



ARTICULOS DE REVISION

ASPECTOS VIROLOGICOS Y CLINICO-EPIDEMIOLOGICOS DE LA INFECCION POR ROTAVIRUS. SEGUNDA PARTE

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURI".
DEPARTAMENTO DE VIROLOGIA

*Dra. Maritza Alvarez Vega** y *Dr. Miguel Marrero Suárez**

Se tratan en el presente trabajo aspectos relacionados con la patogenia, el cuadro clínico y la inmunidad de las infecciones provocadas por rotavirus. Además, se brinda información acerca del estado actual de las investigaciones sobre la atención de vacunas sobre dichos agentes. La epidemiología y el diagnóstico de laboratorio son otros tópicos de interés que se discuten en este estudio.

PATOGENIA

Los rotavirus penetran por la vía oral y pueden sobrevivir al medio ácido del estómago; resisten el contacto directo con las enzimas proteolíticas y otros constituyentes del intestino. Durante este tiempo las proteasas pueden actuar sobre los polipéptidos virales y aumentar su infectividad. Los virus penetran en los enterocitos de las vellosidades del intestino.

Al ser el yeyuno la parte más afectada, se extiende la infección a una distancia variable¹ y se multiplica en el citoplasma de estas células para provocar su lisis. El contenido de los enterocitos se vierte a la luz intestinal y son excretadas grandes cantidades de virus con las heces fecales. Esto trae como consecuencia que se destruyan áreas de la superficie celular y se alteren las funciones absorptivas y de la digestión. En el epitelio intestinal se sustituyen las células cilíndricas largas por célu-

* Especialista de I Grado en Microbiología. Departamento de Virología. IPK.

las cuboides, hay acortamiento de las vellosidades e infiltración linfocítica de la lámina propia vellosa y áreas de reparación.^{2,3}

Recientes estudios sugieren que la diarrea por rotavirus es una diarrea osmótica, a causa de la malabsorción de nutrientes.⁴ Las células de la cripta inmadura que sustituyen a las células absorptivas no pueden compensar inmediatamente los defectos de absorción.⁵ Aunque el colon no es afectado, la capacidad compensatoria del mismo es limitada, por lo que se desarrolla la diarrea.

CUADRO CLINICO

Esta enfermedad se presenta en una forma leve o grave; es esporádica, generalmente en los niños menores de 1 año; el comienzo es brusco. El periodo de incubación es de 1 a 3 días y el virus se excreta de 5 a 7 días después de comenzada la enfermedad.^{3,6}

Lo más frecuente es que los niños, al comienzo de la enfermedad sufran vómitos, seguidos de diarreas asociados con fiebre. En Brasil, Linhares, A.C. et al.⁷ encontraron que en 122 niños con diarrea por rotavirus, el 68 % tenía vómitos y el 65 % tenía fiebre. En Guatemala, Mata, L. et al.⁸ reportaron que en 63 niños estudiados con diarrea, el vómito se encontró en el 49 % de los casos, la fiebre en el 78 %, la deshidratación en el 11 %, y los síntomas respiratorios en el 19 %. En 1980, Foster, S.O. et al.,⁹ describieron una epidemia de rotavirus que afectó a 3 439 personas; los pacientes sintomáticos tuvieron numerosas deposiciones acuosas (de 3 a 12 por día), no tuvieron sangre, ni exceso de moco en las heces fecales; los otros síntomas observados fueron fiebre, vómitos y cólicos abdominales. El 10 % de los pacientes mostraron síntomas del sistema respiratorio superior. Fue frecuente la deshidratación en niños pequeños y a causa de ella fallecieron 7 pacientes. La duración de la enfermedad fue de 1 a 4 días.

Los síntomas que producen los rotavirus varían según la edad del paciente. El grupo más afectado es el de 16 meses a 2 años de edad.¹⁰ En los recién nacidos la enfermedad es menos severa, probablemente por la protección de la IgA secretoria presente en la leche materna.^{11,12} En los adultos también la enfermedad evoluciona subclínicamente.¹³ En niños prematuros puede ocurrir la infección. Van Reterghem, L. et al.¹⁴ reportaron que ésta era benigna, pero Rochí, G. et al.¹⁵ encontraron casos graves.

Black, R.E. et al.¹⁶ hallaron que la diarrea por rotavirus se acompañaba de un grado mayor de deshidratación que la producida por Shigella y E. coli, y si no se hidrataba a los niños adecuadamente podía ocurrir la muerte más rápidamente. Carlson, J. et al.¹⁷ estudiaron 21 casos mortales de diarreas por rotavirus, y observaron que todos los pacientes tenían de 4 a 30 meses de edad, y que el factor principal de la muerte fue la deshidratación con el desequilibrio electrolítico concomitante. El síntoma más sobresaliente clínicamente fue el vómito; la fiebre se presentó en 10 de ellos y la diarrea en 17; la muerte ocurrió siempre dentro de los 3 días posteriores al inicio del cuadro clínico.

Un estudio realizado por Rodríguez, W.J. et al.¹⁸ sobre los aspectos clínicos de la infección por rotavirus en niños hospitalizados, demostró que el 100 % tenía diarreas; el 96 %, vómitos; el 77 % fiebre; deshidratación, el 83 % y síntomas respiratorios, el 49 %.

