

ARTICULO DE REVISION**Rotavirus: consideraciones biológicas, epidemiológicas e inmunológicas de la infección en humanos**

Esmeralda Vizzi

Laboratorio de Biología de
Virus. Centro de
Microbiología y Biología
Celular .Instituto Venezolano
de Investigaciones Científicas
(IVIC) Carretera
Panamericana Km 11,
Apartado 20632
Caracas 1020A, Edo.
Miranda, Venezuela

E-mail evizzi@ivic.ve**RESUMEN**

Los rotavirus son la causa más común de gastroenteritis aguda en niños menores de 5 años en todo el mundo. El impacto mayor de esta enfermedad ocurre en los países en desarrollo, donde causa más de 400.000 muertes al año. Por esta razón, la disponibilidad de una vacuna inocua y eficaz ha sido prioridad a nivel mundial en los últimos tiempos. El significado clínico de la infección por rotavirus ha estimulado la investigación básica de estos agentes, que a causa de su complejidad estructural, particular estrategia morfogénica y replicativa, representan un modelo de estudio. La comprensión de muchos aspectos biológicos, bioquímicos, moleculares y inmunogénicos de los rotavirus ha permitido el desarrollo de estrategias de vacunación, algunas de las cuales actualmente en uso. La enorme variabilidad antigénica de los tipos virales circulantes impone la necesidad de realizar estudios de vigilancia, para evaluar la eficacia de las estrategias de vacunación.

Palabras clave: rotavirus, diarrea, epidemiología, vacunas**ABSTRACT****Rotavirus: biological, epidemiological and immunological considerations**

Rotaviruses are the most common cause of acute gastroenteritis in children under 5 years of age worldwide. Main impact of rotavirus disease occurs in developing countries, where it causes over 400.000 deaths each year. Therefore, the availability of a safe and effective rotavirus vaccine has been a global priority in recent times. The clinical significance of rotavirus infection has stimulated basic research of these agents, which represent a model for studying because of their structural complexity, and particular morphogenetic and replication strategy. The understanding of many biological, biochemical, molecular and immunogenic properties of rotavirus has enabled the development of vaccination strategies, some of which are currently in use. The extensive antigenic variability of circulating viral imposes the need for surveillance studies to evaluate the effectiveness of such vaccination strategies.

Key words: rotavirus, diarrhea, epidemiology, vaccine

INTRODUCCIÓN

La gastroenteritis aguda es una de las enfermedades más comunes del ser humano, importante causa de morbilidad y mortalidad a nivel mundial (1). Es una de las seis más importantes causas de muerte en la infancia (2). Es causada por una gran variedad de agentes: bacterias, virus, parásitos, toxinas y químicos. El espectro clínico de la enfermedad varía desde una infección asintomática o leve, con vómitos, hasta el desarrollo de un cuadro severo que provoca deshidratación, en algunos casos fatal, principalmente cuando ésta se manifiesta en niños y ancianos (1, 3).ç

Varios son los virus implicados como causa de diarrea en humanos, entre ellos: rotavirus, calicivirus humanos, astrovirus y adenovirus entéricos. La implementación de métodos diagnósticos para el reconocimiento de estos agentes ha llevado a concluir que los rotavirus constituyen el agente etiológico viral más importante. Las diarreas por rotavirus son un importante problema de salud pública para la población infantil, particularmente en el primer año de vida, por lo que es necesario adoptar medidas y diseñar programas de salud orientados hacia la prevención. La implementación de una vacuna para controlar la severidad de la diarrea y disminuir la enorme tasa de morbilidad y mortalidad que caracteriza la infección por rotavirus ha sido una prioridad a nivel mundial. La enorme diversidad genética y antigénica de las proteínas de superficie de los virones circulantes debe ser considerada a la hora de evaluar el impacto que las estrategias de vacunación pueden tener en una determinada población.

Reseña histórica Desde la década de los años 1940, se sospechaba que los virus podían ser una importante causa de gastroenteritis, aunque la etiología permanecía oculta en muchos casos (4). Los rotavirus fueron descritos por primera vez en Australia por Ruth Bishop en 1973, en células epiteliales de la mucosa duodenal de niños con gastroenteritis (5) y luego identificados en las heces de niños con gastroenteritis aguda (6). Sin embargo, ya en el año 1963 Malherbe y Harwin habían descrito el aislamiento de un virus de 70 nm de diámetro llamado SA11 (simian agent 11) en un cultivo de células renales, a partir de un hisopado rectal de mono sano (2). En 1969 Mebus y col. demostraron la presencia de virus de igual diámetro en terneros con diarrea, cuya clínica podía ser reproducida en terneros sanos por pasos seriados (2). En Venezuela fueron descritos por vez primera en niños con gastroenteritis por J. Esparza en 1977 (7). El nombre rotavirus, deriva del latín *rota*, que significa rueda, el cual fue sugerido por su morfología al microscopio electrónico (8) (Figura 1).

