

# VIROLOGIA DE LOS ROTAVIRUS Y EPIDEMIOLOGIA DE LA DIARREA POR ROTAVIRUS<sup>1</sup>

Alberto Simhon<sup>2</sup>

## Introducción

Antes del decenio de 1960 no existían pruebas fehacientes de que los virus causaran diarrea, pero la relación se sospechaba a raíz de ciertos estudios en que se administraron *per os* filtrados fecales de pacientes con "diarrea no bacilar y no amibica" a voluntarios que contrajeron diarrea (1). Además, algunos informes esporádicos indicaban una relación estadística entre ciertos enterovirus y adenovirus y la presencia de diarrea (2, 3).

Gracias a los adelantos tecnológicos de los últimos dos decenios, se ha descubierto una amplia gama de agentes entéricos víricos o similares a los virus, como los rotavirus, los virus de Norwalk y tipo Norwalk, los adenovirus entéricos (antes denominados "no-cultivables" o "fastidiosos"), los agentes similares a los parvovirus, los calicivirus, los astrovirus y otros virus entéricos pequeños. Además, se identificaron las enterobacteriáceas y *Vibrionaceae* enterotoxígenas y se "redescubrieron" ciertos agentes como *Campylobacter fetus jejuni*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia enterocolitica* y *Cryptosporidium* sp. Más del 60% de los casos de diarrea están rela-

cionados con esos agentes y otros que ya se conocían (4-6). Los rotavirus se destacan como agentes en los casos pediátricos de diarrea atendidos en los dispensarios de los países en desarrollo, por ejemplo, en Bangladesh y Costa Rica (4, 5). Sin embargo, en los estudios prospectivos realizados en países como Bangladesh y Guatemala se ha demostrado que los agentes enteropatógenos bien conocidos, como *Shigella* y *Giardia lamblia*, y el agente enterotoxígeno *Escherichia coli* desempeñan un papel relativamente más importante que los rotavirus (7, 8).

Este artículo trata de la diarrea causada por rotavirus en los lactantes y niños de corta edad, poniendo de relieve ciertos aspectos como las propiedades fisicoquímicas y biológicas del virus, los métodos de estudio en los laboratorios, la epidemiología de la infección que causa y los posibles métodos de control y prevención de las enfermedades diarreicas pertinentes.

## Propiedades fisicoquímicas y biológicas de los rotavirus

Los rotavirus son un grupo de virus de amplia dispersión que infectan a diversos vertebrados, incluido el hombre, a menudo durante los primeros días de vida. El murino es el primer rotavirus que fue identificado, en la diarrea epizootica de los ratones lactantes (9). Más tarde se descubrió el virus de la diarrea neonatal de los terneros (NCDV). La enfermedad se

<sup>1</sup> Este estudio fue parcialmente financiado por la Organización Mundial de la Salud, el Consejo Costarricense de Investigaciones Científicas y Tecnológicas, la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica y el préstamo 515-T-026 de USAID. Una parte de este estudio fue presentada como tesis doctoral en la Universidad de Londres.

<sup>2</sup> Instituto de Investigaciones en Salud (INISA), Universidad de Costa Rica. Dirección postal: INISA, Ciudad Universitaria "Rodrigo Facio", San José, Costa Rica.

reprodujo experimentalmente en terneros gnotobióticos privados de calostro, a los que se inocularon filtrados libres de bacterias de heces, provenientes de terneros con infecciones naturales de diarrea (10). Se han encontrado rotavirus en casos de diarrea en un gran número de mamíferos, como lechones, corderos, potrillos, conejos, perros y gatos, y también en aves, como pavos y pollos (11).

Los rotavirus del hombre se descubrieron simultáneamente en Australia, Inglaterra y Canadá (12-14). Actualmente se considera que son una de las principales causas de las enfermedades diarreicas en el ser humano y un factor que contribuye notablemente a la tremenda mortalidad y morbilidad entre los lactantes y niños de corta edad en todo el mundo (15).

Con el microscopio electrónico se pueden distinguir dos tipos de partículas redondas en las heces diarreicas: viriones "lisos" o "completos", de doble cápside y 70 nm de diámetro, y partículas "rugosas" o "incompletas", de cápside simple y de 60 a 65 nm de diámetro.

Los rotavirus son muy resistentes a las temperaturas altas, pH ácido, solventes de lípidos y detergentes no iónicos (16, 17). En el tratamiento tradicional del agua por floculación, parece ser menos eficaz la adsorción de los rotavirus que la de los otros virus entéricos. El cloro es relativamente ineficaz como inactivador de los rotavirus, en tanto que el etanol (al 70% o más) es muy eficaz (18).

La replicación del rotavirus se produce en el citoplasma de la célula infectada (19, 20). Una polimerasa endógena de ARN sintetiza 8 especies mensajeras de ARN, que se traducen en 10 ó 12 polipéptidos, algunos de los cuales sufren modificaciones tales como glucosilación, segmentación y reducción durante o después del proceso traduccional (21, 22). Todos los organelos citoplásmicos, incluso el núcleo, quedan destruidos (23).

El tejido al que se dirigen es el epitelio vellosos del intestino delgado. En los terneros infectados, las células cilíndricas en las que se detecta replicación viral por inmunofluorescencia son reemplazadas rápidamente por células cuboideas no fluorescentes (10, 24). La biopsia del intestino delgado del ser humano revela cambios histopatológicos similares, incluso el acortamiento y embotamiento del vello, observándose partículas víricas fácilmente reconocibles en las cisternas distendidas del retículo endoplásmico rugoso (12, 19). La regeneración del epitelio se inicia entre los 5 y 7 días después del comienzo de la diarrea; 10 ó 15 días después de la terminación de la enfermedad, el aspecto del vello es casi normal (25, 26). La diarrea resulta de la denudación inherente, la atrofia del vello y la disminución evidente de la capacidad de absorción de los enterocitos. Sin embargo, en los casos de diarrea causada por rotavirus, la absorción y la digestión no son afectadas al grado que impida la rehidratación oral con soluciones de sal y azúcar. En Costa Rica y Bangladesh, el tratamiento oral dio buenos resultados, en la rehidratación y mantenimiento de niños con diarrea causada por rotavirus. Tanto la glucosa como la sucrosa fueron eficaces (27, 28). La solución de azúcar y sal recomendada por la OMS fue eficaz para la rehidratación oral de neonatos hasta en los casos que presentaron hipernatremia y acidosis (29).

Los rotavirus constituyen un género separado dentro de la familia de los Reoviridae, y su genoma consiste en once segmentos de ARN de tira doble. De esa manera, los rotavirus se diferencian de los reovirus y los orbivirus, que tienen diez segmentos de ARN de tira doble. Como el genoma es segmentado, la coinfección de un cultivo celular con dos clases de rotavirus resultaría en la producción de un virus con las características genotípicas y fenotípicas de los progenitores. Emple-

ando ese método fue posible "rescatar" rotavirus humanos no cultivables combinándolos con un mutante *ts* cultivable de un rotavirus bovino (30). Los estudios de hibridación de rotavirus humanos y animales en los que se usa ADN complementario han revelado que, en general, los rotavirus humanos y animales presentan un bajo orden de correlación entre sus respectivas secuencias, o sea, en la homología de los pares de bases. Los investigadores plantean la hipótesis de que eso está de acuerdo con el concepto de que los rotavirus evolucionaron por medio de cambios acumulativos causados por "desviación", "transposición" y el intercambio de segmentos (31, 32).