La infección por este agente se ha descrito en otros cuadros clínicos: invaginación intestinal,¹⁹ exantema súbito,²⁰ en 2 niños con trastorno del sistema nervioso central; que incluían el síndrome de-Reye y encefalitis.²¹ Yolken, R.H. y Murphy, M.²² en 5 niños con síndrome de muerte súbita, reportaron haber encontrado partículas de rotavirus en heces fecales de estos pacientes, sin tener antecedentes patológicos. Sin embargo, la función de los rotavirus en estos síndromes esta aún por esclarecerse.

Al ser los rotavirus una de las causas más comunes de diarrea aguda y existir en el mundo gran cantidad de niños que sufren de diarrea crónica, se ha especulado la posibilidad de que los rotavirus invasivos entéricos que dañan la mucosa del intestino, pueden iniciar, después de una diarrea aguda, una disfunción crónica intestinal.^{8,23,24}

Esto tiene una gran importancia a causa de las implicaciones nutricionales que produce la diarrea, como son la anorexia y la pérdida de proteínas y disacáridos. Frecuentemente, es un factor precipitante de marasmo y el kwashiorkor en niños hasta los 2 a 3 años de vida en países subdesarrollados.⁸

El tratamiento de los niños con diarreas por rotavirus es de sostén; la muerte se asocia a la pérdida de electrolitos y agua, lo que conduce a la deshidratación, acidosis y shock, por lo que no se debe a un efecto directo del agente causal. Se recomienda retirar la leche y los productos lácteos por el daño que se produce en las funciones de absorción. Deberá administrarse hidratación oral con agua y electrolitos. Solamente en casos de vómito se recomienda la vía parenteral.¹⁰

INMUNIDAD

La naturaleza ubicua de los rotavirus puede ser medida por la prevalencia de la inmunidad en la población. En los niños a partir de los 6 años se encuentran los anticuerpos antirotavirus con una frecuencia del 60 al 90 %.²⁵ Estos anticuerpos pueden ser medidos por las pruebas de neutralización, fijación de complemento, ELISA e inmunofluorescencia.²⁶

Se han realizado numerosos estudios de la respuesta inmune a los rotavirus con las siguientes conclusiones:

- La infección ocurre frecuentemente en ausencia de diarrea.
- La presencia de anticuerpo IgG en el suero señalando una infección previa por este virus, no es un indicador confiable de inmunidad a la enfermedad con otro serotipo.
- La presencia de anticuerpo intestinal neutralizante específico (adquirido activa o pasivamente), puede dar una protección contra la enfermedad clínica, pero no protege contra la infección. Muy altos niveles de anticuerpo intestinal pueden prevenir la reinfección.²⁷

El desarrollo de anticuerpo intestinal y del suero en animales y en niños ha sido tema de estudio de diversos autores.^{28,29} En el suero, después de la infección se produce un aumento rápido de la IgM, el cual es seguido por la aparición de IgA e IgG. En el intestino, se encuentra un patrón similar de anticuerpos, pero la IgA secretoria específica es la inmunoglobulina predominante, producida después de la infección. Se estudió el incremento de los coproanticuerpos y se halló que aparecieron de 1 a 2 semanas después de comenzada la enfermedad, para alcanzar títulos máximos de 2 a 4 semanas y disminuir hasta niveles imperceptibles después de 2 meses.³⁰⁻³²

El papel de la inmunidad celular en la infección por rotavirus no ha sido suficientemente estudiado. En niños inmunodeprimidos con trastornos en la inmunidad celular, se encuentra alterada la recuperación de la enfermedad y estos niños se tornan excretores crónicos del virus.^{33,34}

Como los rotavirus infectan solo los enterocitos maduros de las vellosidades intestinales, no parece probable que los anticuerpos del suero desempeñan un papel en la prevención de la enfermedad, pero la inmunidad local determinada por la IgA, la IgM y el interferón, que se encuentran en el intestino, si tienen importancia en la prevención de la enfermedad.²⁷

El paso de inmunoglobulinas a través de la lactancia materna, también disminuye la frecuencia y la gravedad de la gastroenteritis en niños,³⁵⁻³⁹ Inglis, G.C. et al.³⁶ encontraron que las concentraciones de IgA secretoria en el calostro, eran independientes de las concentraciones de anticuerpos en el suero.⁴⁰ Se han hallado algunas sustancias inhibitorias de tipo no inmunoglobulínicas en el calostro y en la leche.³⁶

La mayoría de las cepas de rotavirus probadas en condiciones experimentales, produce infecciones cruzadas entre las diferentes especies de mamíferos. Los rotavirus humano, bovino y porcino pueden infectar cerdos. Los rotavirus humanos pueden también infectar monos, y los humanos y de equipos pueden infectar terneros. No todas estas infecciones cruzadas producen diarreas. Por otra parte, no existen evidencias, en la actualidad, de que los rotavirus crucen las barreras de especies en condiciones naturales. En Inglaterra un rotavirus aislado de un niño resultó ser serológicamente cercano a una cepa de rotavirus bovino.³

VACUNAS

Las infecciones sucesivas de rotavirus en un mismo individuo, suelen atribuirse a serotipos diferentes de estos agentes.⁴¹ Estas observaciones han sido alentadoras para el desarrollo de las vacunas, puesto que parece haber una protección natural adquirida contra la enfermedad, por la infección previa con un rotavirus homólogo.