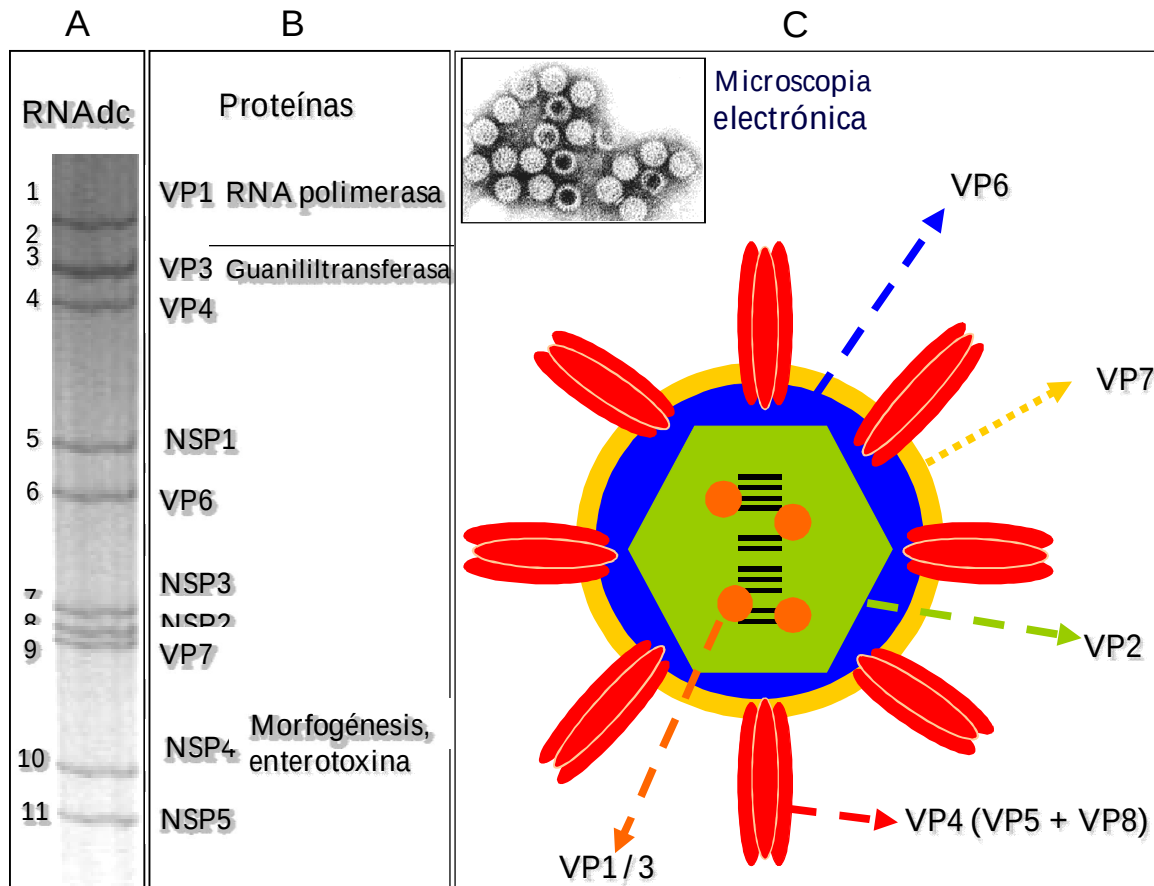


Figura 1. Características estructurales de los rotavirus: A) Genoma viral visualizado mediante electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE) y tinción con nitrato de plata. B) Proteínas codificadas por los segmentos genómicos de rotavirus SA11. C) Organización estructural esquematizada de la partícula de rotavirus: el virión consta de tres capas concéntricas de proteínas que encierran al genoma, constituido por 11 segmentos de ARN de doble cadena. VP1 y VP3 forman el “core” y se unen a la VP2, formando un complejo trimérico. VP6, la más abundante de las proteínas del virión, forma la capa intermedia; VP4 y VP7, capaces de estimular anticuerpos neutralizantes, forman la capa más externa. Una imagen al microscopio electrónico muestra el peculiar aspecto de rueda de partículas de rotavirus visualizadas en heces de un niño con diarrea aguda. Barra = 100 nm (adaptado de Parashar UD y col. Emerg Infect Dis 1998; 4:561-570).

Incidencia de la diarrea por rotavirus Los rotavirus constituyen el agente etiológico más importante de gastroenteritis aguda en niños menores de 5 años. La incidencia de la diarrea por rotavirus, a diferencia de otros agentes etiológicos, es muy similar en todo el mundo porque no está asociada al grado de desarrollo. Afecta en particular niños de edad comprendida entre 6 y 24 meses de edad independientemente del nivel socio-económico (2). El impacto mayor de esta enfermedad ocurre en los países en desarrollo, donde acontece más del 80% de las muertes, a causa de la desnutrición, poca disponibilidad de recursos e inadecuados sistemas de atención (3).

Cada año los rotavirus causan aproximadamente 111 millones de episodios de diarrea en niños, 25 millones de visitas médicas, 2 millones de hospitalizaciones y más de 440.000 muertes (3). En práctica en el mundo cada niño ha sufrido un episodio de diarrea por rotavirus a la edad de 5

años, 1 de cada 5 visita al médico, 1 de cada 65 es hospitalizado y 1 de cada 293 muere a causa de este virus (3).

En Venezuela, la gastroenteritis por rotavirus constituye la primera causa de muerte infantil por diarrea. Aproximadamente 300 niños menores de 5 años mueren cada año por rotavirus (9, 10). Estimaciones realizadas en Valencia, Edo. Carabobo, mediante el Sistema de Vigilancia, implementado desde 1997 en la Ciudad Hospitalaria "Dr. Enrique Tejera" (CHET), muestran que los rotavirus son la principal causa de diarrea en niños menores de 5 años, siendo responsable de un cuarto (23%) de todos los episodios de diarrea que requieren de atención médica y de un tercio (33%) de todos aquellos que requieren hospitalización (9). En ese estudio se demostró que la infección por rotavirus era más severa en los niños más pequeños y tenía un marcado patrón estacional con un aumento durante los meses secos y fríos del año. Extrapolando estos datos al resto del país y teniendo en cuenta que los indicadores de salud del estado Carabobo son superiores a la media de Venezuela, los autores estiman que cada año 118.000 niños desarrollan una enfermedad por rotavirus que requiere de atención médica y 39.000 requieren de hospitalización (9). Esto demuestra que las diarreas son un importante problema de salud pública en esta población, particularmente en el primer año de vida, por lo que es necesaria la aplicación de medidas de prevención y el diseño de programas de salud orientados a mejorar la salud de la población infantil.

Características generales de los rotavirus

Partícula viral. La partícula de rotavirus mide aproximadamente 70 nm de diámetro, no posee envoltura y presenta una cápside proteica compuesta por tres capas concéntricas icosaédricas (Figura 1). Cada partícula contiene una ARN-Polimerasa dependiente de ARN y es estable en el ambiente (2).

Genoma viral. El genoma viral está constituido por 11 segmentos de ARN de doble cadena (ARNdc) (de 667 hasta 3.302 nucleótidos), que codifican para seis proteínas estructurales indicadas como VP1, VP2, VP3, VP4, VP6, VP7, y seis no estructurales (NS) denominadas NSP1-NSP6. Con la excepción del 11° segmento genómico (que codifica para 2 proteínas, la NSP5 y la NSP6), todos los demás son monocistrónicos (Fig 1).

