

ARTÍCULO ORIGINAL

Seguridad y eficacia de una vacuna antirrotavírica reagrupada humano–bovina (WC3) pentavalente

Timo Vesikari, M.D., David O. Matson, M.D., Ph.D., Penelope Dennehy, M.D., Pierre Van Damme, M.D., Ph.D., Mathuram Santosham, M.D., M.P.H., Zoe Rodriguez, M.D., Michael J. Dallas, Ph.D., Joseph F. Heyse, Ph.D., Michelle G. Goveia, M.D., M.P.H., Steven B. Black, M.D., Henry R. Shinefield, M.D., Celia D.C. Christie, M.D., M.P.H., Samuli Ylitalo, M.D., Robbin F. Itzler, Ph.D., Michele L. Coia, B.A., Matthew T. Onorato, B.S., Ben A. Adeyi, M.P.H., Gary S. Marshall, M.D., Leif Gothefors, M.D., Dirk Campens, M.D., Aino Karvonen, M.D., James P. Watt, M.D., M.P.H., Katherine L. O'Brien, M.D., M.P.H., Mark J. DiNubile, M.D., H Fred Clark, D.V.M., Ph.D., John W. Boslego, M.D., Paul A. Offit, M.D., y Penny M. Heaton, M.D., para el equipo del estudio REST (*Rotavirus Efficacy and Safety Trial*)

RESUMEN

ANTECEDENTES

El rotavirus es una de las principales causas de gastroenteritis y mortalidad infantil en todo el mundo.

MÉTODOS

Estudiamos a lactantes sanos de aproximadamente 6 a 12 semanas de edad que fueron asignados aleatoriamente a recibir, de forma enmascarada, o bien tres dosis orales de una vacuna antirrotavírica reagrupada humano–bovina (cepa WC3) pentavalente elaborada con los serotipos humanos G1, G2, G3, G4 y P[8], o bien un placebo, en intervalos de 4-10 semanas. Se utilizó un sistema de vigilancia activa para identificar a los niños que presentasen acontecimientos adversos serios y otros acontecimientos.

RESULTADOS

Se monitorizó en busca de la aparición de acontecimientos adversos serios a 34.035 lactantes incluidos en el grupo que recibió la vacuna y a 34.003 lactantes incluidos en el grupo que recibió el placebo. Se produjo una invaginación intestinal en 12 lactantes vacunados y en 15 receptores del placebo durante el año posterior a la primera dosis; en 6 receptores de la vacuna y en 5 receptores del placebo la invaginación intestinal se produjo en los 42 días siguientes a cualquiera de las dosis (riesgo relativo: 1,6; intervalo de confianza del 95%: 0,4 a 6,4). La vacuna redujo las necesidades de hospitalización y de acudir a los servicios de urgencias en relación con las gastroenteritis por rotavirus de los serotipos G1–G4 acaecidas 14 días o más después de la tercera dosis en un 94,5% (intervalo de confianza del 95%: 91,2% a 96,6%). En un subestudio anidado, la eficacia frente a cualquier gastroenteritis por rotavirus de los serotipos G1–G4 a lo largo de la primera temporada completa del rotavirus tras la vacunación fue del 74,0% (intervalo de confianza del 95%: 66,8% a 79,9%); la eficacia frente a la gastroenteritis grave fue del 98,0% (intervalo de confianza del 95%: 88,3% a 100%). La vacuna redujo las consultas clínicas por gastroenteritis por rotavirus de los serotipos G1–G4 en un 86,0% (intervalo de confianza del 95%: 73,9% a 92,5%).

CONCLUSIONES

Esta vacuna fue eficaz para la prevención de la gastroenteritis por rotavirus y redujo los casos de enfermedad grave y los contactos con los servicios sanitarios. El riesgo de invaginación intestinal fue similar en los pacientes vacunados y en los receptores del placebo. (Número en ClinicalTrials.gov: NCT00090233.)

De la University of Tampere Medical School, Tampere, Finland (T.V., S.Y., A.K.); el Center for Pediatric Research, Eastern Virginia Medical School, Norfolk (D.O.M.); la Division of Pediatric Infectious Diseases, Rhode Island Hospital, Providence (P. D.); el Center for the Evaluation of Vaccination, University of Antwerp, Antwerp, Belgium (P.V.D.); el Center for American Indian Health, Department of International Health, Johns Hopkins University Bloomberg School of Public Health, Baltimore (M.S., J.P.W., K.L.O.); la University of Puerto Rico School of Medicine, San Juan (Z. R.); Merck Research Laboratories, West Point, Pa. (M.J. Dallas, J.F.H., M.G.G., R. F.I., M.L.C., M.T.O., B.A.A., M.J. DiNubile, J.W.B., P.M.H.); Kaiser Permanente Vaccine Study Center, Oakland, Calif. (S.B.B.); el Institute of Vaccine and Pharmacologic Research in San Francisco, San Francisco (H.R.S.); el Department of Pediatrics, University of the West Indies, Kingston, Jamaica (C.D.C.C.); el Department of Pediatrics, University of Louisville School of Medicine, Louisville, Ky. (G.S.M.); el Department of Clinical Sciences Pediatrics, Umea University, Umea, Sweden (L.G.); Sanofi Pasteur Merck, Sharp & Dohme, Lyon, France (D.C.); y Children's Hospital y la University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia (H.F.C., P.A.O.). Solicitud de separatas: Dr. Heaton, Merck Research Laboratories, P.O. Box 4, UNC-151, West Point, PA 19486, o penny_heaton@merck.com.

N Engl J Med 2006;354:23-33.

Copyright © 2006 Massachusetts Medical Society.

EL ROTAVIRUS ES LA PRINCIPAL CAUSA DE hospitalización y muerte por gastroenteritis aguda en los lactantes y niños pequeños de todo el mundo. Más de 2 millones de hospitalizaciones y casi medio millón de fallecimientos se atribuyen a esta infección cada año.^{1,2} La estrategia de prevenir la enfermedad por rotavirus mediante la vacunación se deriva de estudios en los que se demostró que la infección por el rotavirus de tipo salvaje induce inmunidad frente a posteriores gastroenteritis por rotavirus.³⁻⁶ La primoinfección por rotavirus confiere una protección sustancial frente a la gastroenteritis causada por el mismo serotipo y frente a la enfermedad grave en general independientemente del serotipo. Los cuatro serotipos con mayor prevalencia, responsables de más del 80% de los casos de enfermedad por rotavirus humano en todo el mundo, son el G1P[8], el G2P[4], el G3P[8] y el G4P[8].^{7,8}

En 1998 se autorizó una vacuna antirrotavírica tetravalente rhesus–humano reagrupada (RRV-TV; RotaShield, de Wyeth Laboratories) y se recomendó su uso para la inmunización sistemática de los lactantes en los Estados Unidos.⁹ Poco después se identificó la existencia de una asociación entre el uso de la vacuna y la invaginación intestinal, una enfermedad poco frecuente con una incidencia basal de 18 a 56 casos por 100.000 lactantes-años durante el primer año de vida.¹⁰⁻¹³ El riesgo era máximo durante el periodo comprendido entre los 3 y los 14 días siguientes a la administración de la primera dosis y durante el periodo comprendido entre los 3 y los 7 días siguientes a la administración de la segunda. Los expertos calcularon que el riesgo poblacional atribuible de invaginación intestinal asociado con la vacuna RRV-TV era de aproximadamente 1 por cada 10.000 receptores.¹⁴ La RRV-TV se asoció también con fiebre, vómitos, diarrea, dolor abdominal y heces sanguinolentas.¹⁵⁻¹⁸ La vacuna fue retirada del mercado de forma voluntaria en octubre de 1999.¹⁹

Se siguió intentando desarrollar una vacuna reagrupada humano–bovina debido a la necesidad de contar con una vacuna antirrotavírica segura y eficaz y a la importancia de la misma para la salud pública.¹⁹⁻²¹ En los ensayos clínicos de fase 2, diversas formulaciones de la vacuna reagrupada humano–bovina evitaron aproximadamente el 70% de los episodios de gastroenteritis por rotavirus de cualquier grado de gravedad y el 100% de los episodios de enfermedad gra-

ve.^{22,23} A diferencia de los resultados obtenidos con la RRV-TV, la incidencia de fiebre y síntomas gastrointestinales fue, en general, similar en los grupos de vacunados y en los grupos de receptores de placebo. El ulterior desarrollo de la vacuna reagrupada humano–bovina se vio respaldado también por la ausencia de una asociación evidente entre la invaginación intestinal y la enfermedad humana por el rotavirus salvaje,^{24,25} lo que indicaba que la invaginación intestinal no se asociaba necesariamente con todos los rotavirus.