A causa de que a la inmunidad local del intestino por la IgA secretoria se le ha dado importancia en la protección de la enfermedad, ha tenido prioridad al desarrollo de vacunas por vía oral del tipo de virus vivo atenuado adaptadas en cultivos celulares.⁴²

Varios intentos en el desarrollo de vacunas han sido considerados como:

1. Vacunas de virus vivo atenuado humano.
2. Vacunas de virus vivo atenuado de hospedero no humano.
3. Vacunas atenuadas de combinación de segmento de ácido ribonucleico (ARN) humano y animal.
4. Vacunas por clonación del genoma de rotavirus dentro de un vector bacteriano, por tecnología de ADN ácido desoxinucleico (ADN).
5. Vacunas sintéticas.

Durante muchos años se ha empleado, en bovinos, una vacuna de rotavirus del tipo de virus vivo atenuado para la vacunación materna de estos animales, con el objetivo de aprovechar las transferencias subsecuentes de la inmunidad pasiva a los descendientes, que los protege de la infección posterior.⁴³

Sobre la base de esta evidencia, una vacuna oral viva atenuada de rotavirus bovino RIT 4237, ha sido examinada recientemente en varias epidemias de diarreas por rotavirus, y se han obtenido resultados variables en cuanto a la protección o seroconversión de los casos estudiados.^{44,45}

EPIDEMIOLOGIA

Los estudios epidemiológicos demuestran que es un agente de distribución mundial y la principal causa de gastroenteritis en niños hospitalizados con EDA, en países desarrollados.^{46,47} En un estudio realizado en Bangladesh este agente fue la causa principal de la diarrea en niños hospitalizados menores de 2 años y la E. coli el más frecuente en todas las edades. En Porto Alegre, Brasil,⁴⁹ se reportó el 42 % de rotavirus en niños con EDA, en Costa Rica se detectó el 45 % en heces fecales de niños con EDA.⁵⁰

Este virus causa más frecuentemente la enfermedad entre 6 meses y 2 años de edad^{3,31} y con menos frecuencia en niños mayores de 5 años que ya tienen anticuerpos circulantes contra rotavirus. En Brasil⁵¹ se encontró el 33,1 % de 369 niños con diarreas en un año de estudio; el grupo de edad más afectado fue el de 0 a 11 meses. En Guatemala²⁹ en un estudio de niños con EDA, el grupo de 6 a 11 meses fue el de mayor positividad.

En los climas templados los rotavirus muestran patrones estacionales definidos con un pico de incidencia durante los meses de invierno.⁵²⁻⁵⁵ Un estudio realizado en USA, informa que constituyeron el 80 % o más de los gérmenes aislados en casos de gastroenteritis durante diciembre y enero. Brandt, C.D. et al.⁵² reportaron que la mayor frecuencia se encontraba en los meses secos y fríos en contraste con los meses cálidos y húmedos. En un estudio realizado en Africa,⁵⁶ en un grupo de 156 niños ingresados por diarreas, fue más frecuente el rotavirus en los meses secos del año. En los climas tropicales algunos autores han encontrado la distribución estacional menos definida, pero de todas formas manifiesta.⁵⁶⁻⁵⁸

La transmisión parece ser por vía fecal-oral,^{3,31,59} aunque Foster, S.O. et al.³⁰ sugieren que el rotavirus puede diseminarse tanto por la vía respiratoria como fecal-oral durante una epidemia; además se han encontrado

rotavirus en secreciones respiratorias en niños con neumonía,⁶⁰ por lo tanto, en condiciones de hacinamiento y poca higiene puede ser más frecuente la infección.⁶¹

En adultos, también se puede presentar la enfermedad. En una sala geriátrica en Noruega, afectó a 19 de 34 pacientes y provocó síntomas clínicos en la mayoría.⁶² Se han presentado brotes en salas pediátricas, que incluso han afectado al personal del hospital.^{47,63} Middleton, P.J. et al.,¹¹ en un experimento en voluntarios humanos, demostraron que este agente puede infectar a los adultos. En la India, en un estudio serológico, obtuvieron como resultado que todos los grupos de edades pueden ser susceptibles.⁶⁴

No se ha podido dilucidar el problema de los rotavirus en neonatos; se ha encontrado el virus en las heces fecales, pero la infección suele ser asintomática.⁶⁵ En un estudio de 1 año en 1 056 niños de menos de 5 días de nacidos el 32,5 % tenía rotavirus en sus heces fecales y de ellos el 8 % fue asintomático.⁶⁶ La función de las inmunoglobulinas maternas, que previenen la enfermedad, no está adecuadamente evaluada, aunque estos anticuerpos han sido demostrados en el calostro y en la leche;^{67,68} incluso en animales el título de anticuerpos en el calostro aumenta cuando se vacuna al animal preñado.²⁴

La función que desempeña el agua en la transmisión del rotavirus, es objeto de investigación actual y todavía no está bien definida. Hay estudios que demuestran la supervivencia del rotavirus en el agua por tiempo variable y por lo tanto, la posibilidad de que el virus pueda contaminar al hombre y a los animales por esta vía.^{69,70}

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

Las heces fecales de un sujeto infectado por rotavirus tienen de 10^9 o más partículas virales por gramo,⁷¹ y los límites de identificación del rotavirus en las heces son de 10^7 partículas virales por mL.⁷²

El periodo óptimo para la detección del virus es de 3 a 5 días del inicio de la enfermedad, aunque se ha encontrado el rotavirus hasta 20 días después de la diarrea.³⁰ Este virus es estable; sin embargo, las muestras una vez obtenidas deben ser almacenadas a -20 °C, preferiblemente a -70 °C.⁵⁹ La muestra puede ser de heces fecales o también hisopado rectal.