La hebra positiva de cada segmento del genoma de rotavirus, rico en guanina y uracilo, contiene una secuencia cap m7GpppG(m)GPy en su extremo 5' terminal, una serie de secuencias conservadas en una región 5' no codificante, un marco de lectura abierto que codifica para la proteína, un codón de terminación y otra serie de secuencias conservadas en una región no codificante 3', que termina con dos citidinas. No poseen señal de poliadenilación en el 3' terminal (2).

La naturaleza segmentada del genoma de rotavirus constituye la base fundamental para el estudio y caracterización de las propiedades replicativas y antigénicas, así como del mecanismo más común de evolución de estos virus, denominado rearreglo génico o "shift" (intercambio de genes entre cepas), fundamento para el desarrollo de la primera vacuna realizada contra

rotavirus (2). El análisis del patrón de migración del genoma, denominado electroferotipo, en gel de poliacrilamida (PAGE), (Figura 1), es utilizado para consideraciones epidemiológicas, durante el monitoreo de epidemias y brotes (11, 12) (Figura 1A). Sin embargo, los mecanismos involucrados en la generación de los distintos patrones de migración (rearrreglo génico, recombinaciones o mutaciones puntuales) pueden generar genomas que, aunque migren de forma idéntica en PAGE, difieren en la secuencia nucleotídica, limitando la utilidad de este criterio para la clasificación (12).

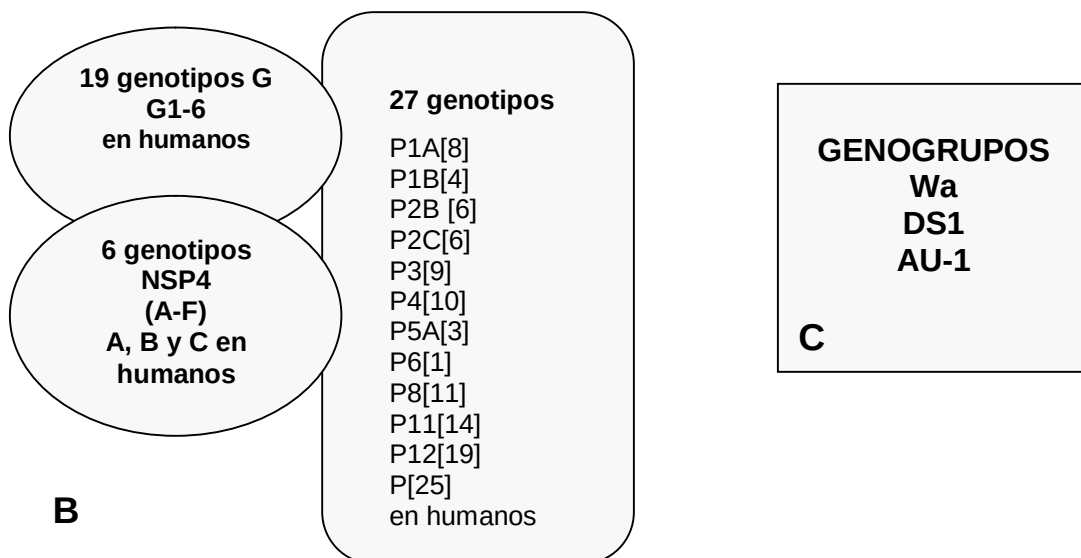
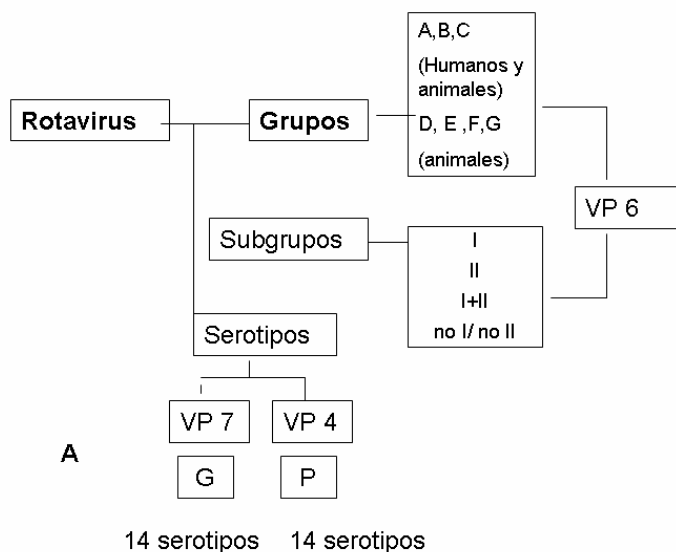
Proteínas virales. El triple estrato proteico que envuelve la partícula viral consiste de una capa interna compuesta por 120 moléculas de la proteína VP2 (Figura 1) que encierra el genoma viral, y dos proteínas estructurales menores, la VP1 (una ARN-Polimerasa ARN-dependiente) y VP3 (una guanilil-transferasa) que forman el "core". VP1 y VP3, involucradas en el proceso de transcripción, se unen a la superficie interna de la VP2, formando un complejo trimérico. La capa intermedia está formada por 260 trímeros de la VP6, la proteína más abundante del virión (51% del contenido total proteico), que junto al core forma las partículas de doble capsido (o DLP) descritas en microscopía electrónica (2).

La capa más externa consta de dos proteínas: la VP4 y la VP7; 780 copias de VP7 se organizan en trímeros que interactúan con la VP6, y 60 estructuras de trímeros de VP4, emergen en forma de espigas, extendiéndose por 120 Å. VP4 y VP7 encierran las DLP formando una partícula con triple capsido (TLP) o virión (2) (Figura 1). VP4, importante para la biología de los rotavirus, presenta un sitio de clivaje para la tripsina, fundamental para la infectividad del virus, que genera dos dominios, VP5* y VP8*. En muchas cepas de rotavirus la VP4 es una hemoaglutinina y media el ataque celular, la virulencia y la restricción de crecimiento del virus en células de tejido en cultivo. VP7, la segunda más abundante proteína del virión, es una glicoproteína que al igual que la VP4, es inmunogénica (2).