#### *Métodos de laboratorio para el estudio de los rotavirus*

Una de las razones por las que se tardó tanto tiempo en descubrir los rotavirus es que se desarrollan solo en medios de cultivo especialmente fortificados, y no crecen en la mayoría de los histocultivos utilizados corrientemente. Ese problema se resolvió, en parte, cuando se descubrió que la tripsina refuerza la infección por rotavirus y la replicación del virus en el histocultivo (33, 34), al actuar como mediador de la ruptura del polipéptido principal exterior de la cápside, cuyo peso molecular es 88 000, antes de que el rotavirus pierda la envoltura (35, 36). La primera cepa de rotavirus humano que se cultivó fue la cepa mutante Wa, realizándose pasajes repetidos de cultivo preliminar en lechones a fin de facilitar su desarrollo con tripsina en histocultivos de riñón de mono primarios y, más tarde, continuos (37). Poco después, en Japón se cultivaron cepas humanas de tipo silvestre en histocultivos continuos de riñón de mono en presencia de tripsina en tambores rotatorios (38, 39). Aunque no siempre se logra el crecimiento apropiado, este método tec-

nológico podría ser muy útil para comprender la epidemiología de los rotavirus.

Teniendo en cuenta los casos notificados de reinfección por rotavirus se infirió la existencia de varios serotipos de rotavirus humanos (40). A menudo, esas reinfecciones fueron denominadas "secuenciales", en parte porque se pensaba que los diferentes serotipos así llamados eran la causa. Sin embargo, más tarde se notó que las especificidades antigénicas detectadas originalmente por medio de técnicas como la fijación del complemento, la prueba de inmunoabsorción enzimática (ELISA) y la valoración de la hemaglutinación por inmunoadherencia (IAHA) (11) son distintas de las que inducen la aparición de anticuerpos neutralizadores (41-43). Se empleó la palabra "subgrupo" para describir las primeras (44), y "serotipo" para las segundas. Ahora se ha llegado a un acuerdo en cuanto a la nomenclatura de los serotipos de rotavirus, y se han reconocido por lo menos cuatro serotipos (43). El tipo 1 incluye las cepas similares o idénticas a las Birmingham I, NIH Wa y las japonesas K8 y KU; el tipo 2 comprende las Birmingham II, NIH DS-1 y las japonesas S2 y KUN; el tipo 3, la Birmingham III, NIH P y las japonesas YO e Ito; y el tipo 4, la cepa 4 de St. Thomas y las japonesas Hosokawa y Hochi. Se han podido obtener cepas de rotavirus del tipo humano 3, en simios, caninos y felinos. Los síntomas leves y la excreción asintomática de partículas en recién nacidos de Gran Bretaña y Australia se han atribuido a la presencia de cepas de los tipos 3 y 4 (43).

La clasificación de las cepas humanas en subgrupos es una tarea más sencilla. Se han establecido dos subgrupos humanos. Como ya se ha indicado, eso se puede hacer empleando técnicas como la fijación del complemento, ELISA y IAHA o mediante electroforesis del ARN genómico en gel policrilamídico (PAGE). Además, con la técnica PAGE, la movilidad rela-

tiva de los segmentos de ARN facilita la tipificación electroforética de las cepas prevalentes en una comunidad o en un medio especial durante un período determinado (45, 46). PAGE permite identificar a primera vista el subgrupo antigénico. La pauta de migración "corta" de los segmentos 10 y 11 corresponde al subgrupo 1, mientras que la pauta "larga" de los segmentos 10 y 11 corresponde al subgrupo 2 (47). Aunque se ha documentado la mayor prevalencia de las cepas del subgrupo 2 entre los rotavirus que causan diarrea (11, 43, 48), todavía no se ha establecido una correlación entre el subgrupo antigénico y la virulencia.

En cuanto a la detección del antígeno y el anticuerpo del rotavirus, se recomienda el excelente trabajo de Kapikian *et al* (11). El método clásico para determinar la presencia del antígeno de rotavirus en las heces es la microscopía electrónica, que generalmente se usa como base para comparar las demás técnicas. Sin embargo, para visualizar partículas (con tinción negativa), se necesitan concentraciones de por lo menos  $10^6$  partículas por gramo. En los estudios sobre inmunidad en los que se emplea la microscopía electrónica, la sensibilidad aumenta si se incuban previamente los especímenes con suero obtenido de casos convalecientes o hiperinmunes. Sin embargo, la microscopía electrónica lleva mucho tiempo, requiere la intervención de técnicos muy competentes y no es apropiada para el estudio de muchos especímenes.

Las técnicas tradicionales como la inmunofluorescencia (IF), la fijación del complemento, la IAHA y la contrainmuno-electroforesis han sido reemplazadas en gran medida por el radioinmunoensayo de fase sólida (RIA) y ELISA, que actualmente son los métodos de inmunoensayo más sensibles y los que se prefieren para el examen de grandes cantidades de especímenes. ELISA tiene otras ventajas: se puede realizar en cualquier sitio y no es

peligrosa porque no se usan radioisótopos. Por medio de varias técnicas (microscopía electrónica, fijación del complemento, inmunofluorescencia indirecta, ELISA, RIA, neutralización de focos fluorescentes y neutralización por reducción de placas) se ha determinado la presencia de anticuerpos contra los rotavirus en el suero, la leche humana y las heces. ELISA y RIA son los métodos más sensibles y más fáciles, y los que se prefieren para comprobar la presencia de anticuerpos contra una clase específica de virus o de anticuerpos bloqueadores. Sin embargo, la neutralización por reducción de placas, método recientemente desarrollado, permite evaluar los anticuerpos neutralizadores de determinados serotipos.

### **Epidemiología de la diarrea por rotavirus**

La patogenicidad de los rotavirus varía según la edad del huésped. En los mamíferos, a excepción de los humanos, la susceptibilidad a la diarrea causada por rotavirus es mayor en el período neonatal; en los animales privados de calostro, la mortalidad causada por rotavirus puede ser muy elevada (10, 49, 50). En los seres humanos, la frecuencia de la diarrea causada por rotavirus es menor en los primeros seis meses de vida. Los lactantes y los niños de 6 a 24 meses suelen contraer una enfermedad más grave, caracterizada por una diarrea muy acuosa que se presenta súbitamente. También puede haber fiebre, vómitos, deshidratación isotónica y acidosis metabólica compensada (14, 51). Es común la infección —generalmente leve o asintomática— de los hermanos mayores y los adultos que están en contacto con los niños infectados por rotavirus (52, 53).

Cabe destacar la infección por rotavirus de los niños recién nacidos. En grandes hospitales de Gran Bretaña y Australia se



han producido casos de infección durante la primera o segunda semana de vida, observándose casos frecuentes de excretores asintomáticos, o neonatos con síntomas de infección intestinal leve, fenómenos que pueden persistir de manera endémica (54, 55). Se puede afirmar casi con certeza que esa clase de infección se contrae en los hospitales, y hace poco se han aislado los serotipos 3 y 4, que son menos comunes, en esos neonatos (43). Por el contrario, en las unidades de atención especial de los recién nacidos en India, Costa Rica, Italia, Gran Bretaña y Estados Unidos se han notificado brotes de diarrea de gravedad variable (56-60). Las sales para recién nacidos en los hospitales son ideales para la difusión de rotavirus porque: 1) albergan una cantidad siempre renovada de susceptibles en los cuales es posible que ciertas funciones inmunes estén reducidas por inmadurez y 2) una vez introducidos, los rotavirus son difíciles de erradicar debido a su gran concentración, estabilidad y resistencia a los desinfectantes. Es de interés señalar que las infecciones por rotavirus son poco frecuentes entre los neonatos de los aborígenes australianos y los indígenas mayas de Guatemala en su medio natural (8, 61).

A veces, en poblaciones no inmunes, los rotavirus son la causa de grandes epidemias que afectan a todos los grupos de edad, como ocurrió en una comunidad de un archipiélago aislado del Pacífico (62) y en una aldea indígena aislada del norte de Brasil (63). Además, se han notificado brotes esporádicos de diarrea grave causada por rotavirus en adultos y pacientes de geriatría hospitalizados (64, 65). En esos adultos, la gastroenteritis puede ser un signo de disminución de la inmunidad.