La estructura tan distintiva de este agente incrementa la confianza en la microscopia electrónica para su identificación.⁷³ Se ha utilizado la tinción negativa para ser observado el virus directamente en las heces fecales,⁷⁴ con una centrifugación a baja velocidad, aunque otros utilizan la ultracentrifuga para precipitar el virus³⁴ y obtener mejores resultados. La microscopia electrónica inmunitaria (MEI) en la cual se mezcla suero antiviral específico con la muestra, y produce una agregación de las partículas; incrementa aproximadamente en 10 veces la sensibilidad de esta técnica, en comparación con la microscopia electrónica (ME) simple; además, es capaz de detectar el virus en concentraciones bajas y distinguir entre

los artefactos y las partículas virales específicas.

En general, las técnicas que utilizan el cultivo celular, como fue descrito anteriormente, no han sido muy adecuadas para identificar los rotavirus.

El diagnóstico serológico tiene como objetivo la detección de los antígenos de grupo, localizados en la cápsida interna. Para este diagnóstico se utiliza una gran cantidad de pruebas: fijación del complemento (FC), ELISA, radioinmunoensayo, inhibición de la hemaglutinación (IH), inmunofluorescencia, contraínmunoosmoforesis, aglutinación por látex (figura 1) y hemaglutinación reversa pasiva.



Figura 1. Técnica de aglutinación por látex, para la detección directa de rotavirus en las heces fecales. Izquierda: aglutinación (positivo). Derecha: no aglutinación (negativo).

Los antígenos específicos del tipo que distinguen los rotavirus de distintas especies, se demuestran por las pruebas de neutralización o inmunofluorescencia. La identificación de serotipos y subgrupo se ha logrado también por ELISA, FC' e hibridización de ácidos nucleicos. Los subgrupos pueden determinarse también por electroforesis en gel de poliacrilamida (EGFA).

La contraínmunoosmoforesis fue desarrollada en los primeros estudios que se hicieron para el rotavirus como alternativa de la ME;⁵⁹ Mildeton, P.J. et al.⁷⁶ al usar suero de cerdo antirotavirus y hacer el precipitado con ácido tánico encontraron el método más sensible que la ME. También, Grauballe, P.C. et al.⁷⁷ obtuvieron el 61 % de positividad por esta técnica, en 87 muestras de heces fecales de niños con diarreas; mientras que por microscopía electrónica fueron el 50 % las positivas. Tiene la ventaja de que pueden ser procesadas gran número de muestras en un día de trabajo.

Aunque la fijación del complemento ha sido empleada para detectar rotavirus, las heces fecales⁵⁹ tienen actividad anticomplementaria, lo cual constituye una desventaja.

Al absorber las heces con suero de ternera se elimina la actividad anticomplementaria, y se obtienen mejores resultados, pero es un procedimiento caro.⁷⁷

La prueba de IH se ha empleado para detectar anticuerpos circulantes. Al examinar sueros pareados por IH y por FC, mostraron que la FC es más eficiente para detectar la respuesta de anticuerpos,⁷⁸ aunque la IH mide la respuesta de anticuerpos tipo específica. La prueba de la hemaglutinación inmunoaderente mide⁷⁹ también los anticuerpos circulantes y es más sensible que las anteriores.

La inmunofluorescencia es utilizada⁸⁰ como un eficiente indicador para detectar los anticuerpos por rotavirus.

También para la detección de antígeno, al inocular filtrados de heces fecales en una monocapa celular, seguido por incubación, centrifugación, fijación y detección de antígenos virales en el microscopio de fluorescencia; el problema surge porque las muestras de heces fecales se replican pobremente en cultivo de tejidos. La utilización de la inmunoperoxidasa en lugar de conjugados fluorescentes, tiene la ventaja que utiliza microscopio de luz y se pueden hacer láminas permanentes.⁸¹

La hibridización de ácidos nucleicos, por ser una técnica que es capaz de detectar pequeñas cantidades de virus y ser altamente específica, ha sido empleada para el diagnóstico.^{82,83} Permite determinar serotipos y serogrupos. Está basada en la hibridización in situ del ARN viral de simple cadena marcado y el ARN del rotavirus desnaturalizado por el calor e inmovilizado en una membrana de nitrato de celulosa. Este método requiere una elevada tecnología y la utilización de isótopos radiactivos.

La técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida es utilizada para la detección del ARN del rotavirus, es de bajo costo, y excelente especificidad.^{84,85} Ha sido empleada para clasificar los rotavirus humanos en subgrupos y para estudiar la distribución geográfica y temporal de cepas de rotavirus epidémico.⁸⁶

Esta técnica ha sido utilizada exitosamente en el diagnóstico, aunque necesita 10^{11} partículas de virus por gramo de heces fecales, para que puedan hacerse visibles las bandas de ARN. La especificidad es del 100 % (no se obtienen casos falsos positivos) (figura 2).