Clasificación de los rotavirus. Los rotavirus pertenecen al género *Rotavirus*, clasificados como miembros de la familia *Reoviridae*, junto con el género *Orthoreovirus*, *Orbivirus*, *Coltivirus*, *Aquareovirus*, *Cypovirus*, *Fijivirus*, *Phytoreovirus*, *Oryzavirus*, *Seadornavirus*, *Idnoreovirus* and *Mycoreovirus* (13). El género *Rotavirus* incluye siete serogrupos (indicados con letras desde la A hasta la G), identificados en base a las propiedades antigénicas y al patrón de migración del genoma en PAGE (14). Rotavirus de grupo A, B y C han sido identificados en humanos y animales; los de grupo D, E, F y G, hasta los momentos, solo en animales (Figura 2A). Virus de un mismo grupo son capaces de rearrreglar genéticamente (2).

Históricamente la proteína VP6 de los rotavirus fue la primera proteína de rotavirus utilizada para la clasificación de los rotavirus. Los rotavirus de grupo A son importantes patógenos entéricos en humanos y en una amplia variedad de especies de aves y mamíferos, y entre ellos es posible identificar diferentes especificidades de subgrupo (SG) en base a epitopes conformacionales ubicados predominantemente sobre la VP6 trimérica. Virus de SGI, SGII, SGI+II, o SG no-I/no-II, han sido discriminados de acuerdo a la reactividad con anticuerpos monoclonales (MAbs) (2,15). Mas recientemente,

en base a análisis molecular de del gen que codifica para la VP6, han sido descritos solo dos genogrupos entre los rotavirus de grupo A: genogrupo I, que comprende los virus caracterizados serológicamente como SGI, y el genogrupo II, que comprende 3 diferentes linajes genéticos que incluye los virus definidos serológicamente como SGII, SGI+II, o SG no-I/no-II (Figura 2A) (16).



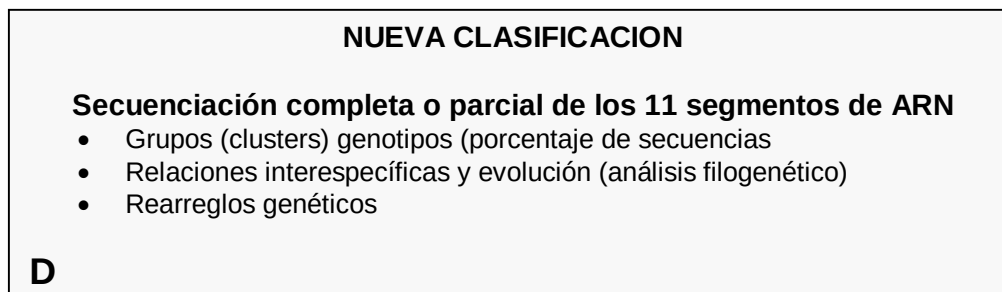


Figura 2. Esquema general de clasificación de los rotavirus. A) Clasificación en base al análisis de epítopes comunes de grupo, subgrupo y serotipos definidos serológicamente en pruebas de neutralización cruzada con sueros hiperinmunes. B) Clasificación en genotipos basada en análisis de secuencia de los segmentos génicos y proteínas VP4, VP7 y NSP4. C) Clasificación en genogrupos en base a pruebas de hibridización ARN-ARN. D) Nueva clasificación propuesta que define genotipos en función de los porcentajes de identidades de la secuencia completa o parcial de los 11 segmentos genómicos de rotavirus.

En 1985 fue planteado un esquema de clasificación que definía la existencia de múltiples grupos y serotipos de rotavirus capaces de entrecruzar especies (17). Más tarde, en 1989, fue propuesto un sistema de clasificación binario, parecido al del virus Influenza, originado a partir de reactividades inmunológicas de las dos principales proteínas de la capsida externa, la VP4 y la VP7, las cuales son capaces de inducir independientemente anticuerpos neutralizantes (2). Ambas definen una clasificación en serotipos VP4 o "P" (proteasa-sensible), y serotipos VP7 o "G" (glicoproteína), en base a pruebas de neutralización cruzada con sueros hiperinmunes originados contra el prototipo de virus (Figura 2A).

Debido a las dificultades del método y a la poca disponibilidad de reactivos, este sistema ha sido gradualmente substituido por una clasificación en genotipos P o G, basada en identidades de secuencia de los segmentos génicos homólogos. Hasta los momentos han sido identificados 19 diferentes genotipos G (14 serotipos G) y 27 genotipos P (14 serotipos P) (18, 19). El genotipo G coincide ampliamente con la designación de serotipo G. Para la clasificación del tipo P, se ha adoptado una doble nomenclatura que indica el serotipo P (cuando se conozca) en número árabe (algunas veces seguido por una letra mayúscula), seguido por el número del genotipo P entre paréntesis cuadros ([]). Cepas de rotavirus pertenecientes a 11 tipos G (G1-6, G8-G12) y 12 tipos P (P1A[8], P1B[4], P2A[6], P2C[6], P3[9], P4[10], P5A[3], P6[1], P8[11], P11[14], P12[19], P[25]) han sido aislados en humanos (Figura 2B) (2, 18, 19).

A finales de los años 1990, el análisis de secuencia del gen de la enterotoxina NSP4 de rotavirus de origen humano y animal, reveló la existencia de seis diferentes genotipos NSP4 (A-F), 3 descritos en humanos (Figura 2B) (20-22). Hasta los momentos ninguna clasificación basada solo en las proteínas VP1-VP3, NSP1-NSP3, o NSP5 ha sido descrita.

Otra clasificación basada en pruebas de hibridización ARN-ARN para comparar el genoma completo de rotavirus de grupo A ha permitido distinguir entre los humanos, tres genogrupos: dos principales, representados por las cepas de referencia Wa y DS-1, y uno menor, representado por la cepa AU-1 (Fig 2C) (23). Genogrupos similares han sido descritos para cepas de origen animal, si bien caracterizadas por una mayor complejidad. Las técnicas de hibridización han sido de gran utilidad para investigar posibles eventos de

rearreglos genéticos entre cepas humanas pertenecientes a diferentes genogrupos, o entre cepas humanas y animales (24).

Actualmente, el análisis y comparación de la secuencia parcial o completa de los 11 segmentos genómicos es aplicado para la creación de un nuevo sistema de clasificación para los rotavirus que permite la determinación directa de las relaciones genéticas (18) mediante el análisis filogenético y la comprensión de los patrones de evolución, basados en la determinación de los valores límite de identidad (Fig 2D). Este tipo de clasificación permite identificar cluster/genotipos que han seguido atajos evolucionarios diferentes, eventos de rearreglo, y relación genética entre rotavirus de diferente origen animal (18).