Los rotavirus están distribuidos en todo el mundo. Su dispersión general se ha comprobado por medio de investigaciones seroepidemiológicas. En general, la concentración de anticuerpos en el suero de los neonatos refleja la transferencia de IgG

materna a través de la placenta. Los títulos disminuyen a los 4 ó 6 meses, y después aumentan constantemente como consecuencia de las infecciones sintomáticas y asintomáticas que se producen durante la infancia y la niñez así como en la edad adulta por exposición de los padres a los rotavirus de sus hijos (52).

El número de anticuerpos disminuye en las personas de más de 40 años (66). Es probable que los adultos sean reservorios de la infección y que los rotavirus circulen en la comunidad sin producir síntomas, quizá produciendo una excreción de antígenos tan pequeña que no sea posible detectarlos. Sin embargo, los principales propagadores del virus son los niños con diarrea.

En los países industrializados de clima templado, los rotavirus son la causa del 50 al 70% de los casos pediátricos de diarrea que requieren atención médica. La máxima incidencia se produce en el invierno. En general, esos períodos de máxima incidencia no coinciden con los de los casos de diarrea causada por bacterias (14, 52, 67). En las zonas templadas, rara vez se detectan rotavirus durante los meses de verano. Por el contrario, en los países en desarrollo de clima tropical, la frecuencia oscila entre el 40 y el 50% de los casos durante los meses de máxima incidencia, que generalmente son los más fríos, pero los rotavirus siguen siendo endémicos (entre el 10 y el 20% de los casos) durante el resto del año (5, 68). Es probable que los rotavirus no sean tan frecuentes en los países en desarrollo donde la causa principal de las enfermedades diarreicas son los agentes bacterianos y parasitarios (7, 8).

Se dispone de muy poca información sobre las tasas reales de prevalencia e incidencia de las infecciones por rotavirus. En los países en desarrollo, los niños generalmente contraen diarreas (de todas las etiologías) de 2 a 8 veces al año, correspondiendo, en parte, a la intensidad de la vigilancia (8, 69, 70). En los países desa-

rollados, los niños por lo general sufren un solo episodio de diarrea al año (71). Las tasas correspondientes a los rotavirus oscilan entre 0,3 y 0,8 episodios por cada niño al año (7, 8, 71). En el cuadro 1 se presentan datos sobre 544 millones de niños de 0 a 4 años en 1980. Es probable que las cifras sean menores en las regiones más desarrolladas, como América del Norte, Europa, la Unión Soviética, Japón, Australia y Nueva Zelanda.

En un estudio reciente de una cohorte de 51 niños en una zona rural de Costa Rica se observaron tasas mucho menores de incidencia de diarrea causada por rotavirus y por otros agentes (72) (cuadro 2). Fue sorprendente descubrir el bajo grado de patogenicidad de las infecciones por rotavirus en la cohorte de Costa Rica donde solo 5 de 39 infecciones (el 12,8%) resultaron en enfermedad diarreica. La combinación de la lactancia natural prolongada y la exposición a una concentra-

ción menor de agentes infecciosos en un medio rural con buenas prácticas de higiene podría explicar la baja incidencia y patogenicidad de las infecciones por rotavirus en esa cohorte.

#### *Métodos de control y prevención de las enfermedades diarreicas*

En condiciones experimentales se ha demostrado que los anticuerpos presentes en los intestinos confieren inmunidad contra los rotavirus. En los animales la infección y la diarrea por rotavirus pueden evitarse mediante la ingestión de preparaciones ricas en anticuerpos contra rotavirus (49, 50, 73). La inoculación de rotavirus por vía parenteral de vacas paridas aumentó y prolongó la secreción de anticuerpos IgG<sub>1</sub> en la leche durante un plazo de hasta 28 días. Aunque esos anticuerpos aplazaron la infección por rotavirus en los

**CUADRO 1—Prevalencia de diarreas y diarrea por rotavirus en niños de 0 a 4 años de diversas regiones, 1980.\***

Regiones	Niños de 0 a 4 años	Episodios de diarrea <sup>b,c</sup>	Episodios de diarrea causada por rotavirus <sup>b,c</sup>
<i>Más desarrolladas</i>	86	86	26
Europa	33	33	10
Unión Soviética	23	23	7
América del Norte	20	20	6
Japón/Australia/ Nueva Zelanda	10	10	3
<i>Menos desarrolladas</i>	458	916-3664	138-367
Asia meridional	212	424-1696	64-170
Asia oriental/Oceanía (a excepción de Japón, Australia y Nueva Zelanda)	106	212-848	32-85
África	87	174-696	26-70
América Latina	53	106-424	16-42
<i>Total</i>	544	1002-3750	164-393

\* Estimada en millones, Naciones Unidas, 1982.

<sup>b</sup> Por cada niño al año, en los países más desarrollados se produce un episodio de diarrea y 0,3 de diarrea por rotavirus (ref. 71).

<sup>c</sup> Por cada niño al año, en los países menos desarrollados se producen de dos a ocho episodios de diarrea y de 0,3 a 0,8 de diarrea por rotavirus (refs. 6, 8, 70).

**CUADRO 2—Incidencia de diarreas y de diarrea por rotavirus en diversos ecosistemas.<sup>a</sup>**

Localidad	Todas las diarreas	Diarrea por rotavirus	Proporción de diarrea por rotavirus (%)	Patogenicidad de los rotavirus (%)
Cauqué, Guatemala, 1964-1969 N = 132,5 <sup>b</sup>	1050 (7,9) <sup>c</sup>	109 (0,8)	10,4	65,7 <sup>d</sup>
Winnipeg, Canadá, 1976-1979 N = 139	165 (1,2)	40 (0,3)	24,2	80,0
Metlab, Bangladesh, 1978-1979 N = 120	727 (6,1)	34 (0,3)	4,7	—
Puriscal, Costa Rica, 1981-1984 N = 70,7	44 (0,6)	5 (0,1)	11,4	12,8

<sup>a</sup> Adaptado de las referencias 7, 8 y 71.

<sup>b</sup> Niño-años observados.

<sup>c</sup> Número de episodios (tasa de incidencia por niño-año).

<sup>d</sup> Proporción de diarreas por rotavirus en relación con las infecciones por rotavirus (sintomáticas y asintomáticas) x 100 (no se incluyen los datos).

terneros lactantes, no evitaron la enfermedad (74). Según los investigadores, la fuerte dosis inoculada superó el efecto protector de la leche. El mismo grupo llevó a cabo un experimento similar con ovejas y sus crías como modelos de rumiantes. Esa vez, la dosis de virus inoculada fue 4 log menor, y protegió a los corderos (75). Hace poco se evitó la diarrea causada por rotavirus en los neonatos hospitalizados que permanecían en una unidad de atención especial para recién nacidos por medio de la administración oral de IgG (76).

Actualmente se considera la posibilidad de inmunizar a mujeres gestantes por vía oral o parenteral para reforzar los títulos de anticuerpos en la leche y evitar las infecciones y la diarrea causadas por rotavirus en lactantes, especialmente en los países en desarrollo. En Gran Bretaña se

notificó el caso de una madre lactante en cuya leche no se detectaron anticuerpos. El niño contrajo diarrea causada por rotavirus a las 43 semanas, pero 9 días después del episodio, se observó un aumento considerable de la IgA específica contra rotavirus en la leche de la madre e IgG específica en el suero (77).