En este artículo comunicamos los resultados del estudio REST (*Rotavirus Efficacy and Safety Trial*), un ensayo clínico aleatorizado y controlado con placebo sobre una vacuna antirrotavírica oral de virus vivos pentavalente (G1, G2, G3, G4 y P[8]) reagrupada humano–bovina (WC3) (RotaTeq, de Merck). El estudio incluyó una evaluación de la seguridad de la vacuna con respecto a la invaginación intestinal y a otros acontecimientos adversos, de su eficacia en la prevención de la gastroenteritis por rotavirus y del uso de recursos sanitarios en relación con dicha enfermedad.

MÉTODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO

El estudio era un ensayo doble ciego (con enmascaramiento realizado por el patrocinador), controlado con placebo y aleatorizado que se llevó a cabo entre 2001 y 2004 en 11 países (tal como se describe en detalle en la Parte I del Anexo complementario, disponible con el texto completo de este artículo en www.nejm.org). El protocolo recibió la aprobación de los comités éticos de revisión de los centros participantes y todos los padres o tutores de los lactantes otorgaron su consentimiento informado por escrito antes de la incorporación de los niños al estudio. Eran candidatos a participar en el ensayo los lactantes sanos de entre 6 y 12 semanas de edad. Se excluía a los lactantes a los que se les hubiera administrado la vacuna antipoliomielítica oral durante los 42 días anteriores a la fecha prevista para la primera dosis o si se preveía la administración de dicha vacuna durante el estudio. No se restringió la administración concomitante de otras vacunas autorizadas ni de la lactancia materna.

Este estudio se diseñó para evaluar la seguridad con respecto a la invaginación intestinal. Gracias al amplio tamaño de la muestra, tuvimos también la oportunidad de evaluar la eficacia de la vacuna en cuanto a la reducción de las nece-

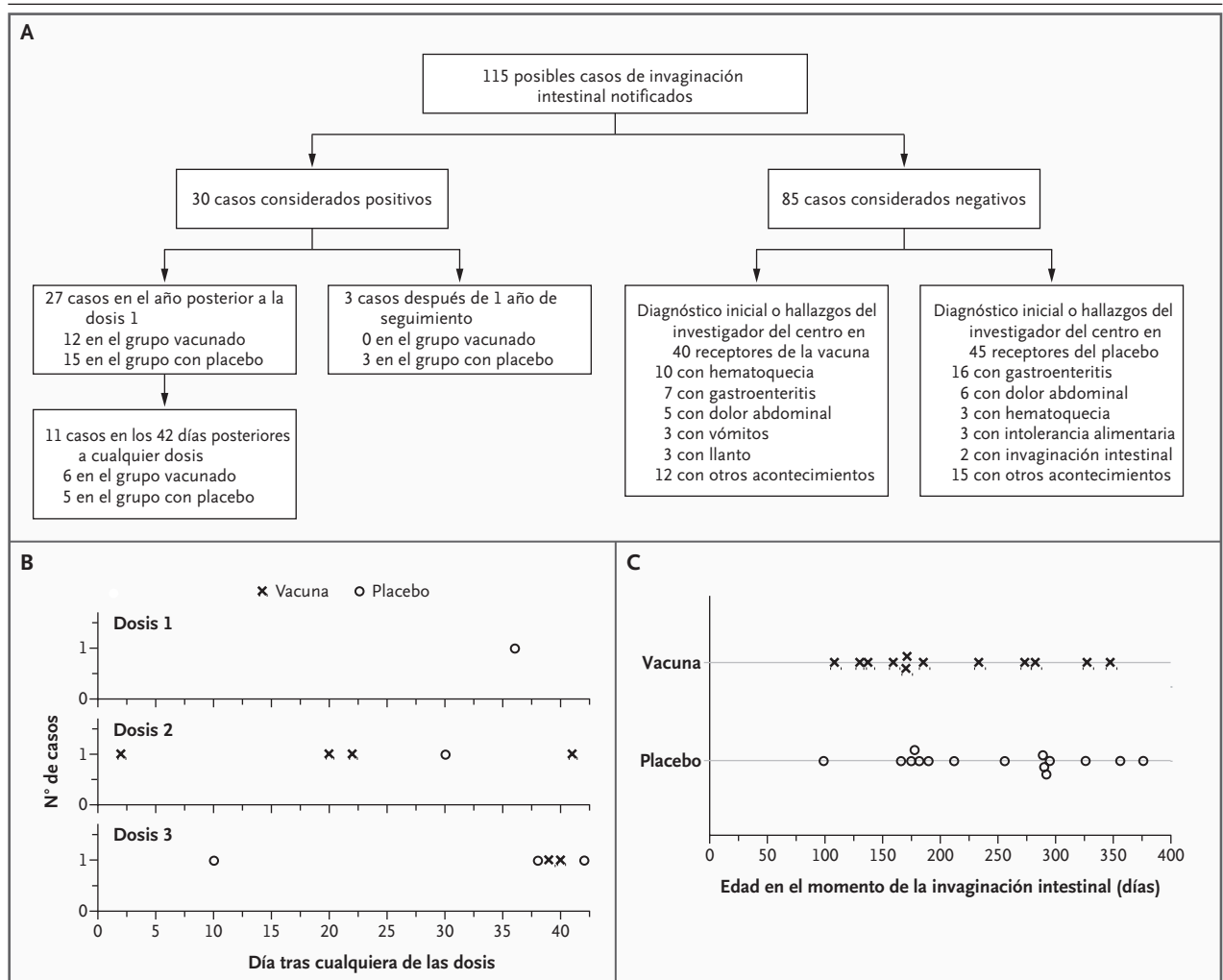


Figure 1. Casos de invaginación intestinal.

En el Cuadro A se muestran los posibles casos de invaginación intestinal notificados al comité para la adjudicación de los criterios de valoración en cuanto a seguridad antes de que el comité de supervisión de los datos y la seguridad recomendara detener las incorporaciones al estudio, así como los resultados de la adjudicación. Uno de los posibles casos de invaginación intestinal notificados no se pudo adjudicar debido a que no se disponía de radiografías (a causa de un mal funcionamiento del aparato). Dicho caso se produjo 55 días después de la segunda dosis en un lactante al que se le había administrado el placebo. Se muestran el diagnóstico inicial o los hallazgos del investigador del centro en los casos que se consideraron negativos (aquellos en los que no se confirmó que se tratase de una invaginación intestinal). En el Cuadro B se muestran los casos confirmados de invaginación intestinal que se notificaron en el plazo de 42 días después de la vacunación, según el número de la dosis y el grupo del estudio (receptores de la vacuna o del placebo). En el Cuadro C se muestran las edades de los participantes en el momento del diagnóstico de invaginación intestinal, según el grupo del estudio (receptores de la vacuna o del placebo). En los lactantes que se encontraban participando en el estudio en el momento en que se detuvieron las incorporaciones, por recomendación del comité de supervisión de los datos y la seguridad, se realizó el seguimiento hasta la finalización del estudio. Se produjo un único caso adicional de invaginación intestinal, en un varón de ocho meses, 116 días después de la tercera dosis de la vacuna. El niño se recuperó por completo.

sidades de hospitalización de los participantes o de recibir atención en los servicios de urgencias por gastroenteritis por rotavirus. Se diseñaron subestudios anidados en el estudio a gran escala con el objetivo de evaluar la seguridad con respecto a todos los acontecimientos adversos (subestudio detallado sobre seguridad), así como la ca-

pacidad inmunógena y la eficacia frente a la gastroenteritis por rotavirus de cualquier grado de gravedad (subestudio sobre eficacia clínica) (Fig. 1A del Anexo complementario). Los centros responsables de la realización de cada subestudio se designaron prospectivamente.