El ELISA es comparable a la MEI para el diagnóstico de rotavirus, en cuanto a sensibilidad y actualmente es considerado como el método más útil cuando se tiene gran número de casos, pues se obtienen los resultados en un tiempo corto.^{87,88} Se ha utilizado tanto la variante directa como la indirecta para el diagnóstico de rotavirus.

Los serotipos de rotavirus humano pueden detectarse por ELISA, si se dispone del anticuerpo tipo específico. También se ha utilizado para detectar subgrupos.⁸⁹ En un estudio comparativo⁹⁰ con ELISA, IF y contraimmunosmoforesis, para la detección de rotavirus en muestra de heces fecales,



Figura 2. Detección del ARN de rotavirus, por electroforesis, en gel de poliacrilamida (EGPA).

se observó que el ELISA es un método simple, rápido y sensible. Se han producido resultados falsos positivos por la actividad de la proteasa fecal,⁹¹ pero con la introducción de sueros heterólogos se puede evitar.

En sustitución de los anticuerpos policlonales han surgido los anticuerpos monoclonales específicos para los 4 serotipos y los 2 subgrupos de los rotavirus, lo cual ha sido importante en los estudios epidemiológicos y para las vacunas;^{92,93} sin embargo, algunos autores le han señalado a estos anticuerpos baja afinidad⁹⁴ pudiendo perderse con los repetidos lavados.

La aglutinación por látex para rotavirus fue una técnica descrita por primera vez por Sanekata, T. et al.⁹⁵ como una alternativa de la hemaglutinación reversa pasiva descrita por el mismo autor,⁹⁶ tratando de simplificar el sistema indicador (los eritrocitos de carnero). Las partículas de látex fueron recubiertas con anticuerpos antirotavirus y enfrentadas a una suspensión de heces fecales, y se detectó la presencia de rotavirus por la aglutinación de estas partículas). En los trabajos⁹⁵ iniciales el rotavirus humano se extrajo por purificación de las heces, y se utilizó para la inoculación de curieles, de los cuales se obtuvieron los anticuerpos antirotavirus, que después de un proceso de conjugación fueron enlazados al látex.

Otros trabajos⁹⁷ utilizaron el rotavirus de mono SA11 obtenido a partir de cultivo de tejidos, para obtener los anticuerpos, después unieron las partículas de látex con el antisuero y con la inmunoglobulina G, y hallaron que la unión del látex con la IgG era más sensible para la detección de antígeno de rotavirus. Existe en la actualidad una amplia variedad de métodos útiles para la detección de rotavirus en heces fecales. En nuestro país se han empleado las técnicas de ELISA, aglutinación en látex, la coagulación, ME y EGPA, las cuales en estos momentos se extienden a toda la red de higiene y epidemiología del país. El problema de salud que representa la infección rotaviral es importante en todo el mundo, y su control se logrará cuando se obtenga una vacuna de amplia inmunogenicidad, para lo cual trabaja un número importante de especialistas en muchos países.

SUMMARY

This paper deals with aspects related to pathogeny, clinical picture and immunity of infections produced by rotavirus. In addition, information on the present condition of researches on the attention of vaccines on such agents is offered. The epidemiology and laboratory diagnosis are other interesting topics discussed in this study.

RESUME

Dans ce travail les auteurs envisagent des aspects concernant la pathogénie, le tableau clinique et l'immunité des infections provoquées par des rotavirus. En plus, ils apportent des informations sur l'état actuel des recherches concernant les vaccins contre ces agents. L'épidémiologie et le diagnostic de laboratoire sont d'autres aspects d'intérêt discutés dans cette étude.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. THEIL, K. W. ET AL.: Pathogenesis of porcine rotaviral infection in experimentally inoculated gnotobiotic pigs. *Am J Vet Res* 39: 213-220, 1978.
2. OMS: Diarreas por rotavirus y otros virus. *Bol Epidemiol* 58: 183-198, 1980.
3. OPS: Los rotavirus. *Bol Epidemiol* 3: 312-15, 1982.
4. GRAHAM, D. Y. ET AL.: Rotavirus induces an osmotic diarrhea in miniature swine. *Gastroenterology* 82: 1072, 1982.
5. MIDDLETON, P. G.: Pathogenesis of rotaviral infection. *J Am Vet Med Assoc* 173: 544-546, 1978.
6. DAVISON, G. P. ET AL.: Importance of a new virus in acute sporadic enteritis in childre. *Lancet* 1: 242-245, 1975.
7. LINHARES, A. C. ET AL.: Acute diarrhoea associated with rotavirus among children living in Belén, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 77: 212-214, 1983.
8. MATA, L. ET AL.: Epidemiology of rotaviruses in a cohort of 45 Guatamalan Mayan Indian children observed from birth to the age of three years. *J Infect Dis* 148: 452-461, 1983.