Es preciso determinar la edad óptima para la administración de una vacuna contra los rotavirus. Se ha propuesto la vacunación durante las primeras semanas de vida. Existen indicios no confirmados de que los niños que contraen infecciones por rotavirus durante el período neonatal tienen menos posibilidades de contraer enfermedades diarreicas en caso de reinfecciones ulteriores (78). La estrategia de la vacunación neonatal es prometedora, a juzgar por los estudios realizados con terneros vacunados *in utero* con una cepa

bovina y luego inoculados al nacer con un rotavirus humano. La protección fue mayor en los terneros vacunados que en el grupo testigo (79). Sin embargo, antes de recomendar la vacunación neonatal hay que tener en cuenta otros factores como el desarrollo y la persistencia de la respuesta inmunitaria y el efecto de la lactancia natural.

Es necesario encontrar una cepa adecuada para la vacuna. Todavía no es posible cultivar en altos títulos los rotavirus humanos, y la replicación eficaz en los histocultivos se logra solo después del pasaje repetido de especímenes fecales con un gran número de partículas. Se necesita un nuevo adelanto en el método de cultivo de rotavirus humanos a fin de desarrollar cepas atenuadas para que las compañías productoras de vacunas puedan disponer de grandes cantidades de virus atenuados, necesarias para las campañas de vacunación en masa que se han propuesto. Es posible evitar esos problemas usando un rotavirus heterólogo que proporcione una protección cruzada contra la infección por rotavirus humano. En Finlandia hace poco se realizaron pruebas de la inmunogenicidad e inocuidad de la vacuna oral de la cepa RIT 4237 de rotavirus bovino vivo en 20 adultos y 20 niños (80). Una dosis produjo seroconversión homóloga en el 70% de los casos seronegativos y respuesta de refuerzo en el 25% de los niños seropositivos. En el suero de 3 niños se comprobó la presencia de anticuerpos neutralizadores heterólogos del rotavirus humano. Los resultados de esta primera prueba de la vacuna son alentadores, ya que se comprobó la inmunogenicidad de la cepa bovina administrada por vía oral y la ausencia de reacciones intestinales o funcionales.

Es preciso investigar nuevos métodos de vacunación. Hace poco se realizó el clonaje molecular de genes de rotavirus (81, 82). Es posible que dentro de poco tiempo se logre el clonaje de genes o se-

cuencias que codifiquen para polipéptidos que, a su vez, induzcan la aparición de anticuerpos neutralizadores. También es posible que con la tecnología de recombinación del ADN se obtenga un toxoide colérico/LT/ST que pueda combinarse con una vacuna preparada con una subunidad de rotavirus, administrada oralmente. Si esa vacuna no produce una concentración satisfactoria de anticuerpos en los intestinos, se podrían producir cepas con modificaciones genéticas que no tengan las secuencias causantes de la virulencia. Sin embargo, hay que destacar también la importancia molecular y epidemiológica de los "pararotavirus" descubiertos recientemente (83, 84).

### Conclusiones

La incidencia de la diarrea causada por rotavirus es mayor en los países en desarrollo, y es en esos países donde más se necesita una vacuna contra los rotavirus. Debe hacerse hincapié en la experiencia adquirida con la administración de las vacunas antipoliomielítica y antisarampionosa de virus vivo atenuado. Es evidente que, en los países desarrollados, esas vacunas son muy eficaces para la prevención de las enfermedades siempre que se cumplan los esquemas de vacunación y se logre una amplia cobertura de la población expuesta. Sin embargo, en algunos países existen "brechas inmunitarias", debidas en gran medida a los problemas administrativos que acompañan las campañas de vacunación en gran escala y a otros problemas logísticos como el mantenimiento de la cadena de frío. No obstante, los países en desarrollo deben esforzarse por reducir todas las formas de diarrea de origen infeccioso. Eso se puede lograr con un enfoque integral, o sea, con medidas lógicas cuya finalidad sea: 1) la prestación de servicios de atención primaria de salud a todos los sectores de la



población, especialmente los pobres y los necesitados; 2) prestación de servicios de abastecimiento de agua potable y evacuación de desechos y excretas; y 3) la transferencia de tecnologías educativas y de cuidado maternoinfantil, como el fomento de la lactancia natural, la rehidratación oral en el hogar, etc. Los programas de salud, educación y bienestar son de fundamental importancia y deben constituir prioridades para esos países.

### Resumen

Los rotavirus son una de las causas principales de morbilidad y mortalidad por diarrea entre lactantes y niños de corta edad en todas partes del mundo, especialmente en los países menos desarrollados. Esos microorganismos se replican en el epitelio veloso del intestino delgado ocasionando diarrea por denudación, atrofia del vello y disminución de la capacidad de absorción de los enterocitos. Constituyen un género separado dentro de la familia de los Reoviridae y se cree que su evolución es consecuencia de cambios acumulativos provocados por desviación, transposición e intercambio de segmentos del ARN. Su descubrimiento fue tardío debido a sus exigencias en cuanto al medio y sistemas de cultivo, lo cual dificultó también su desarrollo en condiciones experimentales. La utilización de tripsina como mediador de la ruptura del polipéptido exterior de la cápside facilitó el cultivo de cepas humanas mediante pasajes preliminares en lechones y, subsecuentemente, histocultivos continuos en riñón de mono. Este método permitió cultivar cepas humanas de tipo silvestre. Las cepas humanas de rotavirus se han clasificado en cuatro serotipos y dos subgrupos con la ayuda de técnicas como la fijación del complemento, la hemaglutinación por inmunoadherencia y la inmunoadsorción enzimática (ELISA). La electroforesis en

gel policrilamídico además posibilita la tipificación de cepas prevalentes en una comunidad o medio especial durante un período determinado, permitiendo la identificación a primera vista del subgrupo antigénico por la pauta de migración de los segmentos de ARN. Entre los métodos de inmunoensayo para la detección del antígeno y anticuerpo del rotavirus, actualmente se prefieren el ELISA y el radioinmunoensayo de fase sólida (RIA), que son sensibles y fáciles. Recientemente, el nuevo procedimiento de neutralización por reducción de placas ha simplificado la evaluación de los anticuerpos neutralizadores de determinados serotipos.

Los principales propagadores del virus son los niños con diarrea, que frecuentemente transmiten una infección leve o asintomática a sus contactos. Aunque la susceptibilidad del hombre, a diferencia de los otros mamíferos, es menor en los primeros seis meses de vida, en grandes hospitales se han observado casos frecuentes de neonatos con infección asintomática, en tanto que en algunos países se han notificado brotes de diarrea grave. Las salas de hospital son ideales para la dispersión del virus, por la reducida inmunidad de los recién nacidos y la alta concentración, estabilidad y resistencia del virus. En poblaciones no inmunes, este ha sido la causa de grandes epidemias en todos los grupos de edad y se han notificado brotes esporádicos entre adultos y ancianos hospitalizados. Sin embargo, hay poca información sobre las verdaderas tasas de prevalencia e incidencia de las infecciones por rotavirus. La máxima incidencia se produce en los meses más fríos tanto en los climas templados como en los tropicales. Las infecciones son menos frecuentes o de menor patogenicidad en medios rurales higiénicos donde la lactancia natural es prolongada. Como resultado de experimentos en animales, actualmente se contempla la inmunización

de mujeres gestantes para reforzar los títulos de anticuerpos en la leche. Las posibilidades de vacunación empiezan a perfilarse como prometedoras, pero quedan varios problemas pertinentes que resolver. Hace falta determinar la edad óptima para la vacunación y todavía no se ha encontrado la cepa adecuada para la vacuna ni un método que produzca cepas humanas en cantidades suficientes para

vacunación en masa. En Finlandia se ha empezado a estudiar la preparación de una vacuna oral a base de un rotavirus heterólogo bovino, que ha dado resultados alentadores. El clonaje molecular reciente de genes de rotavirus es otra posibilidad para la producción de una cepa adecuada para la vacuna, que es una creciente necesidad, especialmente para los países en desarrollo. ■

