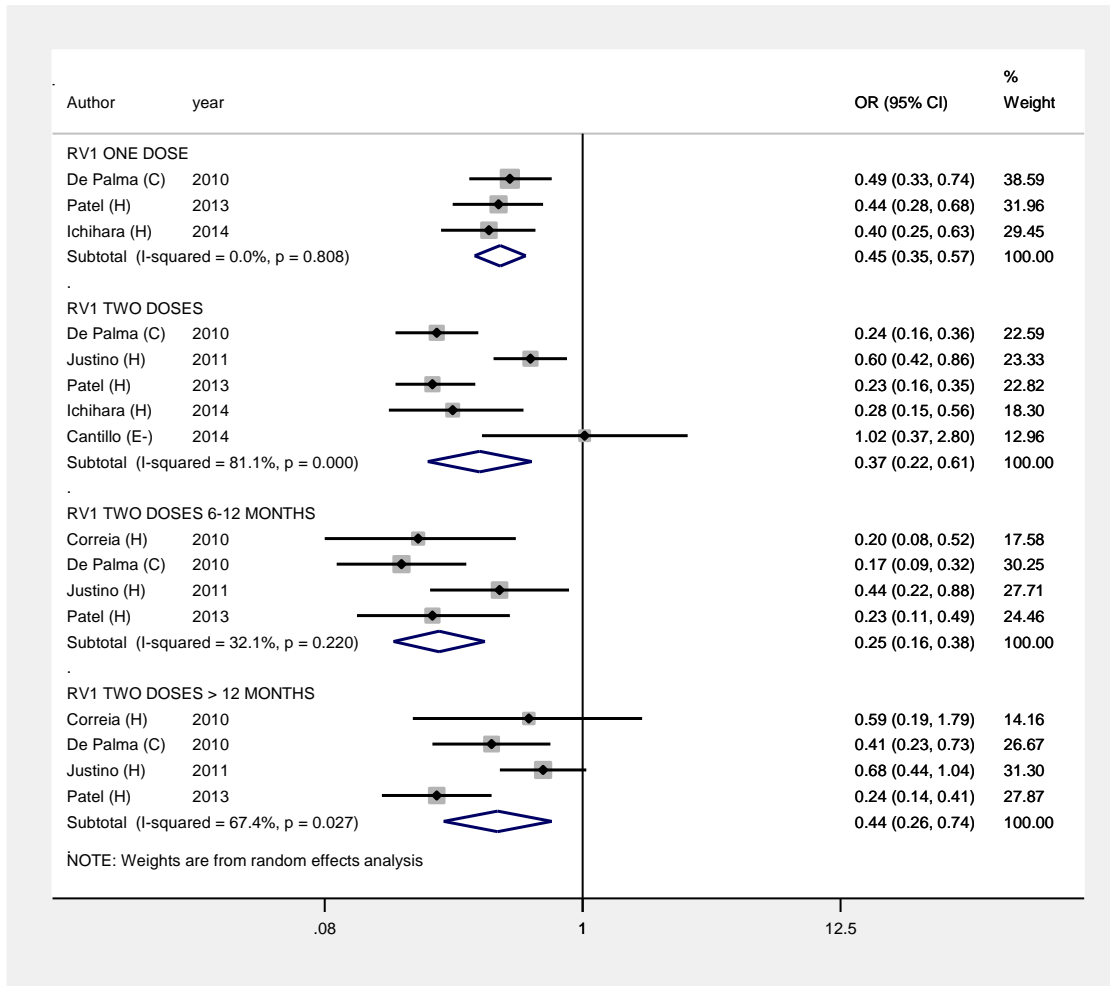
26. Correia, J.B., et al., *Effectiveness of monovalent rotavirus vaccine (Rotarix) against severe diarrhea caused by serotypically unrelated G2P[4] strains in Brazil*. J Infect Dis, 2010. **201**(3): p. 363-9.
27. Leite, J.P., F.A. Carvalho-Costa, and A.C. Linhares, *Group A rotavirus genotypes and the ongoing Brazilian experience: a review*. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2008. **103**(8): p. 745-53.
28. Madhi, S.A., et al., *Effect of human rotavirus vaccine on severe diarrhea in African infants*. N Engl J Med, 2010. **362**(4): p. 289-98.
29. World Health Organization. *Generic protocol for monitoring impact of rotavirus vaccination on gastroenteritis disease burden and viral strains*. 2008 [cited 2014 21 March]; Available from: http://whqlibdoc.who.int/hq/2008/WHO_IVB_08.16_eng.pdf.
30. Wacholder, S., et al., *Selection of controls in case-control studies. II. Types of controls*. Am J Epidemiol, 1992. **135**(9): p. 1029-41.
31. Rodrigues, L.C. and P.G. Smith, *Use of the case-control approach in vaccine evaluation: efficacy and adverse effects*. Epidemiol Rev, 1999. **21**(1): p. 56-72.
32. Wacholder, S., et al., *Selection of controls in case-control studies. III. Design options*. Am J Epidemiol, 1992. **135**(9): p. 1042-50.
33. Tate, J., *Global impact of rotavirus vaccines*. Expert Rev Vaccines, 2010 **4**: p. 395-407.
34. Organización Panamericana de la Salud. *Inmunización en las Américas*. 2013 [cited 2014 30 April]; Available from: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=23231&Itemid=.
35. PATH. *Rotavirus vaccine introductions: worldwide*. 2014 [cited 2014 1st June]; Available from: <http://sites.path.org/rotavirusvaccine/rotavirus-advocacy-and-communications-toolkit/country-introduction-maps-and-list/>.

Figure 1: Flow of information through the different phases of a systematic review*



*PRISMA [20]

Figure 2: Monovalent rotavirus vaccine effectiveness, according number of doses and age.



RV1: Monovalent vaccine
 C: Community control
 H: Hospital control
 E-: EIA test negative

Table 1. Characteristics of 8 case-control studies selected for the meta-analysis by year, country, vaccine, objective, number of cases and controls.

Author	Year	Country	Vaccine	Study objective	Number of cases	Type and number of controls
Correia et al. [26]	2010	Brazil	RV1	VE against severe diarrhea and hospitalization caused by infection with fully heterotypic G2[P4] strains	70	Hospital=416 EIA test negative=484
De Palma et al. [24]	2010	El Salvador	RV1	VE of 2 doses of the vaccine against rv diarrhea requiring hospital admission	323	Neighborhood=969
Justino et al. [25]	2011	Brazil	RV1	VE of 2 or 1 dose of vaccine in hospitalized children	538	Neighborhood=346 Hospital=507
Mast et al.[15]	2012	Nicaragua	RV5	VE in reducing risk of RVA resulting in hospitalization and emergency department visit with 3 doses of vaccine	502	Neighborhood= 1685 Hospital= 1894 Combined= 3579
Patel et al.[19]	2012	Nicaragua	RV5	To define the duration of protection of 3 doses of vaccine	1016	EIA test negative= 4930 Neighborhood and hospital= 5627
Patel et al.[18]	2013	Bolivia	RV1	VE against hospital admission with 2 doses of vaccine	400	Hospital=1200 EIA test negative= 718
Ichihara et al. [14]*	2014	Brazil	RV1	VE in preventing hospitalization against RVA and genotype specific with 2 doses of vaccine	215	Hospital= 1961
Cotes-Cantillo et al. [23]*	2014	Colombia	RV1	VE against severe diarrhea with 2 doses of vaccine	173	Rapid test negative for RVA confirmed for EIA test negative= 711

*Ichihara and Cotes-Cantillo were selected from specialist reports in 2013 and published in 2014.