9. FOSTER, S. O. ET AL.: Gastroenteritis due to rotavirus in an isolated pacific island group: an epidemics of 3 439 cases. *J Infect Dis* 141: 32-39, 1980.
10. JAWETS, E. ET AL.: *Manual de Microbiologia Médica*. 11na. ed., México, Ed. El Manual Moderno, S. A. 1981, Pp. 488-491.
11. SIMHON, A.; L. MATA: Antirovirus antibody in human calostrum. *Lancet* 1: 29-40, 1978.
12. MATHEWS, T. H. J. ET AL.: Antiviral activities in milk of possible clinical importance. *Lancet* 2: 1387, 1976.
13. VAN RETERGHEM, L. ET AL.: Rotavirus and others viruses in stools of premature babies. *J Med Virol* 5: 137-142, 1980.
14. BISHOP, R. F. ET AL.: Detection of a new virus by electron microscopy of faecal extracts from children with acute gastroenteritis. *Lancet* 1: 149-151, 1974.
15. ROCCHI, G. ET AL.: Outbreak of rotavirus gastroenteritis among premature infants. *Br Med J* 283: 886, 1981.
16. BLACK, R. E. ET AL.: Longitudinal studies of infectious diseases and physical growth of children in rural Bangladesh II. Incidence and etiology of diarrhea. *Am J Epidemiol* 15: 315-324, 1982.
17. CARLSON, J. A. K. ET AL.: Fatal rotavirus gastroenteritis: an analysis of 21 cases. *Am J Dis Child* 133: 477-479, 1978.
18. RODRIGUEZ, W. J. ET AL.: Clinical features of acute gastroenteritis associated with human reovirus-like agents in infant and young children. *J Pediatric* 91: 188, 1977.
19. KONNO, T. ET AL.: Human rotavirus infection in infants and young children with intussusception. *J Med Virol* 2: 265-269, 1978.
20. SAITON, Y. ET AL.: Exanthem subitum and rotavirus. *N Engl J Med* 304: 845, 1981.
21. SALMI, T. T. ET AL.: Central nervous system involvement in patients with rotavirus gastroenteritis. *Scand J Infect Dis* 10: 29-31, 1978.
22. YOLKEN, R. H.; M. MURPHY: Sudden infant death syndrome associated with rotavirus infection. *J Med Virol* 10: 291-296, 1986.
23. HAMILTON, J. R.: Viral enteritis a cause of disordered small intestinal epithelial Senewal. *Chronic diarrhea in children*. Edited by Emmanuel Lebenthal, New York, Nestlé Vevey/Raven Press, 1984, Pp. 269-276.
24. MATA, L. ET AL.: Infectious agents in acute and chronic diarrhea of childhood. *Chronic diarrhea in children*. Edited by Emmanuel Lebenthal, New York, Nestlé Vevey/Raven Press, 1984, Pp. 237-252.
25. NICOLAS, J. C. ET AL.: Isolation of a human pararotavirus. *Virology* 124: 181-184, 1983.
26. GHOSE, L. H. ET AL.: Comparison of ELISA for quantitation of rotavirus antibodies with complement fixation in an epidemiological survey. *J Clin Microbiol* 8: 268-276, 1978.
27. YOLKEN, R. H. ET AL.: Measurement of rotavirus antibody by an enzyme linked immunoabsorbent assay blocking assay. *J Clin Microbiol* 8: 283-287, 1978.
28. ESTES, N. K. ET AL.: Antigenic structures of rotaviruses. *Immunochemistry of virus*. M.H.V. Van Regenmortel and A.R. Neurath (eds). Elsevier Science Publishers B.V. 1985, Pp. 389-405.
29. DAVIDSON, J. P. ET AL.: Serum and intestinal immune response to rotavirus enteritis in childre. *Infect Immunol* 40: 447-452, 1983.
30. SHERINDAN, J. F. ET AL.: Virus specific immunity in neonatal and adult mouse rotavirus infection. *Infect Immunol* 39: 917-127, 1983.
31. SONZA, S.; I. H. HOLMES: Coproantibody response of rotavirus infection. *Med J Aust* 2: 496, 1980.
32. GEOFFREY, P. D. ET AL.: Serum and intestinal immune response to rotavirus enteritis in children. *Infect Immunol* 2: 447-452, 1983.
33. RIEPENHOFF, T. M. ET AL.: Development of serum and intestinal antibody response to rotavirus after naturally acquired rotavirus infections in man. *J Med Viral* 8: 215-222, 1981.