## REFERENCIAS

- Gordon, I. The nonamebic nonbacillary diarrheal disorders. *Am J Trop Med Hyg* 4:739-755, 1955.
- Ramos-Alvarez, M. Cytopathogenic enteric viruses associated with undifferentiated diarrheal syndrome in early childhood. *Ann NY Acad Sci* 67:326-331, 1956.
- Kjellen, L., Zetterberg, A. y Svedmyr, A. An epidemic among Swedish children caused by adenovirus type 3. *Acta Paediatr* 46:561-568, 1957.
- Stoll, B. J., Glass, R. I., Huq, M. I., Khan, M. U., Holt, J. E. y Banu, H. Surveillance of patients attending a diarrheal disease hospital in Bangladesh. *Br Med J* 285:1185-1188, 1982.
- Mata, L., Simhon, A., Padilla, R., Gamboa, M. M., Vargas, G., Hernández, F., Mohs, E. y Lizano, C. Diarrhea associated with rotaviruses, enterotoxigenic *Escherichia coli*, *Campylobacter* and other agents in Costa Rican children, 1976-1981. *Am J Trop Med Hyg* 32:146-153, 1983.
- Black, R. E., Brown, K. H., Becker, S., Alim, A. R. M. A. y Huq, I. Longitudinal studies of infectious diseases and physical growth in rural Bangladesh. II. Incidence of diarrhea and association with known pathogens. *Am J Epidemiol* 115:315-324, 1982.
- Mata, L., Bolaños, H., Pizarro, P. y Vives, M. Cryptosporidiosis in children from some highland Costa Rican rural and urban areas. *Am J Trop Med Hyg* 33:24-29, 1984.
- Mata, L., Simhon, A., Urrutia, J. J., Kronmal, R. A., Fernández, R. y García, B. Epidemiology of rotaviruses in a cohort of 45 Guatemalan Mayan Indian children observed from birth to the age of three years. *J Infect Dis* 148:452-461.
- Kraft, L. M. Observations on the control and natural history of epidemic diarrhea of infant mice (EDIM). *Yale J Biol Med* 31:121-137, 1958.
- Mebus, C. A., Underdahl, N. R., Rhodes, M. B. y Twiehaus, M. J. Calf diarrhea (scours): reproduced with a virus from a field outbreak. *Univ Nebraska Agric Exp Stat Res Bull* 233:1-16, 1969.
- Kapikian, A. Z., Yolken, R. H., Greenberg, H. B., Wyatt, R. G., Kalica, A. R., Chanock, R. M. y Kim, H. W. Gastroenteritis viruses. In: Lennette, E. H. y Schmidt, N. J., eds. *Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial, and Chlamydial Infections*. Washington, D.C., American Public Health Association, 1979. pp. 927-995.
- Bishop, R. F., Davidson, G. P., Holmes, I. H. y Ruck, B. J. Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute non-bacterial gastroenteritis. *Lancet* 2:1281-1283, 1973.
- Flewett, T. H., Bryden, A. S. y Davies, H. Virus particles in gastroenteritis. *Lancet* 2:1497, 1973.
- Middleton, P. J., Szymanski, M. T., Abbott, G. D., Bortolussi, R. y Hamilton, J. R. Orbivirus acute gastroenteritis of infancy. *Lancet* 1:1241-1244, 1974.
- Organización Mundial de la Salud. Rotavirus and other viral diarrhoeas. Report of a subgroup of the scientific working group on epidemiology and etiology. *Bull WHO* 58:183-198, 1980.
- Welch, A. B. y Thompson, T. L. Physicochemical characterization of a neonatal calf diarrhea virus. *Can J Comp Med* 37:295-301, 1973.
- Palmer, E. L., Martin, M. L. y Murphy, F.

- A. Morphology and stability of infantile gastroenteritis virus: comparison with reovirus and blue tongue virus. *J Gen Virol* 35:403-414, 1977.
18. Tan, J. A. y Schnagl, R. D. Inactivation of rotaviruses by disinfectants. *Med J Aust* 1:19-22, 1981.
  19. Holmes, I. H., Ruck, B. J., Bishop, R. F. y Davidson, G. P. Infantile enteritis viruses: morphogenesis and morphology. *J Virol* 16:937-943, 1975.
  20. Esparza, J., Gorziglia, M., Gil, F. y Romero, H. Multiplication of human rotavirus in cultured cells: an electron microscopic study. *J Gen Virol* 47:461-472, 1980.
  21. Estes, M. K., Graham, D. Y., Gerba, C. P. y Smith, E. M. Simian rotavirus SA11 replication in cell cultures. *J Virol* 31:810-815, 1979.
  22. Mason, B. B., Graham, D. Y. y Estes, M. K. In vitro transcription and translation of simian rotavirus SA11 gene products. *J Virol* 33:1111-1121, 1980.
  23. Carpio, M. M., Babiuk, L. A., Misra, V. y Blumenthal, R. M. Bovine rotavirus-cell interactions: effect of virus infection on cellular integrity and macromolecular synthesis. *Virology* 114:86-97, 1981.
  24. Mebus, C. A., Stair, E. L., Underdahl, N. R. y Twiehaus, M. J. Pathology of neonatal calf diarrhea induced by a reo-like agent. *Vet Pathol* 8:490-505, 1971.
  25. Mebus, C. A. y Newman, L. E. Scanning electron, light, and immunofluorescent microscopy of gnotobiotic calf infected with reovirus-like agent. *Am J Vet Res* 38:553-558, 1977.
  26. Davidson, G. P. y Barnes, G. L. Structural and functional abnormalities of the small intestine in infants and young children with rotavirus enteritis. *Acta Paediatr Scand* 68:181-186, 1979.
  27. Nalin, D. R., Levine, M. M., Mata, L., de Céspedes, C., Vargas, W., Lizano, C., Lorfa, A. R., Simhon, A. y Mohs, E. Comparison of sucrose with glucose in oral therapy of infant diarrhoea. *Lancet* 2:277-279, 1978.
  28. Sack, D. A., Chowdhury, A. M. A. K., Eusof, A., Ali, M. A., Merson, M. H., Islam, S., Black, R. E. y Brown, K. H. Oral rehydration in rotavirus diarrhoea: a double blind comparison of sucrose with glucose electrolyte solution. *Lancet* 2:280-283, 1978.
  29. Pizarro, D., Posada, G., Mata, L., Nalin, D. R. y Mohs, E. Oral rehydration of neonates with dehydrating diarrhoeas. *Lancet* 2:1209-1210, 1979.
  30. Greenberg, H. B., Kalica, A. R., Wyatt, R. G., Jones, R. W., Kapikian, A. Z. y Chanock, R. M. Rescue of non-cultivable human rotavirus during mixed infection with *ts* mutants of a cultivatable bovine rotavirus. *Proc Nat Acad Sci USA* 78:420-424, 1981.
  31. Street, J. E., Croxson, M. C., Chadderton, W. F. y Bellamy, A. R. Sequence diversity of human rotavirus strains investigated by northern blot hybridization analysis. *J Virol* 43:369-378, 1982.
  32. Schroeder, B. A., Street, J. E., Kalmakoff, J. y Bellamy, A. R. Sequence relationships between the genome segments of human and animal rotavirus strains. *J Virol* 43:379-385, 1982.
  33. Babiuk, L. A., Mohammed, K., Spence, L., Fauvel, M. y Petro, R. Rotavirus isolation and cultivation in the presence of trypsin. *J Clin Microbiol* 6:610-617, 1977.
  34. Almeida, J. D., Banatvala, J. E., Totterdell, B. M. y Chrystie, I. L. The effect of trypsin on the growth of rotavirus. *J Gen Virol* 40:213-218, 1978.
  35. Espejo, R. T., López, S. y Arias, C. Structural polypeptides of simian rotavirus SA11 and the effect of trypsin. *J Virol* 37:156-160, 1981.
  36. Estes, M. K., Graham, D. Y. y Mason, B. B. Proteolytic enhancement of rotavirus infectivity: molecular mechanisms. *J Virol* 39:879-888, 1981.
  37. Wyatt, R. G., James, W. D., Bohl, E. H., Theil, K. W., Saif, L. J., Kalica, A. R., Greenberg, H. B., Kapikian, A. Z. y Chanock, R. M. Human rotavirus type 2: cultivation *in vitro*. *Science* 207:189-191, 1980.
  38. Sato, K., Inaba, Y., Shinosaki, T., Fujii, R. y Mutumoto, M. Isolation of human rotavirus in cell cultures. *Arch Virol* 69:155-160, 1981.
  39. Urasawa, T., Urasawa, S. y Taniguchi, K. Sequential passages of human rotavirus in MA-104 cells. *Microbiol Immunol* 25:1025-1035, 1981.
  40. Yolken, R. H., Wyatt, R. G., Zissis, G., Brandt, C. D., Rodriguez, W. J., Kim, H. W., Parrott, R. H., Urrutia, J. J., Mata, L., Greenberg, H. B., Kapikian, A. Z. y Chanock, R. M. Epidemiology of human rotavirus types 1 and 2 as studied by enzyme-linked immunosorbent assay. *N Engl J Med* 299:1156-1161, 1978.
  41. Beards, G. M., Pilford, J. N., Thouless, M. E. y Flewett, T. H. Rotavirus serotypes by serum neutralisation. *J Med Virol* 5:231-237, 1980.
  42. Thouless, M. E., Bryden, A. S. y Flewett, T. H. Serotyping and subgrouping of rotavirus strains by the ELISA test. *Arch Virol* 73:219-230, 1982.
  43. Wyatt, R. G., James, H. D., Pittman, A. L., Hoshino, Y., Greenberg, H. B., Kalica, A. R., Flores, J. y Kapikian, A. Z. Direct isola-