Table 2. Summary of RV1 and RV5 effectiveness, according type of control and Vesikari subgroups, using random effects model.

Study/Ref/Country	Type of control	%Weight	Heterogeneity, 1%	Summary VE	95%CI
Vesikary >11 all ages by vaccine RV1 and RV5					
de Palma et al.[24] ELS	Community	21.6			
Justino et al.[25] BRA	Hospital	20.6	79.2	48.2*	-83.6 to 97.6
Cotes-Cantillo et al.[23] COL	EIA test negative	11.8			
Mast et al.[15] NIC		22.7	0	68.4**	56.4 to 77.1
Patel et al.[19] NIC		23.3			
Vesikary >15 all ages by vaccine RV1					
de Palma et al.[24] ELS	Community	25.4			
Justino et al.[25] BRA	Hospital	25.1	78.4	39.2*	-97 to 84.9
Cotes-Cantillo et al.[23] COL	EIA test negative	22.9			
Vesikari >11 in children from 6 to 11 months by vaccine RV1 and RV5 with complete schedule					
de Palma et al.[24] ELS	Community	27.43			
Cotes-Cantillo et al.[23] COL	EIA test negative	7.6	0	76.2*	47.9 to 89.1
Mast et al.[15] NIC	Hospital	23.9			
Patel et al.[19] NIC	Hospital	41.1	0	76.1**	57.6 to 86.6
Vesikari >11 in children > 12 months by vaccine RV1 and RV5 with complete schedule					
de Palma et al.[24] ELS	Community	26.7			
Cotes-Cantillo et al.[23] COL	EIA test negative	14.8	77.7	22.8*	-1.91 to 79.6
Mast et al.[15] NIC	Hospital	29.9			
Patel et al.[19] NIC	Hospital	28.6	0	61.6**	42.8 to 70.8

* RV1 (monovalent vaccine)

** RV5 (pentavalent vaccine)

ELS-El Salvador; BRA-Brazil; COL-Colombia; NIC-Nicaragua.

6. Discussão

Os resultados apresentados neste estudo geraram conhecimentos com relação às vacinas RVA nos países latino-americanos, a saber: i) avaliamos o processo de introdução das vacinas RVA em relação à tomada de decisão e aspectos programáticos da introdução de uma nova vacina no calendário básico de imunizações; ii) realizamos o primeiro estudo sobre a efetividade da vacina RV1 em um país elegível pela Aliança GAVI (Aliança Global para Vacinas e Imunizações); iii) assim como, a primeira revisão sistemática e meta-análise que analisou a efetividade destas vacinas em países da AL.

Como mencionado anteriormente, a região das Américas, sobretudo a AL, foi a primeira a introduzir as vacinas RVA, entre outras novas vacinas, nos esquemas dos programas ampliados de imunização. As vacinas são reconhecidamente uma das medidas de intervenção de saúde pública mais custo-efetivas e o uso das vacinas tradicionais demonstrou rapidamente uma diminuição da morbimortalidade na infância. A oportunidade de introduzir novas vacinas, especialmente as vacinas RVA, de forma rápida em países em desenvolvimento resultou em muitas experiências a serem compartilhadas com outros países e também lições aprendidas para a futura introdução de novas vacinas em programas universais de imunização (55, 79, 91).

Existem vários desafios para que os países em desenvolvimento tenham acesso a novas vacinas, mas os países latino-americanos têm sido um exemplo em relação a este tema de saúde pública (79). A OPAS, como um organismo internacional com a missão de prestar cooperação técnica aos países membros, realizou várias atividades para abordar os diferentes aspectos relacionados ao processo de introdução de novas vacinas. Foram organizadas reuniões regionais e sub-regionais como fórum de discussão dos passos que os países deveriam tomar para introduzir uma nova vacina. Especificamente para as vacinas RVA, a implementação da vigilância epidemiológica sentinela hospitalar de diarreias por RVA sempre teve uma ênfase especial nas discussões e alguns países como, por exemplo, Bolívia e El Salvador, utilizaram a

plataforma de vigilância para a captação de casos nos estudos de efetividade (artigos 2 e 3 da tese). Um importante tema de debate referiu-se à implementação ou fortalecimento de um sistema de vigilância de eventos adversos com capacidade de detectar eventos graves, sobretudo, porque na década de 1990 uma vacina de RVA havia sido retirada do mercado por estar associada à intussuscepção (IS) (92). Outros temas discutidos foram a avaliação da capacidade da “cadeia de frio” em todos os níveis, isto é, desde o nível central de armazenamento até os níveis locais onde as vacinas são conservadas em caixas térmicas nas salas de vacinação, treinamentos para os profissionais de saúde entre outros aspectos logísticos e programáticos (55, 84). Deve-se ressaltar a iniciativa “Promoção da Tomada de Decisões Baseada em Evidências para a Introdução de Novas Vacinas” (*Promotion of Evidence-Based Decision Making on New Vaccine Introductions - ProVac*) que tem como objetivo fortalecer as capacidades nacionais para a tomada de decisões baseada em evidências. ProVac representou um marco importante para que os países realizassem estudos de custo-efetividade antes da introdução de uma vacina (91).

Durante as reuniões organizadas pela OPAS com os países, foi contemplada a discussão sobre a importância de medir o impacto da introdução de uma nova vacina. O impacto das vacinas RVA deve avaliar a diminuição de casos graves hospitalizados e mortalidade por diarreias em geral e, especificamente, por RVA em crianças ≤ 5 anos (55, 93).

Para uma vacina ser licenciada devem ter sido realizados ensaios clínicos, randomizados, preferencialmente, duplo-cegos para medir sua eficácia e segurança. A randomização deve assegurar que vacinados e não vacinados sejam similares quanto a fatores de risco, outros que não a vacina, para a doença e reações adversas em estudo (94). Quando esta vacina é introduzida no mercado e começa a ser administrada na população alvo, é importante realizar estudos de efetividade, os quais irão medir o desempenho desta intervenção no “mundo real”. Dependendo do mecanismo de ação da vacina, a efetividade pode ter uma maior ou menor magnitude, comparada à eficácia dos ensaios clínicos. Frequentemente, e parece ser o caso das vacinas de RVA, a efetividade é menor que a eficácia, pois a vacina utilizada em

condições reais é administrada em grupos não selecionados como nos estudos, os esquemas de vacinação podem não respeitar as idades e intervalos entre as doses recomendados; pode haver interferências de outras vacinas aplicadas simultaneamente, do estado nutricional, aleitamento materno, assim como aspectos logísticos e programáticos, por exemplo, “cadeia de frio” e administração da vacina (19).