El ensayo (protocolo V260-006 de Merck) fue

diseñado, gestionado y analizado por el patrocinador en colaboración con los investigadores externos, los miembros del comité para la supervisión de los datos y la seguridad y los miembros del comité para la adjudicación de los criterios de valoración en cuanto a seguridad (que se enumeran en la Parte I del Anexo complementario). Los investigadores tenían acceso a todos los datos del estudio. Este informe fue redactado principalmente por los Dres. Vesikari, Dallas, DiNubile y Heaton y fue revisado y aprobado por cada uno de los coautores. El Servicio Indio de Salud aprobó el protocolo pero no participó de ninguna otra forma en el estudio.

VACUNA

La vacuna antirrotavírica pentavalente de virus vacuno contenía cinco rotavirus reagrupados humano-bovinos, cada uno de los cuales estaba constituido por virus de la cepa bovina WC3 que portaban proteínas víricas de superficie correspondientes a los rotavirus humanos de los serotipos G1, G2, G3, G4 y P[8].²⁶ Los reagrupados se suspendían en un tampón líquido de citrato y fosfato sódicos a un título vírico agregado de aproximadamente $6,7 \times 10^7$ a $12,4 \times 10^7$ unidades infecciosas por dosis. Se asignó aleatoriamente a los lactantes, en una proporción 1:1, a recibir tres dosis de 2 ml de la vacuna por vía oral o bien un placebo visualmente indistinguible, separadas por un intervalo de 4 a 10 semanas. Las dosis se administraban a lo largo de todo el año.

EVALUACIÓN DE LA INVAGINACIÓN INTESTINAL Y DE OTROS ACONTECIMIENTOS ADVERSOS

Todos los participantes fueron controlados durante al menos 42 días después de cada dosis para verificar la aparición de acontecimientos adversos serios, incluida la invaginación intestinal. Los acontecimientos adversos serios, fallecimientos y casos de invaginación intestinal relacionados con la vacuna se notificaron hasta el final del estudio. Se utilizó un sistema de vigilancia activa para obtener los datos concernientes a la seguridad; se contactó a los padres o tutores los días 7, 14 y 42 después de cada dosis y cada seis semanas a partir de entonces durante el año posterior a la primera dosis a fin de preguntarles sobre datos relativos a la invaginación intestinal y a otros acontecimientos adversos serios. En los participantes en los que las vacunaciones se suspendieron de forma prematura se completó el seguimiento de la seguridad. Cuando fue

posible, se analizaron muestras de heces de los lactantes con invaginación intestinal mediante ensayo de inmunoenzima a fin de detectar antígenos del rotavirus.²⁷ En el subestudio detallado sobre seguridad, se pidió también a los padres o tutores que anotaran diariamente la temperatura y el número de episodios de vómitos y de diarrea sufridos por los niños durante los 7 días siguientes a la administración de cada dosis, así como todos los acontecimientos adversos acaecidos durante los 42 días siguientes a la administración de cada dosis. La posible eliminación fecal de cepas vacunales entre cuatro y seis días después de cada dosis se monitorizó en un subgrupo de lactantes mediante cultivo vírico con ensayo de formación de placas y tipificación mediante electroforesis del ARN en centros predefinidos, independientemente de la sintomatología.²⁸

ADJUDICACIÓN DE LOS CASOS DE INVAGINACIÓN INTESTINAL Y FUNCIÓN DEL COMITÉ DE SUPERVISIÓN DE LOS DATOS Y LA SEGURIDAD

Todos los casos sospechosos de invaginación intestinal se notificaron a un comité independiente de adjudicación que desconocía si al lactante se le había administrado la vacuna o el placebo y que estaba formado por un cirujano pediátrico, un radiólogo pediátrico y un pediatra con gran experiencia en medicina de urgencias. Dicho comité adjudicó como positivos o negativos los posibles casos de invaginación intestinal de acuerdo con una definición de caso preestablecida que requería una confirmación del diagnóstico mediante radiografía, cirugía o autopsia.

En cuanto se producía la notificación, el comité de supervisión de los datos y la seguridad desvelaba el grupo de tratamiento al que estaban asignados los casos de invaginación intestinal en los que la adjudicación había sido positiva a fin de poder adoptar decisiones sobre la continuación del estudio. Las pautas del comité requerían la cancelación prematura del estudio si se detectaba que el riesgo de invaginación intestinal era significativamente mayor en los lactantes vacunados que en los receptores del placebo (límite inferior del intervalo de confianza del 95% $>1,0$) durante los controles preliminares efectuados durante los periodos de 7 y 42 días posteriores a la administración de cualquiera de las dosis.

El comité para la supervisión de los datos y la seguridad recomendó también que se finalizara la incorporación global de pacientes al estudio si se cumplían los criterios asociados con la prin-

principal hipótesis en cuanto a seguridad, es decir, si la vacuna no incrementaba el riesgo de invaginación intestinal durante los 42 días posteriores a la administración de cualquiera de las dosis. En el estudio se aplicó un diseño secuencial por grupos,²⁹ con un número mínimo de participantes de 60.000 y la incorporación secuencial al estudio de grupos de 10.000 lactantes si no se cumplían los criterios estadísticos para la principal hipótesis en cuanto a seguridad, hasta un máximo de 100.000 participantes.

DEFINICIÓN DE CASO DE GASTROENTERITIS POR ROTAVIRUS

Se definió como caso de gastroenteritis por rotavirus la producción de un mínimo de tres deposiciones líquidas o más sueltas de lo normal en un periodo de 24 horas o de vómitos intensos, junto con la detección del rotavirus mediante enzoinmunoensayo en una muestra de heces obtenida en los 14 días siguientes al inicio de los síntomas. Se identificaron los serotipos G mediante reacción en cadena de la polimerasa de una sola etapa con transcripción inversa seguida de secuenciación.³⁰ Todas las muestras de heces con resultados positivos para rotavirus se estudiaron en busca de cepas vacunales mediante cultivo vírico con ensayo de formación de placas y tipificación mediante electroforesis del ARN.

EVALUACIÓN DE LA EFICACIA EN CUANTO A LAS NECESIDADES DE HOSPITALIZACIÓN Y DE USO DE LOS SERVICIOS DE URGENCIAS POR GASTROENTERITIS POR ROTAVIRUS

Se realizó un seguimiento de todos los participantes en el estudio con respecto a las hospitalizaciones y a las visitas a los servicios de urgencias por gastroenteritis aguda. Se preguntó a los padres o tutores sobre los contactos con los servicios sanitarios por gastroenteritis al tiempo que se les preguntaba sobre datos relativos a la invaginación intestinal y a otros acontecimientos adversos. Se evaluaron las horas de trabajo perdidas por los padres o tutores de los lactantes con gastroenteritis por rotavirus confirmada.