- tion in cell culture of human rotaviruses and their characterization into four serotypes. *J Clin Microbiol* 18:310-317, 1983.
44. Kapikian, A. Z., Cline, W. L., Greenberg, H. B., Wyatt, R. G., Kalica, A. R., Banks, C. E., James, H. D., Flores, J. y Chanock, R. M. Antigenic characterization of human and animal rotaviruses by immune adherence hemagglutination assay (IAHA): evidence for distinctness of IAHA and neutralization antigens. *Infect Immun* 33:415-425, 1981.
  45. Espejo, R. T., Calderón, E., González, N., Salomon, A., Martuscelli, A. y Romero, P. Presence of two distinct types of rotavirus in infants and young children hospitalized with acute gastroenteritis in Mexico City, 1977. *J Infect Dis* 139:474-477, 1979.
  46. Rodger, S. M., Bishop, R. F., Birch, C., McLean, B. y Holmes, I. H. Molecular epidemiology of rotaviruses in Melbourne, Australia, from 1973-1979 as determined by electrophoresis of genome ribonucleic acid. *J Clin Microbiol* 13:272-278, 1981.
  47. Kalica, A. R., Greenberg, H. B., Espejo, R. T., Flores, J., Wyatt, R. G., Kapikian, A. Z. y Chanock, R. M. Distinctive ribonucleic acid patterns of human rotavirus subgroups 1 and 2. *Infect Immun* 33:958-961, 1981.
  48. Brandt, C. D., Kim, H. W., Yolken, R. H., Kapikian, A. Z., Arrobio, J. O., Rodriguez, W. J., Wyatt, R. G. y Chanock, R. M. Comparative epidemiology of two rotavirus serotypes and other viral agents associated with pediatric gastroenteritis. *Am J Epidemiol* 110:243-254, 1979.
  49. Bridger, J. C. y Woode, G. N. Neonatal calf diarrhoea: identification of a reovirus-like (rotavirus) agent in faeces by immunofluorescence and immune electron microscopy. *Br Vet J* 131:528-535, 1975.
  50. Leece, J. G., King, M. W. y Mock, R. Reovirus-like agent associated with fatal diarrhea in neonatal pigs. *Infect Immun* 14:816-825, 1976.
  51. Bryden, A. S., Davies, H. A., Hadley, R. E., Flewett, T. H., Morris, C. A. y Oliver, P. Rotavirus enteritis in the West Midlands during 1974. *Lancet* 2:241-243, 1974.
  52. Kapikian, A. Z., Kim, H. W., Wyatt, R. G., Cline, W. L., Arrobio, J. O., Brandt, C. D., Rodriguez, W. J., Sack, D. A. y Chanock, R. M. Human reovirus-like agent as the major pathogen associated with "winter" gastroenteritis in hospitalized infants and young children. *N Engl J Med* 294:965-972, 1976.
  53. Wenman, W. M., Hinde, D., Feltham, S. y Gurwith, M. Rotavirus infection in adults. Results of a prospective family study. *N Engl J Med* 301:303-306, 1979.
  54. Chrystie, I. L., Totterdell, B. M. y Banatvala, J. E. Asymptomatic endemic rotavirus infections in the newborn. *Lancet* 1:1176-1178, 1978.
  55. Cameron, D. J. S., Bishop, R. F., Veenstra, A. A. y Barnes, G. L. Noncultivable viruses and neonatal diarrhea: fifteen-month survey in a newborn special care nursery. *J Clin Microbiol* 8:93-98, 1978.
  56. Jessudoss, E. S., John, T. J., Maiya, P. P., Jadhav, M. y Spence, L. Prevalence of rotavirus infection in neonates. *Indian J Med Res* 70:863-867, 1979.
  57. Odio, C., Hernández, F., Ruiz, M. A., Padilla, R. y Mohs, E. Rotavirus en un servicio de neonatología. Descripción de una epidemia. *Rev Med Hosp Nac Niños (Costa Rica)* 2:159-172, 1980.
  58. Rocchi, G., Vella, S., Resta, S., Cochi, S., Donelli, G., Tangucci, F., Menichella, D., Varveri, A. e Inglese, R. Outbreak of rotavirus gastroenteritis among premature infants. *Br Med J* 283:886, 1981.
  59. Bryden, A. S., Thouless, M. E., Hall, C. J., Flewett, T. H., Wharton, B. A., Mathew, P. M. y Craig, I. Rotavirus infections in a special care baby unit. *J Infect* 4:43-48, 1982.
  60. Rodriguez, W. J., Kim, H. W., Brandt, C. D., Fletcher, A. B. y Parrott, R. H. Rotavirus: a cause of nosocomial infection in the nursery. *J Pediatr* 101:274-277, 1982.
  61. Schnagl, R. D., Morey, F. y Holmes, I. H. Rotavirus and coronavirus-like particles in Aboriginal and non-Aboriginal neonates in Kalgoorlie and Alice Springs. *Med J Aust* 2:178-179, 1979.
  62. Foster, S. O., Palmer, E. L., Gary, G. W., Jr., Martin, M. L., Herrman, K. L., Beasley, P. y Sampson, J. Gastroenteritis due to rotavirus in an isolated Pacific island group: an epidemic of 3,439 cases. *J Infect Dis* 141:32-39, 1980.
  63. Linhares, A. C., Pinheiro, F. P., Freitas, R. B., Gabbay, Y. B., Shirley, J. A. y Beards, G. M. An outbreak of rotavirus diarrhea among a nonimmune isolated South American Indian community. *Am J Epidemiol* 113:703-710, 1981.
  64. Cubbitt, W. D. y Holzel, H. An outbreak of rotavirus infection in a long stay ward of a geriatric hospital. *J Clin Pathol* 33:306-308, 1980.
  65. Hildreth, C., Thomas, M. y Ridgeway, G. L. Rotavirus infection in an obstetric hospital. *Br Med J* 282:231, 1981.
  66. Ghose, L. H., Schnagl, R. D. y Holmes, I. H.