Dado que as vacinas RV1 e RV5 foram introduzidas na AL logo após o licenciamento pelas instituições reguladoras, os países desta região tiveram a grande oportunidade de realizar estudos de efetividade destas vacinas, produzindo informações importantes para ALC e também para outros países do mundo. Neste sentido, os países foram estimulados a realizar estudos de efetividade e, igualmente, outros desenhos de estudo para medir o impacto das vacinas RVA. Vários destes estudos consistiram em uma colaboração entre os Ministérios de Saúde, OPAS e CDC como, por exemplo, o estudo de efetividade da Bolívia aqui apresentado e estudos em El Salvador, Nicarágua, Panamá e Brasil (57, 58, 86, 89, 90, 95)

Além de originar conhecimentos, a realização destes estudos merecia um importante fórum de discussão, uma vez que introduzir uma vacina com um custo muito superior às vacinas já incorporadas nos programas de imunização deveria ter justificativas bastante contundentes. Naquele momento, em 2006, a inclusão de uma vacina RVA representava 97,3% do custo do esquema básico de imunizações no orçamento anual do programa de imunizações (84). Levando-se em consideração a diminuição do orçamento nacional de muitos países, como decorrência da crise econômica global, tornava-se difícil a inclusão de novas vacinas, cada vez mais custosas, nos programas de imunização. Porém, por outro lado, os países em desenvolvimento têm sido impulsionados a incluir medidas de prevenção que adicionam as novas vacinas para alcançar os ODM (91). De Oliveira et al (2013) referem que os ODM, principalmente, o número 4, o qual prevê uma redução de dois terços da mortalidade infantil de 1990 até 2015, foi considerado um importante fator de decisão para a inclusão das vacinas RVA e de pneumococo conjugada no esquema básico de imunizações (79). A diarreia nas crianças ≤ 5 anos é considerada uma das 6

principais causas de mortalidade em nível mundial (96) e a introdução das vacinas de RVA, portanto, é uma importante medida de prevenção para o alcance deste objetivo. Em 2006, o Conselho Diretivo da OPAS, em sua reunião anual de ministros da saúde, passou uma resolução recomendando que os governos deveriam incluir e manter nos programas de imunizações as vacinas RVA, pneumococo conjugada e vírus do papiloma humano (VPH). O objetivo desta resolução foi apoiar a inclusão de novas vacinas nos países e a mesma foi aceita por unanimidade pelos ministros da saúde (84, 91).

Embora a segurança das vacinas RVA não tenha sido objeto dos estudos aqui apresentados, é importante mencionar este tema, pois sempre esteve muito relacionado às discussões das vacinas RVA. Durante os ensaios clínicos de RV1 e RV5, um dos objetivos estudados foi a associação entre vacina e IS, conforme citado anteriormente. Não foi demonstrado risco de associação entre vacina e IS (63, 66), como o que havia ocorrido com a vacina RotaShield® (92). No entanto, era necessário estudar esta associação após a introdução massiva das vacinas na população, pois a IS, por ser um evento raro, poderia estar associado às vacinas RVA somente quando centenas de milhares de doses fossem aplicadas. O primeiro estudo, em nível mundial, para avaliar se a vacina RV1 estava associada a IS realizou-se no Brasil e México de agosto de 2008 a agosto de 2010 (97). Este estudo concluiu que a RV1 apresentava um risco de 1 caso de IS para cada 51.000 a 68.000 crianças vacinadas, representando um excesso de 96 hospitalizações e 5 mortes nos dois países; enquanto prevenia mais de 80.000 hospitalizações e 1.300 mortes. No México em um estudo caso-controle as chances de IS após a primeira dose da vacina, de um a sete dias, foram 5,8 vezes maiores do que nos não vacinados (*odds ratio*: 5,8 (IC: 2,6-13,0)). No Brasil não houve aumento do risco na primeira dose, mas após a segunda dose, as chances de IS foram 1,9 maiores do que nos não vacinados também de um a sete dias (*odds ratio*: 1,9 (IC: 1,1-3,4)) (97). Os resultados deste estudo e a vigilância pós-licenciamento em outros países do mundo levaram a OMS a corroborar a recomendação de uso destas vacinas nos programas de imunizações (59). Na AL, em 2012, foi estimado que nos 14 países que haviam introduzido RVA seriam prevenidas anualmente 144.746 hospitalizações e 4.124 mortes, enquanto as vacinas poderiam

causar 172 hospitalizações e 10 mortes adicionais devido a IS (98). Isto significa que o risco-benefício é de 1 para 841 e 1 para 395 hospitalizações e mortes respectivamente (98). Estes estudos entre outros realizados, principalmente, nos EUA e Austrália, foram suficientes para que os países tenham garantia em que os benefícios das vacinas são muito superiores ao risco. Entretanto, segue a recomendação de manter a vigilância deste evento.

Atualmente, as vacinas RVA estão no programa de imunização de 60 países entre eles, 13 países classificados como de alta renda per capita (83). Em uma revisão sistemática de estudos de efetividade da vacina RV5 em países desenvolvidos, dos 6 estudos selecionados, 5 foram realizados nos EUA o qual introduziu a RV5 em 2006. A estimativa de efetividade da RV5 contra hospitalizações nesta revisão sistemática variou de 85,0% (IC 95%: 30,0%–94,0%) a 100,0% (IC 95%: 85,0%–100,0%) (99). Payne e colaboradores (2013) compararam a efetividade das vacinas RV1 e RV5 nos EUA. RV5 evidenciou uma efetividade de 84,0% (IC 95%: 78,0%-88,0%) e RV1 de 70,0% (IC 95%: 39,0%-86,0%) para hospitalizações e visitas à emergência combinadas (100). Em Navarra, Espanha, foi demonstrada uma efetividade da RV1 e RV5 de 83,0% (IC 95%: 65,0%-93,0%) para prevenir hospitalizações e não foi encontrada uma diferença de efetividade significativa entre as duas vacinas (101).

Comparando as estimativas anteriormente citadas com os resultados encontrados na meta-análise realizada na ALC (102), observamos que a efetividade da vacina RV1 é, em geral, mais baixa, quando confrontamos com o estudo de Castilla e colaboradores (2012); para RV5 nossos resultados aproximam-se mais do que foi encontrado na revisão sistemática de países desenvolvidos de Gianquinto e colaboradores (2011) (99) e Castilla e colaboradores (2012) (101). Em nosso estudo de meta-análise a RV1 apresentou uma estimativa que variou de 63,5% a 72,2% e RV5, de 76,1% a 88,8% para diarreias devidas a RVA com escore de Vesikari >11 em crianças ≤12 meses. Nos resultados encontrados no estudo que realizamos na Bolívia (90), observou-se que a efetividade de RV1 para esquema completo foi de 69,0% e 77,0% com controles EIA negativos e controles hospitalizados com outras patologias, respectivamente. É importante ressaltar que este estudo está incluído na meta-análise

referida anteriormente. Tanto os resultados da meta-análise, quanto os resultados do estudo na Bolívia apresentam estimativas mais similares àqueles de Payne e colaboradores (2013), realizado nos EUA (100).