EVALUACIÓN DE LA EFICACIA CLÍNICA FRENTE A LA GASTROENTERITIS POR ROTAVIRUS

En el subestudio sobre eficacia clínica participaron lactantes de Finlandia y Estados Unidos (incluidos niños de la Nación navaja y de la tribu apache de la Montaña Blanca). Se pidió a los padres o tutores que notificaran cualquier episodio de gastroenteritis aguda en sus hijos des-

pués de la primera dosis. La vigilancia activa de todos los episodios de gastroenteritis, incluidas las visitas a un consultorio médico por gastroenteritis, se efectuó estableciendo contacto con los padres o tutores cada dos semanas. La temporada del rotavirus se determinó prospectivamente a partir de datos epidemiológicos históricos.³¹⁻³³ Se realizó el seguimiento de la mayoría de los participantes durante una temporada de rotavirus completa tras la vacunación; sin embargo, algunos lactantes se incorporaron al estudio lo suficientemente pronto como para que el seguimiento pudiera realizarse durante una segunda temporada completa. En los lactantes que se incorporaron durante una temporada del rotavirus, la vigilancia se mantuvo durante el resto de esa temporada y durante la siguiente temporada del rotavirus completa.

Para determinar si un episodio de gastroenteritis aguda satisfacía la definición de caso de gastroenteritis por rotavirus y evaluar su gravedad clínica, se pidió a los padres o tutores que rellenaran tarjetas de diario y que anotaran los síntomas diariamente hasta que la enfermedad se curase. Se utilizó un sistema de puntuación clínica establecido basado en la intensidad y duración de la fiebre, los vómitos, la diarrea y los cambios de conducta para categorizar los episodios de gastroenteritis por rotavirus en una escala de gravedad de 24 puntos; las puntuaciones mayores de 16 se consideraron indicativas de enfermedad grave (los pormenores se incluyen en la Parte II del Anexo complementario).^{22,34}

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD INMUNÓGENA

Las respuestas inmunitarias a la vacunación se evaluaron en un subgrupo de participantes en el subestudio sobre eficacia clínica. Se recogieron muestras de suero antes de la administración de la primera dosis y aproximadamente 14 días después de la tercera para determinar los títulos de IgA antirrotavirus³⁵ y de anticuerpos neutralizantes frente a los serotipos G1, G2, G3, G4 y P[8].³⁵ La seroconversión se definió como un aumento del título de anticuerpos por un factor de 3 o más con respecto a la situación basal.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Invaginación intestinal y otros acontecimientos adversos
Todos los participantes que recibieron al menos una dosis y disponían de evaluaciones de seguimiento fueron incluidos en los análisis de seguridad de acuerdo con el tratamiento que realmen-

te recibieron. La principal hipótesis en cuanto a seguridad era que la vacuna, en comparación con el placebo, no haría aumentar el riesgo de invaginación intestinal en los 42 días posteriores a cada dosis. Para satisfacer esta hipótesis, se predefinieron los dos criterios que se explican a continuación. En primer lugar, durante el estudio no podía haber un aumento significativo del riesgo de invaginación intestinal en los niños vacunados en comparación con los receptores del placebo durante los 7 y los 42 días posteriores a cada dosis. En segundo lugar, al finalizar el estudio el límite superior del intervalo de confianza del 95% para el riesgo relativo de invaginación intestinal en el plazo de 42 días tras la administración de cada dosis debía ser de 10 o menos, lo cual representa relaciones de casos de invaginación intestinal vacuna-placebo de 2 o menos basadas en el número total de casos esperados, considerándose tales relaciones indicativas de un riesgo relativo clínicamente aceptable para un acontecimiento infrecuente. Esta hipótesis se sometió a prueba mediante un procedimiento binomial exacto basado en la proporción de lactantes con invaginación intestinal que recibieron la vacuna. El valor de *p*, la estimación puntual y los límites de confianza se ajustaron adecuadamente para adaptarse al diseño secuencial por grupos del estudio.²⁹ Se evaluó también el riesgo relativo para los periodos de 7 días, 14 días y 60 días posteriores a la administración de cada dosis y para el periodo de 365 días posterior a la primera dosis.

La potencia estadística para detectar un mayor riesgo de invaginación intestinal durante el estudio y para satisfacer la principal hipótesis en cuanto a seguridad una vez finalizado éste se calculó por medio de la simulación de Montecarlo, con el supuesto de que los casos de invaginación intestinal se incrementarían en una tasa de 50 por 100.000 lactantes-años. Si el riesgo de invaginación intestinal tras la vacunación no aumentaba, la probabilidad de que la principal hipótesis en cuanto a seguridad se cumpliera era de aproximadamente el 94%. Si el riesgo era similar al comunicado para la vacuna RRV-IV,¹⁴ la probabilidad de que el estudio se cancelara antes de tiempo era del 85% al 91%.

Uso de recursos sanitarios

El uso de los recursos sanitarios debido a gastroenteritis por rotavirus 14 días o más después de la finalización de la serie de tres dosis y hasta los 2 años se evaluó en la población por protocolo,

formada por los participantes en los que no se había producido ningún incumplimiento del protocolo. Se usó la regresión de Poisson con ecuaciones estimativas generalizadas para calcular la reducción en la tasa de uso de los recursos sanitarios y la pérdida de días de trabajo de los padres o tutores en el grupo vacunado en comparación con el grupo que recibió el placebo.

Eficacia clínica

La hipótesis principal en cuanto a eficacia era que la vacuna sería eficaz para prevenir la gastroenteritis por rotavirus salvaje G1–G4 acaecida 14 o más días después de finalizar la serie de tres dosis durante la primera temporada completa del rotavirus posterior a la vacunación. Los lactantes con episodios múltiples que cumplieran la definición de caso se contaron una sola vez. El análisis estadístico se basó en el número total de participantes con gastroenteritis por rotavirus de ambos grupos, de forma que el número de lactantes con gastroenteritis por rotavirus en el grupo vacunado siguió una distribución binomial. Se utilizó una técnica de inferencia exacta. Para que se pudiera llegar a la conclusión de que la vacuna era eficaz, el límite inferior del intervalo de confianza del 95% bilateral debía ser mayor del 35%.

El análisis primario de la eficacia se basó en la población por protocolo del subestudio sobre eficacia clínica, usando la definición de caso del protocolo para la gastroenteritis por rotavirus G1–G4 acaecida 14 o más días después de la tercera dosis. En los análisis secundarios de la población por protocolo se estudiaron la eficacia frente a la gastroenteritis grave por rotavirus G1–G4 y la eficacia durante una segunda temporada del rotavirus tras la vacunación. Otro análisis de la eficacia se basó en una población por intención de tratar, formada por todos los participantes (independientemente de los incumplimientos del protocolo) que recibieron al menos una dosis y en la que se contaron todos los casos de gastroenteritis por rotavirus G1–G4 que cumplieran la definición de caso del protocolo y se hubieran producido en cualquier momento tras la administración de la primera dosis.

RESULTADOS

PARTICIPANTES

Una vez se hubo controlado a 60.000 lactantes durante los 42 días siguientes a su última dosis, el comité para la supervisión de los datos y la se-

Tabla 1. Características demográficas basales de los participantes.*

Variable	Estudio a gran escala		Subestudio detallado sobre seguridad		Subestudio sobre eficacia clínica	
	Grupo vacunado	Grupo placebo	Grupo vacunado	Grupo placebo	Grupo vacunado	Grupo placebo
Asignados aleatoriamente al grupo del estudio — n°	34.644	34.630	4826	4821	2841	2845
Sexo — n° (%)						
Niños	17.586 (50,8)	17.529 (50,6)	2482 (51,4)	2491 (51,7)	1462 (51,5)	1467 (51,6)
Niñas	17.058 (49,2)	17.101 (49,4)	2344 (48,6)	2330 (48,3)	1379 (48,5)	1378 (48,4)
Edad en el momento de la incorporación — semanas						
Media	9,8±1,4	9,8±1,4	9,7±1,4	9,7±1,4	9,7±1,6	9,7±1,5
Mediana	10	10	10	10	10	10
Intervalo	3–13	1–16	3–13	4–13	3–13	4–13
Raza o grupo étnico — n° (%)†						
Blancos	23.772 (68,6)	23.788 (68,7)	3052 (63,2)	3031 (62,9)	1854 (65,3)	1885 (66,3)
Hispanos	4963 (14,3)	4911 (14,2)	499 (10,3)	486 (10,1)	282 (9,9)	251 (8,8)
Negros	2908 (8,4)	2941 (8,5)	209 (4,3)	237 (4,9)	49 (1,7)	58 (2,0)
Multirraciales	1815 (5,2)	1817 (5,2)	305 (6,3)	304 (6,3)	126 (4,4)	143 (5,0)
Asiáticos	536 (1,5)	552 (1,6)	221 (4,6)	237 (4,9)	18 (0,6)	12 (0,4)
Nativos americanos	531 (1,5)	514 (1,5)	512 (10,6)	493 (10,2)	510 (18,0)	492 (17,3)
Otros	119 (0,3)	107 (0,3)	28 (0,6)	33 (0,7)	2 (0,1)	4 (0,1)

* Los valores más–menos son medias ±DE.