- Comparison of an enzyme-linked immunosorbent assay for quantitation of rotavirus antibodies with complement fixation in an epidemiological survey. *J Clin Microbiol* 8:268-276, 1978.
67. Konno, T., Suzuki, H., Imai, A., Kutsuzawa, T., Ishida, N., Katsushima, N., Sakamoto, M., Kitoaka, S., Tsuboi, P. y Adachi, M. A long-term survey of rotavirus infection in Japanese children with acute gastroenteritis. *J Infect Dis* 138:569-576, 1978.
  68. Hieber, J. P., Shelton, S., Nelson, J. D., Leon, J. y Mohs, E. Comparison of human rotavirus disease in tropical and temperate settings. *Am J Dis Child* 132:853-858, 1978.
  69. Mata, L. J. y Urrutia, J. J. Infections and infectious diseases in a malnourished population: a long-term prospective field study. In: Hambræus, L., Hanson, L. A. y McFarlane, H., eds. *Food and Immunology, XIII Symposium of the Swedish Nutritional Society*. Estocolmo, Almqvist and Wiksell, 1977. pp. 42-57.
  70. Barua, D. Diarrhea as a global problem and the WHO programme for its control. In: Holme, T., Holmgren, J. y Molby, R., eds. *Acute Infections in Children. New Prospects for Treatment and Prevention*. Amsterdam, Elsevier/North Holland, 1981. pp. 1-6.
  71. Gurwith, M., Wenman, W., Hinde, D., Feltham, S. y Greenberg, H. A prospective study of rotavirus infection in infants and young children. *J Infect Dis* 144:218-224, 1981.
  72. Simhon, A. y Mata, L. Low incidence of diarrheal disease and rotaviruses, adenoviruses, coronavirus-like particles and small round enteric viruses in rural Costa Rican children. En: Mata, L., ed. *Simposio sobre el Control y Erradicación de las Enfermedades Infecciosas*. Washington, D.C., Organización Panamericana de la Salud. (En prensa.)
  73. Snodgrass, D. R. y Wells, P. W. Passive immunity in rotavirus infections. *J Am Vet Med Assoc* 173:565-568, 1978.
  74. Snodgrass, D. R., Fahey, K. J., Wells, P. W., Campbell, I. y Whitelaw, A. Passive immunity in calf rotavirus infections: maternal vaccination prolongs immunoglobulin G<sub>1</sub> antibody secretion in milk. *Infect Immun* 28:344-349, 1980.
  75. Fahey, K. J., Snodgrass, D. R., Campbell, I., Dawson, A. McL. y Burrells, C. IgG<sub>1</sub> antibody in milk protects lambs against rotavirus diarrhea. *Vet Immunol Immunopathol* 2:27-33, 1981.
  76. Barnes, G. L., Doyle, L. W., Hewson, P. H., Knoches, A. M. L., McLellan, J. A., Kitchen, W. H. y Bishop, R. F. A randomised trial of oral gammaglobulin in low-birth-weight infants infected with rotavirus. *Lancet* 1:1371-1373, 1982.
  77. Totterdell, B. M., Chrystie, I. L. y Banatvala, J. E. Cord blood and breast milk antibodies in neonatal rotavirus infection. *Br Med J* 285:828-830, 1980.
  78. Bishop, R. F., Barnes, G. L., Cipriani, E. y Lund, J. S. Clinical immunity after neonatal rotavirus infection: a prospective longitudinal study in young children. *N Engl J Med* 309:72-76, 1983.
  79. Wyatt, R. G., Mebus, C. A., Yolken, R. H., Kalica, A. R., James, H. D., Jr., Kapikian, A. Z. y Chanock, R. M. Rotaviral immunity in gnotobiotic calves: heterologous resistance to human virus induced by bovine virus. *Science* 203:548-550, 1979.
  80. Vesikari, T., Isolauri, E., Delem, A., D'Hont, E., Andre, F. E. y Zissis, G. Immunogenicity and safety of live oral attenuated bovine rotavirus vaccine strain RIT4237 in adults and young children. *Lancet* 2:807-811, 1983.
  81. Imai, M., Richardson, M. A., Ikegami, N., Shatkin, A. J. y Furuchi, Y. Molecular cloning of double standard RNA virus genomes. *Proc Nat Acad Sci USA* 80:373-377, 1983.
  82. Gorziglia, M., Cashdollar, L. W., Hudson, G. R. y Esparza, J. Molecular cloning of human rotavirus genome. *J Gen Virol* 64:2585-2595, 1983.
  83. Rodger, S. M., Bishop, R. F. y Holmes, I. H. Detection of a rotavirus-like agent associated with diarrhea in an infant. *J Clin Microbiol* 16:724-726, 1982.
  84. Pedley, S., Bridger, J. C., Brown, J. F. y McCrae, M. A. Molecular characterization of rotaviruses with distinct group antigens. *J Gen Virol* 64:2093-2101, 1983.

### Virology of rotaviruses and epidemiology of rotavirus diarrhea (Summary)

Rotaviruses are a leading cause of morbidity and mortality from diarrhea among breast-

feeding infants and children of tender age everywhere in the world, and particularly in

the less developed countries. These microorganisms replicate in the villose epithelium of the small intestine and cause diarrhea by denudation, atrophy of the villi and impairment of the absorptive capacity of the enterocytes. They constitute a separate genus in the family of the Reoviridae, and are believed to have evolved through cumulative "drift" and "shift" changes as well as exchange of segments of the RNA. They were discovered late because of their requirements of culture systems and media, which also made it difficult to develop them in experimental conditions. The use of trypsin to mediate the rupture of the outer capsid polypeptide facilitated the culture of human strains by prior passage through piglets and subsequently by continuous histoculture in monkey kidney. This procedure yielded sylvatic human strains. The human strains of rotavirus have been classified in four serotypes and two subgroups by such techniques as complement fixation, immune adherence hemagglutination, and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Electrophoresis in polyacrylamide gel also permits the typing of strains prevalent in a community or particular environment over a given period of time, and affords immediate identification of the antigenic subgroup by the pattern of RNA segment migration. The immunoassay methods currently preferred for detection of the rotavirus antigen and antibody are ELISA and the solid-phase radioimmunoassay (RIA) procedures, which are sensitive and straightforward. The evaluation of neutralizing antibodies in certain serotypes has recently been simplified by the new neutralization procedure by plaque reduction.

The principal propagators of the virus are children with diarrhea, who frequently trans-

mit a mild or asymptomatic infection to their contacts. Although human susceptibility, unlike that of other mammals, is lower in the first six months of life, neonates with asymptomatic infection have been frequently seen in large hospitals, and in some countries severe diarrhea outbreaks have been reported. Hospital wards are ideal environments for the spread of the virus because of the low immunity of newborns and the high concentration, stability and resistance of the virus. In nonimmune populations this has been the cause of major epidemics in all age groups, and sporadic outbreaks have been reported among hospitalized adults and old people. However, there is little information on true rates of prevalence and incidence of rotavirus infections. Incidences peak in the colder months both in temperate and tropical climates. Infections are less frequent or less pathogenic in hygienic rural areas where breast-feeding is protracted. As a result of experiments in animals, the immunization of expectant mothers is currently under consideration to raise the antibody titer in their milk. The possibilities for vaccination are beginning to show promise, but several important problems remain. The optimal vaccinating age has to be determined and there has been as yet no success in discovering the right vaccine strain or a method for the production of human strain in quantities sufficient for mass vaccinations. In Finland studies have begun on the preparation of an oral vaccine based on a heterologous bovine rotavirus, which has given encouraging results. Recent molecular cloning of rotavirus genes is another possibility for the production of a suitable vaccine strain, which is a growing need particularly for developing countries.