Ciclo replicativo de los rotavirus. Los rotavirus presentan un tropismo celular específico *in vivo*, infectando principalmente enterocitos maduros de las vellosidades del intestino delgado. Sin embargo, la evidente diseminación extra-intestinal del virus durante la infección (25) sugiere la existencia de una más amplia diversidad de células huéspedes. *In vitro*, los rotavirus infectan varias líneas celulares continuas derivadas de riñón de mono, en donde el proceso de replicación del virus es rápido (se completa en 10-12 horas a 37°C) (2), previa activación de la infectividad con proteasas exógenas. La replicación de los rotavirus es citoplásmica y no requiere de enzimas celulares, ya que el virus provee las necesarias para la replicación del ARN_{dc}, que se lleva a cabo en los viroplasma citoplasmáticos (2).

Interacción temprana virus-célula. La proteína VP4 es la principal proteína de ataque celular de los rotavirus, sin embargo el receptor celular aún no se conoce. La infectividad inicial de algunas cepas virales de origen animal, denominadas sensibles a neuraminidasa (NS) depende de la presencia de ácido siálico sobre moléculas de la superficie celular. Sin embargo, esta interacción no es esencial, ya que muchas cepas animales y la mayoría de las humanas parecen interactuar con una molécula de superficie neuraminidasa-resistente (NR) (26).

Recientes modelos plantean que la entrada de rotavirus a la célula es un proceso de etapas múltiples, en donde diferentes dominios de proteínas de superficie del virus interactúan en secuencia con diferentes moléculas de la superficie celular, que intervienen como receptores de ataque y entrada (27). El contacto inicial de un virus NS, mediado por un receptor en la célula que contiene ácido siálico, entre el dominio VP8 (aa. 93-208) de la proteína VP4 del rotavirus y el receptor celular, induce cambios conformacionales en la VP4 que permiten al virus interactuar con la integrina $\alpha\beta 1$ a través de la proteína VP5 (aa. 308-310) (26). Las cepas NR podrían interactuar directamente, a través de la VP5, con la integrina $\alpha\beta 1$. Después de esta interacción, otras uniones acontecen entre la VP5 y la proteína de choque térmico 70 (hsp70) y la proteína VP7 con las integrinas $\alpha\beta 3$ y $\alpha\beta 2$ (27), las cuales funcionan como co-receptores y junto con la VP6 mediarían la penetración del virus en la célula (26-28)

Adicionalmente la participación de glicoproteínas, glicolípidos y colesterol en la infección por rotavirus sugiere que el(los) receptor(es) viral(es) podría(n) formar parte de microdominios glicosfingolipídicos llamados *rafts* o balsas lipídicas (26). Éstas servirían como plataforma para facilitar una interacción de las moléculas antes descritas, que funcionarían de receptor celular para la entrada de rotavirus a las células (26, 27, 29) El requerimiento de diferentes moléculas celulares que deberían estar presentes y organizadas en una manera precisa podría explicar el tropismo celular y tisular de estos virus (27).

Entrada del virus a la célula huésped y replicación del genoma viral. El mecanismo de penetración de los rotavirus en la célula aún no está claro. Efectuada la interacción temprana, la entrada puede darse a través de dos mecanismos: 1) endocitosis calcio-dependiente mediada por el receptor o 2) entrada directa del virus al citoplasma (2). Recientemente se ha propuesto que el mecanismo endocítico es dependiente de *rafts* (2, 29). El clivaje proteolítico de la VP4 con tripsina parece ser fundamental para la internalización del virus (2). En ambos modelos de entrada, la partícula DLP, transcripcionalmente activa, es liberada dentro del citoplasma por desnudamiento de la cápside externa. Inicia tanto la síntesis de transcritos (ARNm) para la producción de las proteínas virales, como la síntesis de la hebra negativa de ARN complementario, que permanece asociada a la hebra positiva para formar el ARN de doble cadena. La síntesis de ARN es mediada por una ARN-Polimerasa ARN-dependiente viral endógena. Segmentos de ARNdc formados dentro de las partículas sub-virales, concentrados en una estructura conocida como viroplasma en el citoplasma, formarán el genoma de la progenie viral (2).

Ensamblaje, maduración y liberación de la progenie viral. Las partículas subvirales maduran por gemación a través de la membrana del retículo endoplasmático (RE), en donde adquieren las proteínas de la capsida externa (2). La formación de partículas transitoriamente envueltas es una peculiaridad de la morfogénesis de los rotavirus, en un proceso en el cual la proteína NSP4 sintetizada en el RE, funciona como receptor intracelular. La envoltura es substituida durante la maduración, por una delgada capa de proteínas VP7 que formará la capsida externa del virión. La maduración de los rotavirus es un proceso dependiente de calcio (Ca^{2+}). Se cree que el Ca^{2+} estabiliza o modula la compartimentalización de la VP7 glicosilada durante el ensamblaje y empaquetamiento de la progenie viral, y que la VP7 está involucrada en la remoción de la envoltura transitoria de las partículas (2). Finalmente, la nueva progenie viral se libera de las células por lisis celular, aunque también se ha reportado un mecanismo de muerte celular programada (2, 30).

Patogénesis de la diarrea por rotavirus Los rotavirus infectan los enterocitos maduros de los dos tercios proximales del íleo, y causan la diarrea a través de diferentes mecanismos (FIG 3). En primer lugar, la muerte celular causada por la liberación de la progenie viral conduce a la atrofia de las vellosidades intestinales e hiperplasia de las células secretoras de las criptas que determina una disminución en la capacidad de absorción del intestino, conduciendo a un aumento de la excreción de agua y electrolitos. La disfunción del epitelio causa a su vez una disminución en la expresión de las disacaridasas en la superficie apical de la célula y un efecto osmótico, provocado por la acumulación de carbohidratos en el intestino delgado, que acentúa la pérdida de fluidos (2).