† La raza o grupo étnico fueron determinados por el investigador según categorías predefinidas.

guridad revisó los datos sobre invaginación intestinal con respecto a las asignaciones de tratamiento y recomendó que se incorporasen al estudio otros 10.000 lactantes, dado que no se habían cumplido aún los criterios asociados con la principal hipótesis en cuanto a seguridad para cancelar las incorporaciones. Tras la incorporación y el seguimiento de los participantes adicionales, el comité aconsejó detener las incorporaciones al estudio porque se habían cumplido los criterios predefinidos. Los análisis de este informe se basan en los datos disponibles cuando los miembros del comité recomendaron detener las incorporaciones.

Participaron 70.301 lactantes y la base de datos clínica contenía los datos de 69.274 lactantes aleatorizados. En total, 68.038 lactantes (el 98,2%) recibieron al menos una dosis de la vacuna o el placebo, a 59.210 (el 85,5%) se les administraron las tres dosis y se les realizó el seguimiento para la evaluación de la seguridad durante los 42 días posteriores a la tercera dosis y a 56.310 (el 81,3%) se les realizó el seguimiento durante 1

año tras la primera dosis (Fig. 1B del Anexo complementario). De los participantes que recibieron al menos una dosis, a 67.756 (el 99,6%) se les realizó el seguimiento durante los 42 días posteriores a su última dosis. Las características demográficas de los niños de los grupos vacunados y de los grupos a los que se les administró el placebo eran parecidas en términos generales (Tabla 1). La mediana de la edad de los lactantes en el momento de su incorporación era de 10 semanas.

INVAGINACIÓN INTESTINAL

Se produjo un caso confirmado de invaginación intestinal en el año posterior a la primera dosis en 12 lactantes vacunados y en 15 que recibieron el placebo (riesgo relativo: 0,8; intervalo de confianza del 95%: 0,3 a 1,8) (Fig. 1A). En el periodo de 42 días posterior a cualquiera de las dosis se produjo un caso confirmado de invaginación intestinal en seis vacunados y en cinco receptores del placebo (riesgo relativo ajustado para la multiplicidad: 1,6; intervalo de confianza del 95%: 0,4 a 6,4), un resultado que satisfacía la hipótesis

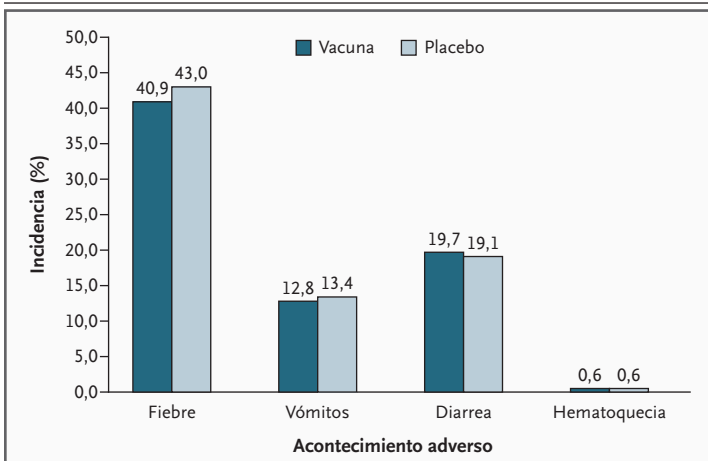


Figura 2. Porcentaje de participantes en el subestudio detallado sobre seguridad con fiebre, vómitos, diarrea o hematoquecia en los 42 días posteriores a la administración de cualquiera de las dosis, según el grupo del estudio. Fiebre hace referencia a todos los episodios de fiebre notificados.

ticado 98 días después de la tercera dosis. Los análisis de cinco muestras de heces procedentes de participantes con invaginación intestinal confirmada disponibles en el momento del diagnóstico fueron negativos para el antígeno del rotavirus.

OTROS ACONTECIMIENTOS ADVERSOS

Se notificaron acontecimientos adversos serios en 803 de 34.035 receptores de la vacuna (el 2,4%) y 859 de 34.003 receptores del placebo (el 2,5%). En total, se produjeron 44 fallecimientos durante el estudio, 24 entre los lactantes vacunados (<0,1%) y 20 entre los receptores del placebo (<0,1%). La causa de muerte más frecuente en ambos grupos fue el síndrome de muerte súbita del lactante, que se produjo en siete vacunados y en ocho receptores del placebo. Ninguno de los fallecimientos fue atribuido a la vacunación por los investigadores, que desconocían las asignaciones a los tratamientos.

En los 9605 participantes del subestudio detallado sobre seguridad (4806 en el grupo vacunado y 4799 en el grupo que recibió el placebo), las tasas de fiebre, vómitos y diarrea en los 42 días posteriores a cualquiera de las dosis fueron similares entre los vacunados y los receptores del placebo (Fig. 2). La incidencia global de hematoquecia en el plazo de 42 días tras la administración de cualquiera de las dosis fue del 0,6% en cada grupo. En los casos de invaginación intestinal adjudicados como negativos, la hematoquecia fue más frecuente en el grupo de pacientes vacunados (10 lactantes) que en el grupo que recibió el placebo (3 lactantes). Con excepción de la dermatitis (que fue más frecuente entre los vacunados que entre los receptores del placebo), las frecuencias de notificación de los distintos acontecimientos adversos fueron parecidas en los dos grupos.

Durante el periodo de cuatro a seis días posterior a la administración de la primera dosis, se detectó eliminación fecal de cepas vacunales en 17 de 134 receptores de la vacuna (el 12,7%). Ninguno de 109 vacunados eliminó cepas vacunales de cuatro a seis días después de la segunda dosis y ninguno de 99 eliminó virus vacunales después de la tercera.

USO DE RECURSOS SANITARIOS PARA LAS GASTROENTERITIS POR ROTAVIRUS

En el estudio a gran escala, 28.646 y 28.488 par-

Tabla 2. Reducción del número de hospitalizaciones y de visitas a los servicios de urgencias en la población por protocolo del estudio a gran escala, según el serotipo G identificado en las heces del lactante.*

Serotipo	N° de casos de gastroenteritis por rotavirus		Reducción porcentual de la tasa (IC del 95%)
	Grupo vacunado (N=34.035)	Grupo placebo (N=34.003)	
G1	16	328	95,1 (91,6–97,1)
G2	1	8	87,6 (<0–98,5)
G3	1	15	93,4 (49,4–99,1)
G4	2	18	89,1 (52,0–97,5)
G9	0	13	100,0 (67,4–100,0)
G12	0	1	100,0 (<0–100,0)

* El número de participantes de cada grupo es el número de los que recibieron al menos una dosis. Algunos participantes presentaron más de un acontecimiento. IC significa intervalo de confianza.

principal en cuanto a seguridad (Fig. 1B). No se produjo ningún caso de invaginación intestinal en un lactante vacunado en los 42 días siguientes a la primera dosis.