34. YOLKEN, R. H. ET AL.: Infectious gastroenteritis in bone marrow transplant recipients. *N Engl J Med* 306: 1009-1012, 1982.
35. SAIF, L. J. ET AL.: Passive immunity to bovine rotavirus in newborn calves red calostrum supplements from immunized or nonimmunized cours. *Infect Immunol* 41: 1118-1131, 1983.
36. GURWITH, M. ET AL.: A prospective study of rotavirus infection in infants and young children. *J Infect Dis* 144: 218, 1981.
37. INGLIS, G. C. ET AL.: Anti-rotavirus antibody in human calostrum. *Lancet* 1: 560, 1978.
38. SNODGRASS, D. R.; P. W. WELLS: Rotavirus infection in lambs. Studies of passive protection. *Arch Virol* 52: 201, 1976.
39. BOHN, E. H. ET AL.: Rotavirus as a cause of diarrhea in pigs. *J Am Vet Med Assoc* 172: 458, 1978.
40. MEBUS, C. A. ET AL.: Immunity to calf diarrhea virus. *J. Am Vet Med Assoc* 163: 880, 1973.
41. OTNAES, A. B.; I. ORSTAVIK: Effect to fractions of ethiopian and norwegian calostrum on rotavirus and *Escherichia coli* heat labile enterotoxin. *Infect Immunol* 33: 459, 1981.
42. FONTEYNE, J. Z. ET AL.: Recurrent rotavirus gastroenteritis. *Lancet* 1: 983, 1978.
43. KAPIKIAN, A. Z. ET AL.: Approaches to immunization of infants and young children against gastroenteritis due to rotavirus. *Rev Infec Dis* 2: 459, 1980.
44. SNODGRASS, D. R. ET AL: Passive immunity in calf rotavirus infections: maternal vaccination increases and prolongs immunoglobulin C antibody secretion in milk. *Infect Immunol* 28: 344, 1980.
45. VESIKARI, T. ET AL.: Immunogenicity and safety of live oral attenuated bovine rotavirus vaccine strain RIT. 4237 in adults and young children. *Lancet* 2: 807-811, 1983.
46. VESIKARI, T. ET AL.: Protection of infants against rotavirus diarrhoeas by RIT. 4237 attenuated bovine rotavirus strain vaccine. *Lancet* 5: 977-981, 1984.
47. KAPIKIAN, A. Z. ET AL.: New developments in viral gastroenteritis. Amsterdam, Elsevier North Biomedical, 1981, Pp. 9-57.
48. KAPIKIAN, A. Z. ET AL.: Human reovirus-like agent as the major pathogen associated with winter gastroenteritis in hospitalized infants and young children. *N Engl J Med* 244: 965-972, 1976.
49. BLACK, R. E. ET AL.: A two year study of bacterial, viral and parasitic agents associated with diarrhea in rural Bangladesh. *J Infect Dis* 142: 660-664, 1980.
50. COIRO, J. R. ET AL.: Rotavirus infection in brazilian children in acute enteritis. A seasonal variation study. *Am J Trop Med Hyg* 32: 1186-1188, 1983.
51. MATA, L. ET AL.: Diarrhea associated with rotavirus, enterotoxigenic *Escherichia coli*, *Campylobacter* and other agents in Costa Rican children. *Am J Trop Med Hyg* 32: 146-153, 1983.
52. ALEXANDER, C.: Acute diarrhea associated with rotavirus among children living in Belén, Brazil. *T.R.G. Trop Med Hyg* 77: 384-390, 1983.
53. BRANDT, C. D. ET AL.: Rotavirus gastroenteritis and weather. *J Clin Microbiol* 16: 478, 1982.
54. BRANDT, C. D. ET AL.: Comparative epidemiology of two rotavirus serotypes and other viral agents associated with pediatric gastroenteritis. *Am J Epidemiol* 110: 243, 1979.
55. KONNO, T. ET AL.: A long-term survey of rotavirus infection in Japanese children with acute gastroenteritis. *J Infect Dis* 138: 569, 1978.
56. SETBON, M. ET AL.: Rotavirus prevalence and relationships to climatological factors in Gabon, Africa. *J. Med Virol* 16: 177-182, 1985.
57. HIERBER, J. P. ET AL.: Comparison of human rotavirus disease in tropical and temperate settings. *Am J Dis Child* 132: 853-858, 1978.
58. PANIKER, C. K. ET AL.: Rotavirus acute diarrhoeal disease in children in a southern indian coastal town. *Bull WHO* 60: 123, 1982.

59. MIDDLETON, P. J.: Role of viruses in pediatric gastroenteritis disease in epidemiologic factors. New York, Ed. Marcel Dekker, Inc, 1982, Pp. 211-225.
60. SANTOSHAM, M. ET AL.: Detection of rotavirus in respiratory secretions of children with pneumonia. *J Pediatric* 103: 583-585, 1983.
61. KAPIKIAN, A. C.; R. H. YOLKEN: Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamydial infections. 5th ed. Washington, Am Public Health Association, 1979, Pp. 927-982.
62. HALVORSRUD, J. ET AL.: An epidemic of rotavirus associated gastroenteritis in a nursing home for the elderly. *Scand J Infect Dis* 12: 161, 1980.
63. KIM, H. ET AL.: Human reovirus-like agent infection. Occurrence in adult contacts pediatric patients with gastroenteritis. *JAMA* 238: 404, 1977.
64. LINHARES, A. C. ET AL.: A outbreak of rotavirus diarrhea among a non immune, isolated south American Indian Community. *Am J Epidemiol* 113: 703, 1981.
65. CAMERON, D. J. S. ET AL.: Noncultivable viruses and neonatal diarrhea: Fifteen-month survey in a newborn special care nursery. *J Clin Microbiol* 8: 93, 1978.
66. BANATVAL, J. E. ET AL.: Rotaviral infections in human neonates. *J Am Vet Med Assoc* 173: 527, 1978.
67. CREVE, E.; A. M. MURPHY: Further studies on neonatal rotavirus infections. *Med J Aust* 1: 61-63, 1980.
68. Mc LEAN, B. S.; I. H. HOLMES: Effect of antibodies, trypsin inhibitors on susceptibility of neonates to rotavirus infection. *J Clin Microbiol* 47: 580-590, 1981.
69. HEJKAL, T. W. ET AL.: Seasonal occurrence of rotavirus in sewage. *Appl Environ Microbiol* 47: 588-590, 1984.
70. RODERICK, A. R. ET AL.: Long-term survival of human rotavirus in raw and treated river water. *J Microbiol* 31: 124-129, 1985.
71. MATTEWS, R. E. F.: The classification and nomenclature of viruses. Summary of results of meeting of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The Hague, September 1978. *Intervirology* 11: 133-135, 1979.
72. KJELDSBERG, E.: Small spherical viruses in faeces from gastroenteritis patients. *Act Pathol Microbiol Immunol Scand* 85: 351, 1977.
73. HERNANDEZ, F. ET AL.: Prevalencia de rotavirus y descripción de una epidemia de diarrea en Costa Rica. *Act Med Costarric* 20: 297-304, 1977.
74. FLEWETT, T. H. ET AL.: Virus particles in gastroenteritis. *Lancet* 2: 1497, 1973.
75. MILDDETTON, P. J. ET AL.: Orbivirus acute gastroenteritis of infancy. *Lancet* 1: 1241-1244, 1974.
76. MIDDLETON, P. J. ET AL.: Counterimmunoelectroosmophoresis for the detection of infantile gastroenteritis virus (orbi group) antigen and antibody. *J Clin Pathol* 29: 191-197, 1976.
77. GRAUBALLE, P. C. ET AL.: Rapid diagnosis of rotavirus infections: comparison of electron microscopy and immunoelectroosmophoresis for the detection of rotavirus in human infantile gastroenteritis. *J Gen Virol* 35: 203-218, 1977.
78. SHINOZAKI, T. ET AL.: Haemagglutinin from human reoviruslike agent. *Lancet* 1: 878, 1978.
79. MASUTNO, S.; S. MAGAYOSHI: Quantitative estimation of infantile gastroenteritis virus antigens in stools by immunoadherence haemagglutination test. *J Clin Microbiol* 7: 310-311, 1978.
80. DAVIDSON, G. P. ET AL.: Immunofluorescence in duodenal mucosa of children with acute enteritis due to new virus. *J Clin Pathol* 28: 263-266, 1975.
81. GRAHAM, D. Y.; M. K. ESTES: Comparison of methods of immunocitochemical detection of rotavirus infections. *Infect Immunol* 26: 686-689, 1979.
82. FLORES, J. ET AL.: A dot hybridization assay for detection of rotavirus. *Lancet* 555-559, 1983.