Temos que comentar, no entanto, que as comparações de resultados realizadas anteriormente, devem ser interpretadas cautelosamente, uma vez que os desenhos de estudos, os critérios de seleção de casos e controles, as variáveis de estratificação, interação e desfechos dos estudos anteriormente mencionados, podem não ser exatamente aqueles utilizados na meta-análise deste estudo. Por exemplo, os estudos anteriormente citados estimam a efetividade combinada das duas vacinas (RV1 e RV5); os casos são selecionados também de visitas à emergência; os controles são selecionados com diferentes critérios. Além de ponderar estas diferenças no desenho dos estudos, há que considerar também o que já está descrito na literatura. Está evidenciado que a resposta imune às vacinas RVA em países desenvolvidos é superior àquelas observadas em países em desenvolvimento; e esta observação foi descrita desde os ensaios clínicos de fase III destas vacinas. Ainda que a imunogenicidade não esteja diretamente relacionada à eficácia/efetividade da vacina, pode oferecer alguma evidência de que a resposta à vacina será menor. Estas variações na resposta imune são esperadas, uma vez que existem importantes diferenças na epidemiologia da doença rotavírica em países desenvolvidos e em desenvolvimento e que, possivelmente, refletem nas diferenças da infecção. As características do hospedeiro (fatores genéticos, nível de nutrição, aleitamento materno, entre outros fatores), padrão de circulação dos diferentes genótipos dos RVA, a flora intestinal, incluindo a presença de outros enteropatógenos, são algumas das variáveis que sugerem a diminuição na resposta às vacinas RVA (103).

Uma das questões que sempre foi objeto de indagação, quando se discute a eficácia/efetividade das vacinas RVA, refere-se à concomitante administração de duas vacinas orais, neste caso, RV1 ou RV5 e a vacina oral da poliomielite (VOP). Dado que existe uma meta de erradicação da poliomielite e a grande maioria dos países no mundo utilizam VOP no esquema básico de imunizações, era importante saber se existia interferência na resposta imunológica às duas vacinas. Patel e colaboradores

(2011) (97) revisaram os dados disponíveis sobre este tema e encontraram que as vacinas RVA não interferem na resposta imune para a VOP, enquanto a resposta imune à vacina de RVA é mais baixa quando co-administrada com a VOP. No entanto, alguns dados sugerem que esta interferência é maior para a primeira dose da vacina RVA, provavelmente, porque está associada com uma maior replicação intestinal das cepas de poliovírus, mas que seria superada com a administração do esquema completo das vacinas RVA. Esta diferença na resposta imune à primeira dose da vacina de RVA poderia ter outras implicações e os autores apontam que, especulativamente, isto estaria relacionado ao aumento de risco de IS para a primeira dose da RV1 no México e Austrália, onde esta vacina é co-administrada com a vacina de poliomielite inativada (IPV); enquanto no Brasil onde a primeira dose de RV1 era administrada com VOP não foi observado risco de IS para esta dose. Os autores, entretanto, sugerem que os dados existentes são limitados e que, possivelmente, existam diferenças entre os países desenvolvidos e em desenvolvimento (73). Os resultados apresentados neste estudo foram realizados em países que utilizavam até este momento a vacina de VOP na primeira dose a qual é aplicada concomitantemente com a vacina RVA.

Os genótipos de RVA também representam uma importante questão no contexto de pós - introdução das vacinas. É fundamental que se siga monitorando os genótipos circulantes de RVA nos países e que esta vigilância de laboratório esteja associada à vigilância epidemiológica e clínica estabelecida nos hospitais sentinela. Este monitoramento permitirá ao longo do tempo elucidar o perfil dos genótipos, detectando emergência de um genótipo, possíveis substituições e reestruturações genótípicas. Ainda devem-se ressaltar os casos de reestruturação gênica descritos com a RV1 e a RV5 com amostras selvagens (104). Até este momento não há evidências de substituição de genótipos na fase pós-introdução das vacinas RVA na ALC e os diferentes genótipos identificados nos diferentes países, sugerindo que representam apenas a flutuação cíclica dos sorotipos circulantes (52, 105). Neste contexto, torna-se relevante também que nos estudos de efetividade das vacinas sejam analisados os diferentes genótipos de RVA. Em nosso estudo de meta-análise e estudo na Bolívia encontramos uma efetividade entre 59,0% e 69,0% para G2P[4] dependendo do grupo

controle utilizado, ou seja, mais baixas que as estimativas dos esquemas completos de vacina sem estratificar por tipo de genótipo. Para outros genótipos: G9P[8], G3P[8] e G9P[6], no estudo na Bolívia as estimativas de efetividade foram mais altas variando de 74,0% a 93,0% (90, 102). No estudo de Payne e colaboradores (2013) (100) foi encontrada uma efetividade de 87,0% para G2P[4] que corresponde a uma estimativa bastante superior as encontradas nos nossos estudos. Isto difere dos resultados encontrados para esquemas completos das vacinas, conforme comentado anteriormente.

Nos estudos de efetividade que têm sido realizados recentemente, há questionamento quanto à proteção conferida pelas vacinas em crianças ≥ 12 meses de idade. Como aludido anteriormente, é provável que este questionamento também esteja relacionado a variáveis tais como: i) condições sócio-demográficas; ii) genótipos circulantes; iii) e, possivelmente, o tempo de introdução da vacina RVA no país. Na meta-análise que compõe este estudo, observamos que a efetividade da vacina RV1 diminui nos ≥ 12 meses, a qual varia de 56,5% a 66,4% dependendo do grupo de controle utilizado. Entretanto, no estudo da Bolívia, a efetividade da RV1 é praticamente a mesma nos menores e maiores de 12 meses. Esta também foi a conclusão de dois estudos realizados nos EUA, inferindo que a proteção conferida pela vacina RV1 se mantém nos dois primeiros anos de vida e, em um dos estudos, foi encontrado que a vacina RV5 protege nos quatro primeiros anos de vida (100, 106).

Como pôde ser observado no estudo de caso-controle para avaliar a efetividade da vacina RV1 na Bolívia e na revisão sistemática e meta-análise para estimar a efetividade das vacinas de RVA na ALC, os resultados apresentados demonstram que as vacinas conferem proteção, contudo observa-se que as estimativas variam em magnitude dependendo do grupo de controle utilizado nas análises.

À luz destes resultados é importante discorrer, brevemente, sobre alguns aspectos do desenho destes estudos. Estudos observacionais, como os estudos caso-controle, sempre oferecem possibilidades da presença de viés de seleção de casos ou controles. Em geral, o grande desafio é identificar uma base de estudo apropriada para a seleção dos controles a qual seja representativa da população que produziu os

casos. Esta base depende de muitos fatores relacionados ao evento e à exposição estudados, os quais irão direcionar se os controles devem ser selecionados da comunidade, hospital, amigos ou parentes, por exemplo. No entanto, é reconhecido que o controle “ideal” não existe e, portanto, os critérios de seleção devem minimizar os possíveis vieses para não distorcer a “verdadeira” estimativa (94, 107, 108). O estudo da Bolívia utilizou dois grupos controle, pacientes hospitalizados com doenças não diarreicas e pacientes com doenças diarreicas EIA negativas para RVA hospitalizadas; os estudos incorporados na meta-análise selecionaram, além dos controles referidos, também controles da comunidade. Especificamente na meta-análise, observou-se que as análises com controles da comunidade tiveram, sistematicamente, estimativas de efetividade de maior magnitude, se comparadas aos outros dois grupos controle. Poderíamos acreditar que para o evento e exposição estudados os controles da comunidade seriam mais representativos da população que gerou os casos de diarreia rotavíricas hospitalizadas, pois estes controles teriam a mesma oportunidade e acesso à vacinação que os casos provenientes da mesma área geográfica. Os controles de hospital, principalmente se o tempo de internação é longo, podem estar associados a uma menor chance de receber a vacina o que produziria um viés de seleção. Por outro lado, as questões logísticas de identificação e investigação dos controles de comunidade também podem levar a um viés de seleção. Nestas circunstâncias, ousaríamos dizer que a “verdadeira” estimativa seria um valor entre àqueles encontrados para os controles de hospital e os controles de comunidade.