De los 27 casos confirmados de invaginación intestinal acaecidos en el plazo de un año tras la primera dosis, 16 (el 59%) eran lactantes varones. En el momento de la invaginación intestinal, los receptores de la vacuna no eran más jóvenes que los receptores del placebo (Fig. 1C). Se produjo un fallecimiento por sepsis postoperatoria en un lactante vacunado en el que la invaginación intestinal se había diagnos-

ticipantes de los grupos que recibieron la vacuna y el placebo, respectivamente, fueron incluidos en el análisis por protocolo de la eficacia de la vacuna para reducir las necesidades de hospitalización o de uso de los servicios de urgencias a causa de gastroenteritis por rotavirus (Fig. 1C del Anexo complementario). En total, 204 lactantes (13 del grupo vacunado y 191 del grupo que recibió el placebo) acudieron a los servicios de urgencias y 144 lactantes (6 en el grupo vacunado y 138 en el grupo que recibió el placebo) fueron hospitalizados debido a gastroenteritis por rotavirus G1–G4. La vacuna redujo la incidencia combinada de hospitalización o atención en los servicios de urgencias por gastroenteritis por rotavirus G1–G4 en un 94,5% (intervalo de confianza del 95%: del 91,2% al 96,6%), con una reducción del 95,8% en la tasa de hospitalización (intervalo de confianza del 95%: del 90,5% al 98,2%) y una reducción del 93,7% en la tasa de visitas a los servicios de urgencias (intervalo de confianza del 95%: del 88,8% al 96,5%). Las cifras relativas a las hospitalizaciones y a las visitas a los servicios de urgencias se muestran, según el serotipo, en la Tabla 2.

La eficacia de la vacuna contra todas las hospitalizaciones relacionadas con la gastroenteritis tras la primera dosis fue del 58,9% (intervalo de confianza del 95%: del 51,7% al 65,0%). Se constató también una reducción del 86,6% (intervalo de confianza del 95%: del 78,0% al 91,9%) en el número de días de absentismo laboral asociados con la gastroenteritis por rotavirus G1–G4: los padres o tutores de los lactantes vacunados perdieron 65 días de trabajo, en tanto que los padres o tutores de los receptores del placebo perdieron 487 días de trabajo. En el subestudio sobre eficacia clínica, la vacuna redujo el número de visitas a consultorios o clínicas a causa de una gastroenteritis por rotavirus G1–G4 en un 86,0% (intervalo de confianza del 95%: del 73,9% al 92,5%).

EFICACIA CLÍNICA CONTRA LA GASTROENTERITIS POR ROTAVIRUS SEGÚN SU GRAVEDAD

En el subestudio sobre eficacia clínica participaron 5673 vacunados (Fig. 1D del Anexo complementario). Entre los 4512 participantes (2207 en el grupo vacunado y 2305 en el grupo que recibió el placebo) cuyos datos se pudieron evaluar en el análisis de la eficacia por protocolo, 397 casos de gastroenteritis por rotavirus (82 y 315,

Tabla 3. Eficacia clínica frente a la gastroenteritis por rotavirus de cualquier grado de gravedad en la población por protocolo del subestudio sobre eficacia clínica, según el serotipo G identificado en las heces del lactante.*

Serotipo	N° de casos de gastroenteritis por rotavirus		Eficacia porcentual (IC del 95%)
	Grupo vacunado (N=2834)	Grupo placebo (N=2839)	
G1	72	286	74,9 (67,3–80,9)
G2	6	17	63,4 (2,6–88,2)
G3	1	6	82,7 (<0–99,6)
G4	3	6	48,1 (<0–91,6)
G9	1	3	65,4 (<0–99,3)

* El número de participantes de cada grupo es el número de los que recibieron al menos una dosis. IC significa intervalo de confianza.

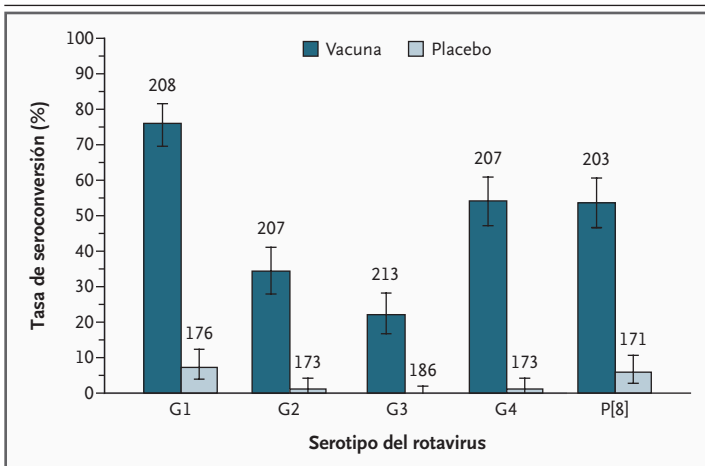


Figura 3. Tasas de seroconversión para los anticuerpos neutralizantes séricos frente a los serotipos humanos incluidos en la vacuna.

La seroconversión se definió como un aumento por un factor de 3 o más en el título sérico de anticuerpos neutralizantes frente al serotipo especificado del rotavirus entre la situación basal y aproximadamente 14 días después de administrar la tercera dosis. El número de participantes sometidos a análisis en cada grupo se indica encima de la barra correspondiente. Las barras I representan el intervalo de confianza del 95% para las estimaciones puntuales.

respectivamente) causada por los serotipos G1–G4 (G1 en 358, G2 en 23, G3 en 7 y G4 en 9) se produjeron un mínimo de 14 días después de la tercera dosis durante la primera temporada del rotavirus completa. La eficacia de la vacuna contra la gastroenteritis por rotavirus G1–G4 de cualquier grado de gravedad fue del 74,0% (intervalo de confianza del 95%: del 66,8% al 79,9%) y la eficacia contra la gastroenteritis grave por rotavirus G1–G4 fue del 98,0% (intervalo de confianza del 95%: del 88,3 al 100%). Entre los lactantes vacunados sólo se produjo un caso de gas-

troenteritis grave por rotavirus durante la primera temporada del rotavirus completa posterior a la vacunación. La puntuación media de gravedad de los casos fue de 9,1 en los lactantes vacunados (intervalo: 1 a 17), frente a 12,9 (intervalo: 2 a 21) en los receptores del placebo. Los resultados específicos por serotipos se presentan en la Tabla 3. En un análisis por intención de tratar modificado en el que se incluyó a todos los participantes que recibieron al menos una dosis y en el que se contaron los casos acordes al protocolo que se produjeron en cualquier momento durante la primera temporada del rotavirus completa posterior a la primera dosis, la eficacia de la vacuna fue del 60,0% (intervalo de confianza del 95%: del 51,5% al 67,1%) frente a la gastroenteritis por rotavirus G1–G4 de cualquier grado de gravedad.

Durante la segunda temporada del rotavirus tras la vacunación, hubo 36 casos causados por los serotipos G1–G4 entre 813 lactantes vacunados cuyos datos se pudieron evaluar y 88 casos causados por los serotipos G1–G4 entre 756 receptores del placebo cuyos datos se pudieron evaluar. La eficacia durante la segunda temporada frente a la gastroenteritis por rotavirus G1–G4 de cualquier grado de gravedad fue del 62,6% (intervalo de confianza del 95%: del 44,3% al 75,4%) y la eficacia contra la enfermedad grave (que se produjo en 2 vacunados y en 17 receptores del placebo) fue del 88,0% (intervalo de confianza del 95%: del 49,4% al 98,7%).