83. DIMITROU, D. H. ET AL.: Detection of rotaviruses by nucleic acid hybridization with cloned DNA of simian rotavirus SA 11 genes. *J Infec Dis* 152: 293-300, 1985.
84. ESPEJO, R. ET AL.: Diagnosis of rotavirus using viral RNA electrophoresis. *Bol Med Hosp Infant Mex* 35: 323-331, 1978.
85. AVENDANO, L. F. ET AL.: Rotavirus viral RNA electrophoresis in hospitalized infants with diarrhea in Stgo, Chile. *Pediatrc Res* 16: 329-330, 1982.
86. PEREIRA, H. G. ET AL.: Electrophoretic study of the genome of human rotaviruses from Rio de Janeiro; Sao Paulo and Pará, Brazil. *J Hyg Camb* 90: 117-125, 1985.
87. ALVAREZ, M. T. ET AL.: Comparación de las técnicas de ARN viral, ELISA y fijación del complemento con la ME para demostrar rotavirus. *Arch Invest Méd (Mex)* 13: 145-150, 1982.
88. KJELASBERG, E.; M. E. KAREN: Comparison of a solid-phase immunoelectron microscopy, direct electron microscopy and ELISA for detection of rotavirus in faecal samples. *J Virol Met* 4: 45-53, 1982.
89. THOULESS, M. E. ET AL.: Serotyping and subgrouping of rotavirus strains by the ELISA test. *Arch Virol* 73: 219-230, 1982.
90. GRAUBALLE ET AL.: Optimized enzyme linked immunosorbent assay for detection of human and bovine rotavirus in stools: comparison with electron microscopy, immunoelectroosmophoresis and fluorescent antibody techniques. *J Med Virol* 7: 29-40, 1981.
91. HOVI, T. ET AL.: Solid phase enzyme immunoassay for rotavirus antigen: faecal protease activity as a reason for false negative results. *J Virol Met* 5: 45-553, 1982.
92. TANIGUCHI, K. ET AL.: Production of subgroup specific monoclonal antibodies against human rotaviruses and their application to an ELISA for subgroup determination. *J Med Virol* 14: 115-125, 1984.
93. LAMBERT, J. P. ET AL.: Monoclonal antibodies directed against different antigenic determinants of rotavirus. *J Virol* 51: 47-51, 1984.
94. DIDMAN, D. D. ET AL.: Rapid viral diagnosis. *J Infec Dis* 149: 298-310, 1984.
95. SANEKATA, T. ET AL.: Detection of rotavirus in faeces by latex agglutination. *J Immunol Method* 41: 377-385, 1981.
96. SANEKATA, T. ET AL.: Detection of rotavirus from faeces by reverse passive haemagglutination method (letter). *J Clin Pathol* 32: 963, 1979.
97. HUGHES, J. H. ET AL.: Latex immunoassay for rapid detection of rotavirus. *J Clin Microbiol* 20: 441-447, 1984.

Recibido: 3 de agosto de 1988. Aprobado: 16 de septiembre de 1988.
 Dra. Maritza Alvarez Vega. Instituto de Medicina Tropical "Pedro' Kouri",
 calle 200 y avenida 15, apartado 601, Siboney, Ciudad de La Habana, Cuba.