Finalmente, é importante conjecturar como a efetividade das vacinas RVA poderiam impactar na mortalidade por diarreia, assumindo que seu desempenho seria similar ao que apresentamos para as diarreias graves hospitalizadas por RVA, uma vez que estudos de análises de tendências realizados na AL demonstraram diminuição da mortalidade por diarreias em crianças após a introdução da vacina RVA (86, 93, 109). Para esta reflexão consideremos alguns pontos anteriormente discutidos: i) ensaios clínicos onde a vacina teve um melhor desempenho; ii) resultados da meta-análise com variabilidade na magnitude da efetividade e alguns estudos de países desenvolvidos com efetividade mais alta. Mesmo considerando uma efetividade menor, as vacinas RVA produziriam um efeito muito importante nos

países onde as taxas de mortalidade por diarreia são altas, pois, provavelmente, seria evitado um número muito maior de mortes por esta causa, quando comparado a países desenvolvidos onde a mortalidade por diarreia em crianças não é considerada um problema de saúde pública.

7. Conclusões

- A introdução das vacinas RV1 e RV5 foram exemplos para os países da ALC de como aplicar passos sistemáticos para a introdução de uma nova vacina e como medir o impacto desta intervenção, gerando conhecimentos que podem ser compartilhados com os países da mesma região e outros países do mundo;
- A efetividade da vacina RV1 na Bolívia e vacinas RV1 e RV5 na meta-análise, demonstraram que estas são efetivas nos países da AL, apresentando maior ou menor grau de efetividade de acordo com variáveis estratificadas ou grupos populacionais estudados;
- Foi também interessante observar como os resultados de efetividade podem variar de acordo ao grupo controle selecionado nos desenhos de estudo caso-controle. Isto poderá ser melhor elucidado, quando tenhamos mais estudos que possam ser meta-analisados, uma vez que na meta-análise, aqui apresentada, o pequeno número de estudos com diferentes variáveis de estratificação limitou um maior entendimento deste fenômeno.
- As vacinas RVA têm peculiaridades em relação às vacinas anteriormente utilizadas nos programas de imunização, principalmente por terem maior custo, serem vacinas que evitam, principalmente, as diarreias graves e não tem um impacto tão importante nas diarreias de comunidade, e também porque foram licenciadas ao mesmo tempo duas vacinas com composições diferentes. Estas características levaram a que houvesse uma grande motivação em documentar, tanto o seu processo de introdução, quanto os estudos para medir impacto e efetividade.
- A vigilância epidemiológica deve seguir sendo uma prioridade tanto em relação às diarreias quanto aos eventos adversos.

8. Perspectivas

- Mesmo que já tenham sido estudados muitos aspectos relacionados às vacinas RVA, ainda existe um espaço importante para responder a perguntas que não foram completamente respondidas, como por exemplo, se haverá ou não substituição de genótipos, quanto tempo a vacina confere proteção nas crianças dos países em desenvolvimento, se as formulações existentes serão efetivas ao longo do tempo, questões genéticas relacionadas ao hospedeiro, entre outras.
- Claramente no novo contexto dos programas de imunizações serão incluídas vacinas com características similares às vacinas RVA, inclusive algumas já estão incorporadas em vários países como pneumococo conjugada e VPH. Estas vacinas apresentam particularidades análogas as de RVA e novamente a ALC é a região com maior experiência na introdução das mesmas.
- Frente a esta situação, é necessário que os países documentem todos os aspectos relacionados às novas vacinas que já fazem parte da rotina de imunizações e também aquelas que serão introduzidas futuramente. Neste sentido, as revisões sistemáticas e meta-análises certamente irão contribuir sobremaneira para uma visão mais abrangente em relação ao impacto destas vacinas na morbidade e mortalidade das populações.
- Na atual realidade dos serviços públicos de saúde existe uma gama de intervenções que podem ser incorporadas, tornando-se imperativo que a decisão de introduzir uma nova vacina como uma política de saúde esteja

baseada em evidencias onde os beneficios desta intervençao possam ser amplamente demonstrados.

Referências bibliográficas

1. Bishop RF, Barnes GL, Cipriani E, Lund JS. Clinical immunity after neonatal rotavirus infection. A prospective longitudinal study in young children. *N Engl J Med.* 1983;309(2):72-6.
2. Flewett TH, Bryden AS, H. D. Virus particles in gastroenteritis. *Lancet.* 1973;2(7844):1497.
3. Flewett TH WG. The rotaviruses. *Arch Virol.* 1978;57(1):1-23.
4. Parashar UD, Bresee JS, Gentsch JR, Glass RI. Rotavirus. *Emerg Infect Dis.* 1998;4(4):561-70.
5. Patton JT. Rotavirus diversity and evolution in the post-vaccine world. *Discov Med.* 2012;13(68):85-97.
6. Estes MK, Kapikian AZ. Rotaviruses. In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman MB, et al., editors. *Fields virology.* 5th ed. Philadelphia, Pennsylvania, USA: Kluwer/Lippincott, Williams and Wilkins; 2007. p. 1917-58.
7. Molinari B, Otonel R, Alfieri A, Alfieri A. Species H Rotavirus Detected in Piglets with Diarrhea, Brazil, 2012. *Emerging Infectious Diseases* 2014;20(6).
8. Schael IP. Vacuna de rotavirus: una agenda global para su desarrollo y aplicación universal. Bogotá, Colombia: Editorial Medica Panamericana; 2012.
9. Clark FH, Offit PA, Parashar UD. Rotavirus vaccine. In: Plotkin SA, Orestein W, Offit PA, editors. *Vaccines.* 6th ed. London, UK: Elsevier Saunders; 2013. p. 669-87.
10. Linhares AC, Stupka JA, Ciapponi A, Bardach AE, Glujovsky D, Aruj PK, et al. Burden and typing of rotavirus group A in Latin America and the Caribbean: systematic review and meta-analysis. *Rev Med Virol.* 2011;21(2):89-109.
11. Usonis V, Ivaskeviciene I, Desselberger U, Rodrigo C. The unpredictable diversity of co-circulating rotavirus types in Europe and the possible impact of universal mass vaccination programmes on rotavirus genotype incidence. *Vaccine.* 2012;30(31):4596-605.
12. Cowley D, Donato CM, Roczo-Farkas S, Kirkwood CD. Novel G10P[14] Rotavirus Strain, Northern Territory, Australia. *Emerg Infect Dis.* 2013;19(8):1324-7.
13. Trojnar E, Sachsenroder J, Twardziok S, Reetz J, Otto PH, Johne R. Identification of an avian group A rotavirus containing a novel VP4 gene with a close relationship to those of mammalian rotaviruses. *J Gen Virol.* 2013;94(Pt 1):136-42.
14. de Sá AC. Deteccao e caracterizacao genotipica de rotavirus da especie A e norovirus em amostras fecais humanas de Fortaleza, Ceara.: Fundação Oswaldo Cruz. Instituto Oswaldo Cruz; 2012.
15. Iturriza-Gomara M, Isherwood B, Desselberger U, Gray J. Reassortment in vivo: driving force for diversity of human rotavirus strains isolated in the United Kingdom between 1995 and 1999. *J Virol.* 2001;75(8):3696-705.