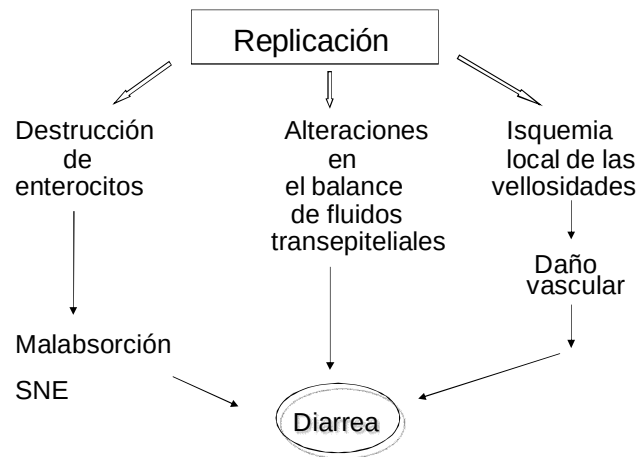


Figura 3. Mecanismos patogénicos de la diarrea por rotavirus. La replicación viral en el enterocito es el evento común que conduce a: a) una destrucción masiva de las células y pérdida de las capacidades digestivas; b) una activación de una vía Ca^{2+} -dependiente mediada por la NSP4 viral que conduce a un incremento en la permeabilidad de membrana de las células de las criptas, con aumento en la secreción de fluidos y electrolitos, y c) una isquemia local que se traduce en un daño vascular y activación de neuronas motosecretoras del sistema nervioso entérico con liberación de aminas vasoactivas. Los 3 eventos confluyen en un final común denominado diarrea.

Adicionalmente, la proteína NSP4 de rotavirus es capaz de activar, en ausencia de daño aparente a la mucosa, una vía de señalización Ca^{2+} -dependiente que conduce a un incremento en la permeabilidad de membrana para los electrolitos. La NSP4 liberada se une a células no infectadas mediante receptores aún no identificados, y activa la cascada de la fosfolipasa C-inositol trifosfato (PLC-IP3) que culmina con la liberación de Ca^{2+} del RE. Esto causa en las células de la cripta un aumento de la secreción de iones cloro, generando una diarrea de tipo secretora (2).

Los rotavirus parecen activar también, a través de la NSP4, neuronas motosecretoras del sistema nervioso entérico, que estimulan la secreción de fluidos y solutos, efecto mediado por la vía del péptido intestinal vasoactivo (31).

Sintomatología y tratamiento. Todos los grupos de edades son susceptibles de infección por rotavirus, sin embargo la gastroenteritis afecta principalmente niños y lactantes, y se asocia con mayor frecuencia a hospitalización, deshidratación, vómito y fiebre, que las diarreas causadas por otros agentes virales. Se caracteriza por un período de incubación de 24-72 horas y manifestaciones clínicas variables desde formas asintomáticas hasta formas muy severas con diarrea, deshidratación, fiebre, vómito, anorexia y dolor abdominal (2). Por lo general la infección se autolimita en niños normales y bien nutridos (entre 2-14 días). Los rotavirus pueden causar infección crónica en pacientes con inmunodeficiencia congénita o adquirida (2). Se describen infecciones nosocomiales en retenes neonatales (2).

El tratamiento de la diarrea causada por rotavirus se basa en la aplicación de una terapia de rehidratación, oral y/o parenteral, según el grado de deshidratación, y una dieta libre de lactosa.

Inmunidad de la infección por rotavirus. Los rotavirus producen una infección local en las células de las vellosidades del intestino, generando una inmunidad, parcial y de corta duración (< 1 año), mediada por anticuerpos específicos IgM, IgG e IgA secretoras, y una

inmunidad celular mediada por células Natural Killer, linfocitos T citotóxicos (LTCs), citocinas y otros productos químicos (32).

En la mucosa intestinal los rotavirus hacen contacto con las *células M* (células epiteliales especializadas, en donde probablemente se replican activamente sin difundir a los tejidos profundos) (33). Éstas median el transporte del virus hacia las Placas de Peyer, en donde son presentados por los macrófagos, las células B y otras células a las células vírgenes (Th0), dando inicio a la respuesta efectora en la lámina propia del intestino, inducida por citocinas. En este proceso participan células B virus-específicas para la secreción de IgAs, primordiales para la defensa de la mucosa, y LTCs los cuales ejercen su actividad antiviral a través de la lisis directa, la inducción de apoptosis y la producción de citocinas, y juegan un papel en la resolución de la enfermedad (32).

Numerosos estudios sugieren que la infección natural con rotavirus induce protección contra la diarrea en una reinfección (2, 32, 34). Estas evidencias constituyeron las bases para el desarrollo de vacunas contra este agente viral. La infección induce anticuerpos neutralizantes (IgG) homotípicos dirigidos contra la VP7, y en menor proporción contra la VP4. La acción neutralizante de los anticuerpos es dada por la unión con el antígeno (interferencia conformacional) la cual bloquea la unión del virus a los receptores celulares y, por ende, su entrada a la célula. Posteriores exposiciones al virus parecen estimular una respuesta inmune heterotípica contra la VP7 y VP4 (32).

Hallazgos recientes evidencian la participación de una inmunidad mediada por anticuerpos contra la VP6 o contra proteínas no estructurales como la NSP4. Anticuerpos no neutralizantes contra la VP6 se producen en ratones durante la infección con rotavirus, los cuales inducen una inmunidad bloqueando canales para el transporte de los ácidos nucleicos, afectando la transcripción (35). Este mecanismo intracelular de inactivación viral podría explicar la protección heterotípica en la infección natural y durante la inmunización activa con vacunas observada por algunos.

El papel patogénico e inmunogénico demostrado para la proteína NSP4, capaz de actuar como enterotoxina y producir diarrea en ratones (36) abre nuevos frentes en la búsqueda de estrategias para la inmunización y tratamiento contra la diarrea por rotavirus. Esta proteína es capaz de inducir una respuesta humoral, mediada por anticuerpos que parecen correlacionarse con protección durante la infección natural o sucesiva a la vacunación, y una respuesta celular, que posiblemente involucra LTCs en humanos y animales (36-38).