CAPACIDAD INMUNÓGENA

Las respuestas de anticuerpos se determinaron en un subgrupo de lactantes en los que se habían obtenido muestras de suero según un calendario predeterminado, antes de la primera dosis y aproximadamente dos semanas después de la tercera (Fig. 3). Las tasas de seroconversión para los anticuerpos neutralizantes séricos frente a cada serotipo del rotavirus humano incluido en la vacuna fueron significativamente más altas en el grupo vacunado que en el que recibió el placebo. En los receptores de la vacuna cuyos datos se pudieron evaluar, hubo un porcentaje mayor de seroconversiones frente a G1, G4 y P[8] que frente a G2 o G3. Las tasas de seroconversión de anticuerpos séricos frente al rotavirus de clase IgA fueron del 95,2% (intervalo de confianza del 95%: del 91,2% al 97,8%) entre los 189 lactantes vacunados cuyos datos se pudieron evaluar, frente a un 14,3% (intervalo de confianza del 95%:

del 9,3% al 20,7%) entre los 161 receptores del placebo que se pudieron evaluar.

DISCUSIÓN

Los resultados de nuestro estudio proporcionan un gran nivel de confianza en la seguridad de la vacuna antirrotavírica pentavalente reagrupada humano–bovina (WC3) y demuestran sus posibles beneficios para la prevención de la gastroenteritis por rotavirus y de cara al uso de recursos sanitarios asociado a dicha enfermedad. El sistema de vigilancia activa no detectó en ningún momento del estudio un aumento significativo del riesgo de invaginación intestinal en los vacunados y la principal hipótesis en cuanto a seguridad se cumplió al final del estudio. El riesgo relativo de invaginación intestinal en los vacunados, en comparación con los receptores del placebo, fue de 1,6 (intervalo de confianza del 95%: 0,4 a 6,4) durante el periodo de 42 días posterior a cualquiera de las dosis, un resultado que cumple los criterios predefinidos para un perfil de seguridad aceptable. Los casos de invaginación intestinal se produjeron de forma esporádica, sin datos indicativos de un aumento del riesgo en los receptores de la vacuna durante los periodos de 7 y 14 días posteriores a la administración de cada dosis, que eran los periodos de mayor riesgo con la vacuna RRV-TV.^{10–14} A diferencia de lo observado con la RRV-TV,^{15–18} en nuestro estudio las tasas de fiebre, vómitos, diarrea y hematoquecia fueron parecidas en los vacunados y en los receptores del placebo. Estos datos concuerdan con los resultados obtenidos en los ensayos clínicos sobre la vacuna reagrupada humano–bovina (WC3) realizados durante las primeras fases, en los que sólo se notificó un caso de invaginación intestinal (en un varón de siete meses) entre los 2470 vacunados.^{22,23}

La vacuna antirrotavírica pentavalente fue muy eficaz frente a la gastroenteritis grave por rotavirus y confirmó una protección sustancial contra la gastroenteritis por rotavirus de cualquier grado de gravedad. Su eficacia, especialmente frente a la enfermedad grave por rotavirus, se mantuvo durante una segunda temporada del rotavirus. Estos datos concuerdan con la considerable protección que induce la infección por el rotavirus salvaje frente a la gastroenteritis por rotavirus de grado leve a moderado y la inmunidad prácticamente total que induce la infección por

el virus salvaje frente a la enfermedad grave.^{3,5} Nuestro estudio confirma los resultados de los ensayos de fase 2 con la vacuna pentavalente y sus predecesoras, en los que la eficacia fue del 68% al 75% frente a la gastroenteritis por rotavirus de cualquier grado de gravedad y del 100% frente a la enfermedad grave.^{22,23}

El gran tamaño de la muestra de nuestro ensayo nos dio la oportunidad de cuantificar el efecto de la vacunación sobre los resultados en cuanto a atención sanitaria asociados con la gastroenteritis por rotavirus en una situación previa a la autorización. La vacuna redujo de forma significativa las necesidades de hospitalización, las visitas a los servicios de urgencias y las visitas a los consultorios a causa de una gastroenteritis por rotavirus, lo cual pone de relieve el posible beneficio para la salud pública de un programa universal de vacunación si la eficacia observada en nuestro ensayo se reproduce en la práctica clínica. La vacunación podría también reportar beneficios indirectos a la sociedad al reducir el absentismo laboral en los padres o tutores de los niños de corta edad.

No está claro el mecanismo inmunológico mediante el cual las vacunas antirrotavíricas protegen frente a la gastroenteritis por rotavirus.^{35,36} La primoinfección por el rotavirus salvaje confiere una inmunidad que es predominantemente específica para el serotipo correspondiente.^{4,5,37} En este estudio, la eficacia específica por serotipos sólo se pudo evaluar para las cepas circulantes durante el periodo del estudio. Se pudo probar la eficacia de la vacuna frente a los serotipos G1 a G4 y en un pequeño número de casos de G9, tal como lo demuestran las reducciones en la incidencia de gastroenteritis o en el uso de los recursos sanitarios, o en ambos, asociados con los citados serotipos.

En la mayor parte de los casos, los participantes en nuestro estudio eran lactantes sanos de entre 6 y 12 semanas de edad procedentes de países desarrollados. Dado que la vacuna se administra por vía oral, está justificada la realiza-

ción de estudios adicionales para confirmar su eficacia en niños desnutridos o infectados por múltiples microorganismos patógenos entéricos. Junto con la aparente ausencia de una asociación entre la invaginación intestinal y la enfermedad por el rotavirus de tipo salvaje,^{24,25} los resultados de este amplio ensayo resultan tranquilizadores al indicar que no todas las vacunas antirrotavíricas se asocian con invaginación intestinal. Dado que la invaginación intestinal es poco frecuente, es conveniente seguir efectuando controles. Nuestros resultados confirmaron también la eficacia de la vacuna contra la gastroenteritis por rotavirus durante dos temporadas del rotavirus tras la vacunación. La vacuna redujo notablemente el uso de los recursos sanitarios asociado con el rotavirus. La administración generalizada de una vacuna segura y eficaz podría reducir sustancialmente la morbimortalidad asociada con esta enfermedad infantil que afecta a niños de todo el mundo.

Los Dres. Vesikari y Marshall declaran haber recibido honorarios por asesoramiento, honorarios por conferencias y apoyo financiero de Merck y GlaxoSmithKline Biologicals; los Dres. Matson y Santosham, honorarios por asesoramiento y apoyo financiero de Merck; la Dra. Dennehy y el Dr. Van Damme, apoyo financiero de Merck y GlaxoSmithKline Biologicals; la Dra. Rodríguez, honorarios por conferencias y apoyo financiero de Merck; el Dr. Black y las Dras. Christie y O'Brien, apoyo financiero de Merck; los Dres. Shinefield y Campens declaran haber recibido becas y poseer acciones de Merck; el Dr. Gothefors, haber recibido becas de Merck y honorarios por conferencias de GlaxoSmithKline Biologicals; y los Dres. Clark y Watt, apoyo financiero de Merck. Los Dres. Clark y Offit declaran ser copropietarios de la patente de RotaTaq. No se comunicó ningún otro posible conflicto de intereses relevante para el presente artículo.

Las opiniones expresadas en este artículo son las de sus autores y no representan necesariamente la opinión del Servicio Indio de Salud.

Agradecimientos: damos las gracias a los lactantes que participaron en este estudio y a sus padres o tutores; a Jacqueline Miller, Laura Digilio, Angela Howard, Deborah Donnelly y Leslie Jonas por contribuir a la puesta en marcha de este estudio; a Jerard Sadoff por contribuir al diseño y al inicio del estudio; a Richard Ward, Naren Chirmule, Daniel DiStefano y Alan Shaw por supervisar los análisis de laboratorio; a David Robinson por asegurarse de que los suministros de vacuna y placebo eran adecuados; a Bryan Kropp y Panu Helke por gestionar los datos; a Jon Stek por revisar detenidamente las diversas copias del manuscrito; y a Kathy Walker y Joann DiLullo por aportar su indispensable apoyo administrativo.