16. Payne DC, Szilagyi PG, Staat MA, Edwards KM, Gentsch JR, Weinberg GA, et al. Secular variation in United States rotavirus disease rates and serotypes: implications for assessing the rotavirus vaccination program. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28(11):948-53.
17. Pérez-Vargas J, Isa P, López S, Arias CF. Rotavirus vaccine: early introduction in Latin America- risk and benefits. *Arch Med Res*. 2006;37(1):1-10.
18. World Health Organization. Rotavirus vaccines: WHO position paper. *Wkly Epidemiol Rec*. 2013 88:49-64;88:49-64.
19. Centers for Disease Control and Prevention. *Epidemiology and prevention of vaccine-preventable diseases*. 12th ed. Atkinson W, Wolfe S, Hamborsky J, editors. Washington DC: Public Health Foundation; 2012.
20. Desselberger U, Manktelow E, Li W, Cheung W, Iturriza-Gomara M, Gray J. Rotaviruses and rotavirus vaccines. *Br Med Bull*. 2009;90(1):37-51.
21. Blutt SE MD, Crawford SE, Staat MA, Azimin P, Bennet BL, PiedraPA, Conner ME. Rotavirus antigenemia in children associated with viremia. *PLoS Med*. 2007;4(4):e121.
22. Grimwood K, Lambert SB, Milne RJ. Rotavirus infections and vaccines: burden of illness and potential impact of vaccination. *Paediatr Drugs*. 2010;12(4):235-56.
23. Raming R. Systemic rotavirus infection. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2007;5(4):591-612.
24. Sugatani T, Hruska KA. Impaired micro-RNA pathways diminish osteoclast differentiation and function. *J Biol Chem*. 2009;284(7):4667-78.
25. Sugata K, Taniguchi K, Yui A, Miyake F, Suga S, Asano Y, et al. Analysis of rotavirus antigenemia and extraintestinal manifestations in children with rotavirus gastroenteritis. *Pediatrics*. 2008;122(2):392-7.
26. Ward R. Mechanisms of protection against rotavirus in human and mice. *J Infect Dis*. [supplement]. 1996;174:51-8.
27. Bányai K, László B, Duque J, Steele AD, Nelson EAS, Gentsch JR, et al. Systematic review of regional and temporal trends in global rotavirus strain diversity in the pre rotavirus vaccine era: Insights for understanding the impact of rotavirus vaccination programs. *Vaccine*. 2012;30:A122-A30.
28. Velazquez FR, Matson DO, Calva J, Guerrero L, Morrow AL, Carter-Campbell S, et al. Rotaviruses and rotavirus vaccines. *Br Med Bull*. [article]. 2009:37-51.
29. Richardson S, Grimwood K, Gorrell R, Palombo E, Barnes G, Bishop R. Extended excretion of rotavirus after severe diarrhoea in young children. *Lancet*. 1998;351(9119):1844-8.
30. Ansari SA, Springthorpe VS, Sattar SA. Survival and vehicular spread of human rotaviruses: possible relation to seasonality of outbreaks. *Rev Infect Dis*. 1991;13(3):448-61.
31. Staat MA AP, Berke T, Roberts N, Bernstein DI, Ward RL, Pickering LK, Matson DO. Clinical presentations of rotavirus infection among hospitalized children. *Pediatr Infect Dis J*. 2002;21(3):221-7.
32. Grimwood K CR, Barnes GL, Bishop RF. Patients with enteric adenovirus gastroenteritis admitted to an Australian pediatric teaching hospital from 1981 to 1992. *J Clin Microbio*. 1995;33(1):131-6.

33. Anderson E, Weber S. Rotavirus infection in adults. *Lancet Infect Dis.* 2004;4(2):91-9.
34. Dennehy PH. Rotavirus infection: an update on management and prevention. *Adv Pediatr.* 2012;59(1):47-74.
35. World-Bank. Country and lending groups 2014 [cited 2014 May, 31st]; Available from: http://data.worldbank.org/about/country-classifications/country-and-lending-groups#Low_income.
36. D'Souza RM, Hall G, Becker NG. Climatic factors associated with hospitalizations for rotavirus diarrhoea in children under 5 years of age. *Epidemiol Infect.* 2008;136(1):56-64.
37. Levy K, Hubbard AE, Eisenberg JN. Seasonality of rotavirus disease in the tropics: a systematic review and meta-analysis. *Int J Epidemiol.* 2009;38(6):1487-96.
38. Glass RI, Bresee JS, Turcios R, Fischer TK, Parashar UD, Steele AD. Rotavirus vaccines: targeting the developing world. *J Infect Dis.* 2005 Sep 1;192(Suppl 1):S160-6.
39. Glass RI, Bresee J, Jiang B, Parashar U, Yee E, Gentsch J. Rotavirus and rotavirus vaccines. *Adv Exp Med Biol.* 2006;582:45-54.
40. Parashar U, Burton A, Lanata C, Boschi-Pinto C, K S, D S, et al. Global mortality associated with rotavirus disease among children in 2004. *J Infect Dis.* 2009;200(Suppl 1):S9-S15.
41. Tate JE, Burton AH, Boschi-Pinto C, Steele AD, Duque J, Parashar UD. 2008 estimate of worldwide rotavirus-associated mortality in children younger than 5 years before the introduction of universal rotavirus vaccination programmes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 2012;12(2):136-41.
42. World Health Organization. Estimated rotavirus death for children under 5 years old: 2004. 2006 [cited 2013 Jan 16]; Available from: http://www.who.int/immunization_monitoring/burden/rotavirus_estimates/en/index.html.
43. O'Ryan M, Matson DO. New rotavirus vaccines: Renewed optimism. *J Pediatr.* 2006;149(4):448-51.
44. Lanata CF, Fischer-Walker CL, Olascoaga AC, Torres CX, Aryee MJ, Black RE. Global causes of diarrheal disease mortality in children <5 years of age: a systematic review. *PLoS One.* 2013;8(9):e72788.
45. Parashar Umesh D, Burton A, Lanata C, Boschi- Pinto C, Shibuya K, Steele D, et al. Global Mortality Associated with Rotavirus Disease among Children in 2004. *The Journal of Infectious Diseases.* 2009;200(s1):S9-S15.
46. Tate JE, Patel MM, Steele AD, Gentsch JR, Payne DC, Cortese MM, et al. Global impact of rotavirus vaccines. *Expert Rev Vaccines.* 2010;9(4):395-407.
47. Parashar UD, Hummelman EG, Bresee JS, Miller MA, Glass RI. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis.* 2003;9(5):565-72.
48. Malek MA, Curns AT, Holman RC, Fischer TK, Bresee JS, Glass RI, et al. Diarrhea- and rotavirus-associated hospitalizations among children less than 5 years of age: United States, 1997 and 2000. *Pediatrics.* 2006;117(6):1887-92.