### **Virologia dos rotavírus e epidemiologia da diarreia por rotavírus (Resumo)**

Os rotavírus são uma das principais causas de morbidade e mortalidade por diarreia entre lactantes e crianças pequenas em todas as partes do mundo, especialmente nos países menos desenvolvidos. Esses microrganismos se reproduzem no epitélio veloso do intestino delgado ocasionando diarreia por denudação,

atrofia do velo e diminuição da capacidade de absorção dos enterócitos. Constituem um gênero separado dentro da família dos Reoviridae e acredita-se que sua evolução é consequência de mudanças acumulativas provocadas por desvio, transposição e intercâmbio de segmentos de ARN. Seu descobrimento

foi tardio devido a suas exigências quanto ao meio e aos sistemas de cultura, o que também dificultou seu desenvolvimento em condições experimentais. A utilização de tripsina como mediador da ruptura do polipéptido exterior da cápside facilitou a cultura de cepas humanas mediante testes preliminares em leitões e histoculturas subsequentes contínuas em rins de macaco. Esse método permitiu cultivar cepas humanas de tipo silvestre. As cepas humanas de rotavírus foram classificadas em quatro serótipos e dois subgrupos com a ajuda de técnicas como a fixação do complemento, hemaglutinação por imuno-aderência e imuno-absorção enzimática (ELISA). A electroforesse em gel policrilamídico possibilita a tipificação de cepas prevalentes numa comunidade ou meio especial durante um período determinado, permitindo a identificação à primeira vista do subgrupo antígeno pelo padrão de migração dos segmentos de ARN. Entre os métodos de imunoteste para detecção do antígeno e anticorpo do rotavírus, atualmente prefere-se o ELISA e o radioimunoensaio de fase sólida (RIA), que são sensíveis e fáceis. Recentemente, o novo procedimento de neutralização por redução de placas simplificou a avaliação dos anticorpos neutralizadores de determinados serótipos.

Os principais propagadores do vírus são as crianças com diarreia, que freqüentemente transmitem uma infecção leve ou assintomática a seus contatos. Embora a suscetibilidade do homem, ao contrário dos outros mamíferos, seja menor nos primeiros seis meses de vida, em grandes hospitais observaram-se casos

freqüentes de recém-nascidos com infecção assintomática, e em alguns países notificaram-se surtos de diarreia grave. As salas de hospital são ideais para a dispersão do vírus, pela reduzida imunidade dos recém-nascidos e alta concentração, estabilidade e resistência do vírus. Em populações não imunes, tem sido a causa de grandes epidemias em todos os grupos de idade e notificaram-se surtos esporádicos entre adultos e anciãos hospitalizados. Todavia, há poucas informações sobre as verdadeiras taxas de prevalência e incidência das infecções por rotavírus. A máxima incidência ocorre nos meses mais frios tanto nos climas temperados como nos tropicais. As infecções são menos freqüentes ou de menor patogenicidade em meios rurais higiênicos onde a lactância natural é mais prolongada. Como resultado de experimentos em animais, atualmente considera-se a imunização de gestantes para reforçar os títulos de anticorpos no leite. As possibilidades de vacinação começam a parecer promissoras, mas falta resolver vários problemas pertinentes. Falta determinar a idade ótima para a vacinação e ainda não se encontrou a cepa adequada para a vacina nem um método que produza cepas humanas em quantidade suficiente para vacinação em massa. Na Finlândia começou-se a estudar a preparação de uma vacina oral à base de um rotavírus bovino, com resultados alentadores. A clonagem molecular recente de genes de rotavírus é outra possibilidade para a produção de uma cepa adequada para a vacina, que é uma crescente necessidade, especialmente para os países em desenvolvimento.

### **Virologie des rotavirus et épidémiologie de la diarrhée causée par rotavirus (Résumé)**

Les rotavirus sont l'une des causes principales de la morbidité et de la mortalité par diarrhée chez les enfants à la mamelle et les enfants en bas âge dans toutes les parties du monde, et en particulier dans les pays en développement. Ces micro-organismes se multiplient dans l'épithélium velu de l'intestin grêle, causant la diarrhée en dénudant et en atrophiant le duvet et en diminuant la capacité d'absorption des entérocytes. Ils constituent

un genre distinct dans la famille des Reoviridae et l'on pense que leur évolution est la conséquence de changements cumulés provoqués par déviation, transposition et échange de segments de l'ARN. Leur découverte a été tardive en raison des exigences du milieu et des systèmes de culture, qui a rendu difficile leur développement en condition expérimentale. L'utilisation de tripsine comme médiateur de la rupture du polypeptide extérieur

de la capsida a facilité la culture de souches humaines en passant par des essais préliminaires sur les cochons de lait, et subéquentment par des histocultures continues sur rein de singe. Cette méthode a permis de cultiver des souches humaines de type sylvestre. Les souches humaines de rotavirus ont été classées en quatre sérotypes et en deux sous-groupes avec l'aide de techniques telles que la fixation du complément, l'hémagglutination par immuno-adhérence et l'immuno-absorption enzymatique (ELISA). L'électrophorèse sur gel polycrilamidique permet en outre de définir les souches présentes dans une communauté ou dans un milieu particulier pendant une période déterminée, ce qui facilite l'identification à première vue du sous-groupe antigénique par la règle de migration des segments d'ARN. Parmi les méthodes d'immuno-essai par la détection de l'antigène et de l'anticorps du rotavirus, on préfère actuellement l'ELISA et le radio-immuno-essai de la phase solide (RIA), qui sont sensibles et faciles. Récemment, le nouveau procédé de neutralisation par réduction des plaques a simplifié l'évaluation des anticorps neutralisateurs de certains sérotypes.

Les principaux propagateurs du virus sont les enfants atteints de diarrhée, qui transmettent souvent une infection peu grave et asymptomatique à leur contacts. Bien que la susceptibilité de l'être humain, à la différence des autres mammifères, soit moins forte dans les six premiers mois de son existence, dans de grands hôpitaux, on a observé des cas fréquents de nouveau-nés atteints d'infection asymptomatique, au point que dans certains

pays, on a signalé des cas de diarrhée grave. Les salles d'hôpital sont un endroit idéal pour la propagation du virus, du fait de l'immunité réduite des nouveau-nés et de la forte concentration, stabilité et résistance du virus. Chez les populations non immunisées, cela a été la cause de graves épidémies dans tous les groupes d'âge, et l'on a signalé des irrptions sporadiques chez les adultes et les vieillards hospitalisés. Toutefois, on dispose de peu d'informations sur les taux véritables de prévalence et d'incidence des infections par rotavirus. L'incidence la plus forte se produit dans les mois les plus froids, tant dans les climats tempérés que dans les régions tropicales. Les infections sont moins fréquentes ou moins pathogènes en milieux ruraux hygiéniques où l'allaitement naturel se prolonge. A la suite d'expériences sur des animaux, on envisage actuellement d'immuniser les femmes enceintes pour renforcer les titres d'anticorps dans le lait. Les possibilités de vaccination commencent à s'annoncer prometteuses, mais il reste plusieurs problèmes à résoudre. Il faut encore déterminer l'âge optimal pour la vaccination et l'on n'a pas encore trouvé la souche adéquate à cet effet, ni une méthode de production de souches humaines en quantités suffisantes pour des vaccinations de masse. En Finlande, on a commencé à étudier la préparation d'un vaccin oral à base d'un rotavirus hétérologue bovin, qui a donné des résultats encourageants. Le clonage moléculaire récent de gènes de rotavirus est une autre possibilité pour la production d'une souche appropriée pour le vaccin, qui se fait de plus en plus nécessaire, surtout dans les pays en développement.