Diagnostico de la infección por rotavirus. Para el diagnostico diferencial de infección por rotavirus, es necesario demostrar la presencia del virus, antígenos o genoma viral en una muestra de heces de niño diarreico. La demostración de una respuesta inmune específica en suero tiene una utilidad relativa a los fines diagnósticos. Las pruebas convencionales para la detección de antígenos, se basan en ensayos inmunoenzimáticos comerciales (ELISA) o microscopia electrónica. La mayoría de los ensayos ELISA para uso diagnóstico detectan epitopes cruzados ubicados sobre la proteína VP6 de la capsida intermedia del virión. Otros sistemas utilizados para detectar infección por rotavirus se basan en ensayos de aglutinación al latex, contrainmunolectroforesis, o electroforesis en gel para revelar el genoma viral.

Técnicas de mayor sensibilidad como la RT-PCR (retrotranscripción y reacción polimerásica en cadena) pueden detectar el genoma viral en muestras con una menor carga viral hasta 57 días después del inicio de la diarrea (2).

Epidemiología molecular. Numerosos estudios documentan la amplia diversidad antigénica y genómica de los rotavirus que circulan en el mundo. Los rotavirus de tipo G1P[8], G2P[4], G3P[8] y G4P[8] han sido responsables de la mayoría de los casos de diarrea infantil en el mundo (2, 19). Sin embargo, la incidencia relativa de cada uno puede variar en el tiempo en una misma área geográfica o en el mismo momento en diferentes localidades. Las combinaciones de tipos G-P mencionadas representan más del 90% de las infecciones por rotavirus en América del Norte, Europa y Australia, mientras que en América del Sur y Asia constituyen solo el 68%, y en África el 50%. Cepas de virus con otras combinaciones G-P, consideradas inusuales, han sido descritas también y representan el 5% de todos los aislados en el mundo (19). Estudios realizados en Venezuela entre los años 1988-1993 por I. Pérez-Schael y col. documentan la diversidad de cepas de rotavirus circulantes y el predominio del tipo G1, sobre G2 y G4 (39) (Figura 4).

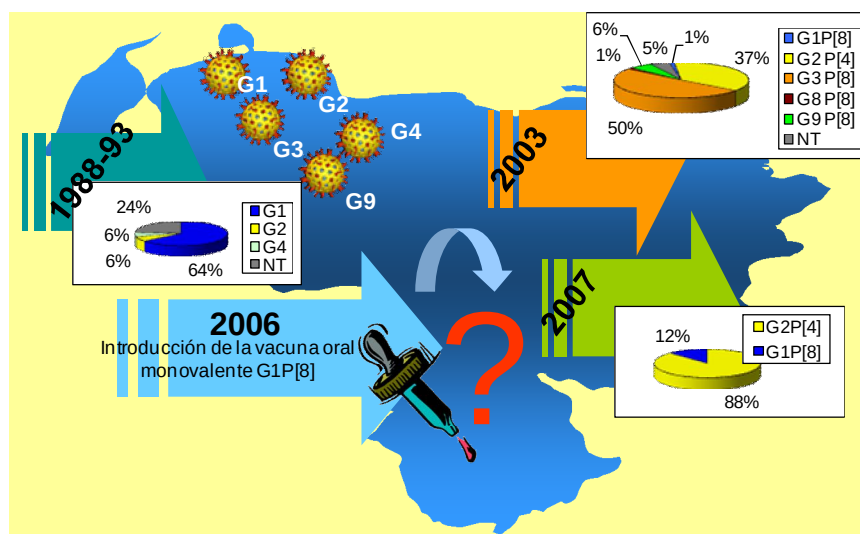


Figura 4. Epidemiología de la infección por rotavirus en Venezuela en los últimos 20 años. En el gráfico se muestran las variaciones temporales en las características antigénicas de las cepas de rotavirus circulantes en Venezuela (datos de Caracas y Valencia). Se evidencia una disminución en la prevalencia del tipo G1 en el periodo comprendido entre los años 1993 y 2003, un aumento en la circulación de cepas de tipo G2P[4], que se tornan predominantes en el 2007, año sucesivo al inicio de la aplicación de la vacuna monovalente G1P[8]. El tipo G3P[8] que circulaba durante el 2003 se redujo considerablemente en el 2007. Los otros tipos circularon escasamente (39) y (Vizzi E., datos no publicados).

En un estudio realizado con niños diarreicos en la CHET en Valencia en el año 2003, se observó predominio de rotavirus G3P[8] (Vizzi E., datos no publicados). El estudio describe también una drástica reducción en la prevalencia del tipo G1P[8] y por primera vez la presencia del tipo emergente G9P[8] en Venezuela, como reportado en otras partes del continente americano y el mundo (19). Mas recientemente, se señala la circulación de hasta 88% de cepas con un genotipo G2P[4] en Caracas (FIGURA 4) (Vizzi E., datos no publicados), hecho que debe ser evaluado a la luz de la introducción en Venezuela de la vacuna monovalente en el 2006.

Estas variaciones temporales en las características antigénicas de las cepas de rotavirus circulantes deben ser consideradas a la hora de evaluar el impacto que las estrategias de

prevención puedan tener en una determinada población. Si bien las vacunas actualmente en uso parecieran inducir protección contra cepas diferentes a las incluidas en la preparación, es necesario mantener un sistema de vigilancia constante en todo el mundo que permita detectar la eventual aparición o emergencia de nuevos tipos o nuevas constelaciones G-P que pudieran predominar en el tiempo.

Prevención. El gran impacto de las diarreas por rotavirus a nivel mundial resalta la necesidad de introducir estrategias de vacunación, con el objetivo de prevenir los episodios graves durante los primeros dos años de vida, cuando las consecuencias pueden ser mas serias. Las primeras observaciones sobre la historia natural de la infección con cepas de rotavirus salvaje en niños de edad temprana, capaces de inducir inmunidad contra sucesivos episodios de gastroenteritis severa, habían sugerido que era posible prevenir la diarrea por rotavirus mediante aplicación de una vacuna (34, 40).