49. World Health Organization. Generic protocols: hospital-based surveillance to estimate the burden of rotavirus gastroenteritis in children and a community-based survey on utilization of health care services for gastroenteritis in children. Field test version. Geneva: WHO; 2002 [cited 2014 Jun 16]. Available from: http://www.who.int/immunization/documents/WHO_VB_02.15/en/index.html.
50. World Health Organization. Global networks for surveillance of rotavirus gastroenteritis: 2001–2008. *Wkly Epidemiol Rec*. 2008;47(83):421-8.
51. Experts meet in Mexico City to discuss rotavirus. *EPI Newsletter* [serial on the Internet]. 2004 [cited 2013 Jan 31]; 26(5): Available from: <http://www.paho.org/english/ad/fch/im/sne2605.pdf>.
52. Organización Panamericana de la Salud. Vigilancia epidemiológica de diarreas causadas por rotavirus: guía práctica. Washington, DC: OPS; 2007 [cited 2014 Jun 16]. Available from: http://www1.paho.org/spanish/ad/fch/im/GuiaPractica_Rotavirus.pdf.
53. de Oliveira L, Danovaro-Holliday MC, Andrus JK, de Fillipis AM, Gentsch J, Matus CR, et al. Sentinel hospital surveillance for rotavirus in latin american and Caribbean countries. *J Infect Dis*. 2009;200(Suppl 1):S131-S9.
54. de Oliveira L, Danovaro-Holliday MC, Matus CR, Andrus JK. Rotavirus vaccine introduction in the Americas: progress and lessons learned. *Expert Rev Vaccines*. [article]. 2008;7(3):345-58.
55. de Oliveira LH, Danovaro-Holliday MC, Sanwogou NJ, Ruiz-Matus C, Tambini G, Andrus JK. Progress in the Introduction of the rotavirus vaccine in Latin America and the Caribbean. *Pediatr Infect Dis J*. 2011;30:S61-S6.
56. Organización Panamericana de la Salud. Inmunización en las Américas: resumen 2012. . Washington, DC: OPS; 2012 [cited 2014 Jun 16]. Available from: http://new.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=19048&Itemid=.
57. de Palma O, Cruz L, Ramos H, de Baires A, Villatoro N, Pastor D, et al. Effectiveness of rotavirus vaccination against childhood diarrhoea in El Salvador: case-control study. *BMJ*. 2010;340:c2825-c.
58. Patel M, Pedreira C, De Oliveira L, Tate J, Orozco M, Mercado J, et al. Association between pentavalent rotavirus vaccine and severe rotavirus diarrhea among children in Nicaragua. *JAMA*. 2009;301(21):2243-51.
59. World Health Organization. Rotavirus vaccine and intussusception: report from an expert consultation. *Wkly Epidemiol Rec* [serial on the Internet]. 2011; 30 (86): Available from: <http://www.who.int/wer/2011/wer8630.pdf>.
60. World Health Organization. Global rotavirus information and surveillance bulletin. Vol. 6: Report from January to December 2011. 2012 [cited 2013 May 16]; Available from: http://apps.who.int/nuvi/rotavirus/RV_bulletin_Jan_Dec_2011_FINAL.pdf.
61. Centers for Disease Control and Prevention. Rotavirus vaccine for the prevention of rotavirus gastroenteritis among children. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* [serial on the Internet]. 1999; 48(RR-2): Available from: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00056669.htm#top>.

62. Centers for Disease Control and Prevention. Suspension of rotavirus vaccine after reports of intussusception--United States, 1999. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2004;53(34):786-9.
63. Ruiz-Palacios GM, Perez-Schael I, Velazquez FR, Abate H, Breuer T, Clemens SC, et al. Safety and efficacy of an attenuated vaccine against severe rotavirus gastroenteritis. *N Engl J Med.* 2006 Jan 5;354(1):11-22.
64. Eisenberg S. The case of the pyrogenic platelet product. *ONS Connect.* 2013 Dec;28(4):45.
65. Hsieh Y, Wu F, Hsiung C, Wu H, Chang K, Huang Y. Comparison of virus shedding after lived attenuated and pentavalent reassortant rotavirus vaccine. *Vaccine.* 2014;32(10):1199-204.
66. Vesikari T, Matson DO, Dennehy P, Van Damme P, Santosham M, Rodriguez Z, et al. Safety and efficacy of a pentavalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine. *N Engl J Med.* 2006;354(1):23-33.
67. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of rotavirus gastroenteritis among Infants and children. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep [serial on the Internet].* 2006 55: Available from: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5512a1.htm>.
68. Glass RI, Parashar UD, Bresee JS, Turcios R, Fischer TK, Widdowson MA, et al. Rotavirus vaccines: current prospects and future challenges. *Lancet.* 2006;368(9532):323-32.
69. Jiang J, Jiang B, Parashar U, Nguyen T, Bines J, Patel MM. Childhood intussusception: a literature review. *PLoS One.* 2013;8(7):e68482.
70. World Health Organization. Rotavirus vaccine pre-qualification. 2009 [31 de Maio de 2014]; Available from: http://www.who.int/immunization_standards/vaccine_quality/PQ_vaccine_list_en/en/index.html.
71. World Health Organization. Rotavirus vaccines: WHO position paper. *Wkly Epidemiol Rec [serial on the Internet].* 2007; 32(82): Available from: <http://www.who.int/wer/2007/wer8232.pdf>.
72. World Health Organization. Rotavirus vaccines: an update. *Wkly Epidemiol Rec [serial on the Internet].* 2009; 84(51-52): Available from: http://www.who.int/wer/2009/wer8451_52.pdf.
73. Patel M, Steele AD, Parashar UD. Influence of oral polio vaccines on performance of the monovalent and pentavalent rotavirus vaccines. *Vaccine.* 2012 Apr 27;30 Suppl 1:A30-5.
74. Steele AD, De Vos B, Tumbo J, Reynders J, Scholtz F, Bos P, et al. Co-administration study in South African infants of a live-attenuated oral human rotavirus vaccine (RIX4414) and poliovirus vaccines. *Vaccine.* 2010 Sep 7;28(39):6542-8.
75. Organización Panamericana de la Salud. Marcando el rumbo en inmiunización: reunión XX del Grupo Tecnico Asesor (GTA) sobre enfermedades prevenibles por vacunación: informe final. Washington DC: OPS; 2012.