REFERENCIAS

1. Parashar UD, Hummelman EG, Bresee JS, Miller MA, Glass RI. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis* 2003;9:565-72.
2. Bresee JS, Glass RI, Ivanoff B, Gentsch JR. Current status and future priorities for rotavirus vaccine development, evaluation and implementation in developing countries. *Vaccine* 1999;17:2207-22.
3. Moulton LH, Staat MA, Santosham M, Ward RL. The protective effectiveness of natural rotavirus infection in an American Indian population. *J Infect Dis* 1998;178: 1562-66.
4. O'Ryan ML, Matson DO, Estes MK, Pickering LK. Anti-rotavirus G type-specific and isotype-specific antibodies in children with natural rotavirus infections. *J Infect Dis* 1994;169:504-11.
5. Velazquez FR, Matson DO, Calva JJ, et al. Rotavirus infections in infants as pro-

- tection against subsequent infections. *N Engl J Med* 1996;335:1022-8.
6. Velazquez FR, Matson DO, Guerrero ML, et al. Serum antibody as a marker of protection against natural rotavirus infection and disease. *J Infect Dis* 2000;182:1602-9.
 7. Gentsch JR, Woods PA, Ramachandran M, et al. Review of G and P typing results from a global collection of rotavirus strains: implications for vaccine development. *J Infect Dis* 1996;174:Suppl 1:S30-S36.
 8. Santos N, Hoshino Y. Global distribution of rotavirus serotypes/genotypes and its implication for the development and implementation of an effective rotavirus vaccine. *Rev Med Virol* 2005;15:29-56.
 9. Rotavirus vaccine for the prevention of rotavirus gastroenteritis among children: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. *MMWR Recomm Rep* 1999;48(RR-2):1-20.
 10. Intussusception among recipients of rotavirus vaccine — United States, 1998–1999. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1999;48:577-81.
 11. Kramarz P, France EK, Destefano F, et al. Population-based study of rotavirus vaccination and intussusception. *Pediatr Infect Dis J* 2001;204:10-6.
 12. Murphy TV, Gargiullo PM, Massoudi MS, et al. Intussusception among infants given an oral rotavirus vaccine. *N Engl J Med* 2001;344:564-72.
 13. Parashar UD, Holman RC, Cummings KC, et al. Trends in intussusception-associated hospitalizations and deaths among US infants. *Pediatrics* 2000;106:1413-21.
 14. Peter G, Myers MG. Intussusception, rotavirus, and oral vaccines: summary of a workshop. *Pediatrics* 2002;110(6):e67.
 15. Haber P, Chen RT, Zanardi LR, Mootrey GT, English R, Braun MM. An analysis of rotavirus vaccine reports to the vaccine adverse event reporting system: more than intussusception alone? *Pediatrics* 2004;113(4):e353-e359.
 16. Joensuu J, Koskenniemi E, Pang XL, Vesikari T. Randomised placebo-controlled trial of rhesus-human reassortant rotavirus vaccine for prevention of severe rotavirus gastroenteritis. *Lancet* 1997;350:1205-9.
 17. Joensuu J, Koskenniemi E, Vesikari T. Symptoms associated with rhesus-human reassortant rotavirus vaccine in infants. *Pediatr Infect Dis J* 1998;17:334-40.
 18. Rennels MB, Glass RI, Dennehy PH, et al. Safety and efficacy of high-dose rhesus-human reassortant rotavirus vaccines — report of the National Multicenter Trial: United States Rotavirus Vaccine Efficacy Group. *Pediatrics* 1996;97:7-13.
 19. Withdrawal of rotavirus vaccine recommendation. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1999;48:1007.
 20. Clark HF, Offit PA. Vaccines for rotavirus gastroenteritis universally needed for infants. *Pediatr Ann* 2004;33:536-43.
 21. Glass RI, Bresee JS, Parashar UD, Jiang B, Gentsch J. The future of rotavirus vaccines: a major setback leads to new opportunities. *Lancet* 2004;363:1547-50.
 22. Clark HF, Bernstein DI, Dennehy PH, et al. Safety, efficacy, and immunogenicity of a live, quadrivalent human-bovine reassortant rotavirus vaccine in healthy infants. *J Pediatr* 2004;144:184-90.
 23. Vesikari T, Clark HF, Offit PA, et al. The effect of dose and composition of a pentavalent rotavirus vaccine (RotaTeq) upon safety, efficacy, and immunogenicity in healthy infants. Presented at the 22nd annual meeting of the European Society for Pediatric Infectious Diseases (ESPID), Tampere, Finland, May 26–28, 2004.
 24. Chang EJ, Zangwill KM, Lee H, Ward JI. Lack of association between rotavirus infection and intussusception: implications for use of attenuated rotavirus vaccines. *Pediatr Infect Dis J* 2002;21:97-102.
 25. Rennels MB, Parashar UD, Holman RC, Le CT, Chang HG, Glass RI. Lack of an apparent association between intussusception and wild or vaccine rotavirus infection. *Pediatr Infect Dis J* 1998;17:924-5.
 26. Heaton PM, Goveia MG, Miller JM, Offit P, Clark HF. Development of a pentavalent rotavirus vaccine against prevalent serotypes of rotavirus gastroenteritis. *J Infect Dis* 2005;192:Suppl 1:S17-S21.
 27. Gilchrist MJ, Bretl TS, Moultney K, Knowlton DR, Ward RL. Comparison of seven kits for detection of rotavirus in fecal specimens with a sensitive, specific enzyme immunoassay. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1987;8:221-8.
 28. Dolan KT, Twist EM, Horton-Slight P, et al. Epidemiology of rotavirus electropherotypes determined by a simplified diagnostic technique with RNA analysis. *J Clin Microbiol* 1985;21:753-8.
 29. Jennison C, Turnbull BW. Group sequential methods with applications to clinical trials. Boca Raton, Fla.: Chapman & Hall/CRC, 2000.
 30. DiStefano DJ, Kraiouchkine N, Mallette L, et al. Novel rotavirus VP7 typing assay using a one-step reverse transcriptase PCR protocol and product sequencing and utility of the assay for epidemiological studies and strain characterization, including serotype subgroup analysis. *J Clin Microbiol* 2005;43:5876-80.
 31. Laboratory-based surveillance for rotavirus — United States, July 1996–June 1997. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1997;46:1092-4.
 32. LeBaron CW, Lew J, Glass RI, Weber JM, Ruiz-Palacios GM. Annual rotavirus epidemic patterns in North America: results of a 5-year retrospective survey of 88 centers in Canada, Mexico, and the United States. *JAMA* 1990;264:983-8.
 33. Vesikari T, Rautanen T, Von Bonsdorff CH. Rotavirus gastroenteritis in Finland: burden of disease and epidemiological features. *Acta Paediatr Suppl* 1999;88:24-30.
 34. Duffy LC, Byers TE, Riepenhoff-Talty M, La Scolea LJ, Zielezny M, Ogra PL. The effects of infant feeding on rotavirus-induced gastroenteritis: a prospective study. *Am J Public Health* 1986;76:259-63.
 35. Ward RL, Knowlton DR, Zito ET, Davidson BL, Rappaport R, Mack ME. Serologic correlates of immunity in a tetravalent reassortant rotavirus vaccine trial: US Rotavirus Vaccine Efficacy Group. *J Infect Dis* 1997;176:570-7.
 36. Coffin SE, Moser CA, Cohen S, Clark HF, Offit PA. Immunologic correlates of protection against rotavirus challenge after intramuscular immunization of mice. *J Virol* 1997;71:7851-6.
 37. Rodriguez WJ, Kim HW, Brandt CD, et al. Sequential enteric illnesses associated with different rotavirus serotypes. *Lancet* 1978;2:37.