76. Patel MM, Clark AD, Sanderson CF, Tate J, Parashar UD. Removing the age restrictions for rotavirus vaccination: a benefit-risk modeling analysis. *PLoS Med.* 2012;9(10):e1001330.
77. Soares-Weiser K, . Rotavirus vaccines schedules: a systematic review of safety and efficacy from randomized controlled trials and observational studies of childhood schedules using RV1 and RV5 vaccines. Washington DC: WHO; 2012; Available from: http://www.who.int/immunization/sage/meetings/2012/april/Soares_K_et_al_SAGE_April_rotavirus.pdf.
78. World Health Organization. Grading of scientific evidence: tables 1-4: does RV1 and RV5 induce protection against rotavirus morbidity and mortality in young children both in low and high mortality settings? 2013 [31 Mai 2014]; Available from: http://www.who.int/immunization/position_papers/rotavirus_grad_rv1_rv5_protection.pdf.
79. de Oliveira LH, Toscano CM, Sanwogou NJ, Ruiz-Matus C, Tambini G, Roses-Periago M, et al. Systematic documentation of new vaccine introduction in selected countries of the Latin American Region. *Vaccine.* 2013 Jul 2;31 Suppl 3:C114-22.
80. Organización Panamericana de la Salud. Mapa de introduccion de las nuevas vacunas. 2014 [cited 2014 May 26]; Available from: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=1857&Itemid=1628&lang=es.
81. Pan American Health Organization. Country reports to PAHO: data and statistics (IM. 2014 [cited 2014 Jun 10]; Available from: www.paho.org/immunization/data.
82. World Health Organization. Pneumococcal conjugate vaccine for childhood immunization: position paper. *Wkly Epidemiol Rec* [serial on the Internet]. 2007; 82(12).
83. PATH. Rotavirus vaccine introductions: Worldwide. 2014 [1 Jun 2014]; Available from: <http://sites.path.org/rotavirusvaccine/rotavirus-advocacy-and-communications-toolkit/country-introduction-maps-and-list/>.
84. de Oliveira LH, Danovaro-Holliday MC, Matus CR, Andrus J. Rotavirus introduction in the Americas: progress and lessons learned. *Expert Rev Vaccines.* 2008;7(3):345-53.
85. Cotes-Cantillo K, Paternina-Caicedo A, Coronell-Rodrigues W, Alvis-Guzmán N, Parashar U, Patel M, et al. Effectiveness of the monovalent rotavirus vaccine in Colombia: A case-control study. *Vaccine.* 2014;32(25):3035-40.
86. do Carmo GM YC, Cortes J, Siqueira AA, de Oliveira WK, Cortez-Escalante JJ, Lopman B, Flannery B, de Oliveira LH, Carmo EH, Patel M. Decline in diarrhea mortality and admissions after routine childhood rotavirus immunization in Brazil: a time-series analysis. *PLoS Med* 2011;8(4).
87. Ichihara MY, Rodrigues LC, Teles Santos CA, Teixeira Mda G, De Jesus SR, Alvim De Matos SM, et al. Effectiveness of rotavirus vaccine against hospitalized rotavirus diarrhea: A case-control study. *Vaccine.* 2014 May 13;32(23):2740-7.
88. Justino MC, Linhares AC, Lanzieri TM, Miranda Y, Mascarenhas JD, Abreu E, et al. Effectiveness of the monovalent G1P[8] human rotavirus vaccine against

- hospitalization for severe G2P[4] rotavirus gastroenteritis in Belem, Brazil. *Pediatr Infect Dis J*. 2011 May;30(5):396-401.
89. Molto Y, Cortes JE, De Oliveira LH, Mike A, Solis I, Suman O, et al. Reduction of diarrhea-associated hospitalizations among children aged <5 years in Panama following the introduction of rotavirus vaccine. *Pediatr Infect Dis J*. 2011;30(Suppl. 1):S16-S20.
 90. Patel MM, Patzi M, Pastor D, Nina A, Roca Y, Alvarez L, et al. Effectiveness of monovalent rotavirus vaccine in Bolivia: case-control study. *BMJ*. 2013;346:f3726.
 91. Andrus JK, Jauregui B, De Oliveira LH, Ruiz Matus C. Challenges to building capacity for evidence-based new vaccine policy in developing countries. *Health Aff (Millwood)*. 2011 Jun;30(6):1104-12.
 92. Centers for Disease Control and Prevention. Intussusception among recipients of rotavirus vaccine: United States, 1998-1999. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* [serial on the Internet]. 1999 48: Available from: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm4827a1.htm>.
 93. de Oliveira LH, Giglio N, Ciapponi A, Garcia Marti S, Kuperman M, Sanwogou NJ, et al. Temporal trends in diarrhea-related hospitalizations and deaths in children under age 5 before and after the introduction of the rotavirus vaccine in four Latin American countries. *Vaccine*. 2013 Jul 2;31 Suppl 3:C99-108.
 94. Rodrigues LC, Smith PG. Use of the case-control approach in vaccine evaluation: efficacy and adverse effects. *Epidemiol Rev*. 1999;21(1):56-72.
 95. Patel M, Pedreira C, De Oliveira LH, Umana J, Tate J, Lopman B, et al. Duration of protection of pentavalent rotavirus vaccination in Nicaragua. *Pediatrics*. 2012;130(2):e365-e72.
 96. World Health Organization. Millenium development goals. 2000 [1 Jun 2014]; Available from: http://www.who.int/topics/millennium_development_goals/en/.
 97. Patel MM, Lopez-Collada VR, Bulhoes MM, De Oliveira LH, Bautista Marquez A, Flannery B, et al. Intussusception risk and health benefits of rotavirus vaccination in Mexico and Brazil. *N Engl J Med*. 2011 Jun 16;364(24):2283-92.
 98. Desai R, Parashar UD, Lopman B, de Oliveira LH, Clark AD, Sanderson CF, et al. Potential intussusception risk versus health benefits from rotavirus vaccination in Latin America. *Clin Infect Dis*. 2012 May;54(10):1397-405.
 99. Giaquinto C, Dominiak-Felden G, Van Damme P, Myint TT, Maldonado YA, Spoulou V, et al. Summary of effectiveness and impact of rotavirus vaccination with the oral pentavalent rotavirus vaccine: a systematic review of the experience in industrialized countries. *Hum Vaccin*. 2011 Jul;7(7):734-48.
 100. Payne DC, Boom JA, Staat MA, Edwards KM, Szilagyi PG, Klein EJ, et al. Effectiveness of pentavalent and monovalent rotavirus vaccines in concurrent use among US children <5 years of age, 2009-2011. *Clin Infect Dis*. 2013 Jul;57(1):13-20.
 101. Castilla J, Beristain X, Martinez-Artola V, Navascues A, Garcia Cenoz M, Alvarez N, et al. Effectiveness of rotavirus vaccines in preventing cases and hospitalizations due to rotavirus gastroenteritis in Navarre, Spain. *Vaccine*. 2012 Jan 11;30(3):539-43.

102. de Oliveira L, Camacho L, Coutinho E, Ruiz-Matus C, Leite J. Rotavirus vaccine effectiveness in Latin American and Caribbean countries: a systematic review and meta-analysis. *Vaccine*(submitted on May 16, 2014). 2014.
103. Jiang V, Jiang B, Tate J, Parashar UD, Patel MM. Performance of rotavirus vaccines in developed and developing countries. *Hum Vaccin*. 2010 Jul;6(7):532-42.
104. Bucardo F, Rippinger CM, Svensson L, Patton JT. Vaccine-derived NSP2 segment in rotaviruses from vaccinated children with gastroenteritis in Nicaragua. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*. 2012 Aug;12(6):1282-94.
105. Organización Panamericana de la Salud. Reunion sobre la circulacion de genotipos de rotavirus en Latin America y Caribe. Washington DC: OPS2013.
106. Cortese MM, Immergluck LC, Held M, Jain S, Chan T, Grizas AP, et al. Effectiveness of monovalent and pentavalent rotavirus vaccine. *Pediatrics*. 2013 Jul;132(1):e25-33.
107. Wacholder S, McLaughlin JK, Silverman DT, Mandel JS. Selection of controls in case-control studies. I. Principles. *Am J Epidemiol*. 1992 May 1;135(9):1019-28.
108. Wacholder S, Silverman DT, McLaughlin JK, Mandel JS. Selection of controls in case-control studies. II. Types of controls. *Am J Epidemiol*. 1992 May 1;135(9):1029-41.
109. Richardson V, Parashar U, Patel M. Childhood diarrhea deaths after rotavirus vaccination in Mexico. *N Engl J Med*. 2011 Aug 25;365(8):772-3.