El desarrollo de una vacuna para rotavirus ha sido un proceso largo y complejo. La primera estrategia se realizó sobre la base del enfoque que Jenner, en 1796, empleó en la vacuna antivariólica. Cepas de rotavirus animales, naturalmente atenuadas, son capaces de inducir protección cruzada contra rotavirus humanos. Bajo este principio, se probaron al inicio diferentes estrategias, utilizando una cepa de rotavirus de mono (RRV), y una cepa atenuada humana de neonato (M37). La respuesta poco satisfactoria a estas preparaciones indujo más tarde a desarrollar un enfoque denominado “Jenneriano modificado”, basado en la capacidad de rearreglo génico de los rotavirus (41). Cepas híbridas (mono-humanas) construidas a partir de la coinfección de virus humanos y animales en cultivos celulares, permitieron llegar a la vacuna tetravalente (RRV-TV o *RotaShield*TM), compuesta por una cepa de mono (RRV) y tres cepas virales rearregladas (42). La preparación contenía virus con proteínas VP7 de los tipos humanos de mayor circulación (G1, G2, G3 y G4), en un fundamento genético de origen simio. La RRV-TV fue probada exitosamente en Venezuela desde el 1985 en estudios clínicos que reportaban una eficacia contra las diarreas graves de aproximadamente 88%, dependiendo de la edad de aplicación, estudios que culminaron con el otorgamiento de la licencia a los laboratorios Wyeth-Lederle en los EEUU en 1998. Sin embargo, en 1999 fue retirada del mercado a causa de su asociación con un incremento de hasta 8 veces de una afección, denominada invaginación intestinal, en niños vacunados, durante la primera semana post-vacunación, de acuerdo a lo estimado por el Sistema de Reporte de Reacciones Adversas a Vacunas (VAERS) (43). Este hecho condujo a una reevaluación de las normas de seguridad y estrategias para el desarrollo de nuevas vacunas, que deberían ser probadas ya sea en países desarrollados, como en desarrollo, en análisis orientados a determinar el costo-beneficio de aplicación (44).

En la actualidad dos nuevas vacunas con licencia, la Rotarix® de GlaxoSmithKline y la RotaTeq® de Merck & Co., Inc, ambas suministradas por vía oral en edad muy temprana (primera dosis en niños de edad máxima 12 semanas), están siendo aplicadas en más de 90 países, con buena tolerabilidad e índices de eficacia (45-47). La vacuna Rotarix® tiene la ventaja de ser una vacuna viva derivada de la cepa humana 89-12 monovalente (G1P[8]), atenuada por múltiples pasajes en cultivo celular (48), que suministrada en dos dosis es capaz de inducir 91% de protección contra las diarreas severas causadas por cepas homotípicas (G-P), algo menos (45%) contra los episodios causados por cepas heterotípicas, y no ha sido asociada a fenómenos de invaginación intestinal (45, 47). Rotarix® tiene actualmente licencia en Europa, EEUU y varios países de América Latina (Brasil, Ecuador, El Salvador, México, Panamá y Venezuela), Oriente Medio, Asia y África. La RotaTeq® es una vacuna viva pentavalente, preparada con cinco cepas rearregladas bovino-humano, que protege específicamente contra los 4 más comunes tipos G (G1-G4) y

el más común tipo P (P[8]) (49) capaz de proteger contra el 95% de la diarrea severa (50). RotaTeq® ha sido licenciada en Europa y EEUU. Estudios preliminares sugieren que ambas vacunas están determinando un impacto positivo sobre la diarrea por rotavirus (51).

La variabilidad descrita en el nivel de protección alcanzado con las vacunas a virus vivo en poblaciones de países en desarrollo, el riesgo de rearreglo génico entre cepas relacionado con su aplicación, la serotipo-especificidad en la respuesta y algunos raros efectos adversos descritos, estimulan constantemente la búsqueda de alternativas de prevención. El desarrollo de la biología molecular ha permitido la creación de vacunas a virus inactivados no replicantes de aplicación intradérmica, pseudo-partículas virales (VLPs), ADN microencapsulados, subunidades proteicas expresadas por vectores, o cepas adaptadas para crecer a bajas temperaturas, probadas con éxito en modelos animales y en voluntarios humanos (52). Estas estrategias de menor costo, dan ningún riesgo de invaginación intestinal y un nivel de respuesta inmune comparable en niños de cualquier región (52), aunque la eficacia definitiva debe ser aún establecida.

En conclusión, la implementación de programas de vacunación para rotavirus promete reducir efectivamente el impacto de la diarrea y los costos sanitarios relacionados. Para ello, es necesario mantener la vigilancia epidemiológica para evaluar si las actuales vacunas protegen contra tipos múltiples de rotavirus o para detectar la aparición de eventuales cepas antigénicamente diferentes.

Conclusión El impacto en el mundo de la enfermedad causada por los rotavirus ha estimulado en gran medida el análisis de aspectos biológicos, epidemiológicos y clínicos relacionados. La historia natural de la infección, la inmunidad y protección generada y la enorme variabilidad que los caracteriza han sido objeto de estudio en múltiples ocasiones, aunque numerosos aspectos quedan aún por elucidar. El conocimiento de los mecanismos patogénéticos resulta trascendental para el desarrollo de estrategias terapéuticas, de prevención y control.

Si bien la mejor vacuna es la que induce una protección completa y de larga duración, un formidable avance ha sido alcanzado con la comercialización mundial de dos vacunas antirotavirus, cuyo objetivo primordial es prevenir la diarrea severa. La anterior experiencia con la vacuna tetravalente RRV-TV, actualmente retirada del mercado, sin duda alguna sentó las bases y las pautas para la aplicación de las nuevas preparaciones. Las vacunas vivas atenuadas Rotarix® y RotaTeq®, actualmente en uso, prometen excelentes resultados. En países en desarrollo, los innegables beneficios relacionados con la inmunización de la población infantil serán más evidentes con la progresiva reducción de las tasas de mortalidad asociadas a infecciones por rotavirus y de los costos de salud pública relacionados con el tratamiento y la hospitalización. El desarrollo de vacunas inactivadas debe continuar debido a la necesidad de prescindir de la limitación de edad que existe con la aplicación de las vacunas a virus vivo, una restricción motivada por los inesperados reportes de mayor incidencia de invaginación intestinal manifestada en niños de mayor edad durante la aplicación de la vacuna RRV-TV (53). Otra cuestión por definir es el uso de una vacuna viva atenuada en niños con inmunodeficiencia congénita o adquirida.

Estudios futuros deberán velar por la capacidad de las actuales vacunas de inducir protección contra cepas de rotavirus inusuales o emergentes, que pudieran diferir de las cepas utilizadas para su creación. Es fundamental el mantenimiento de un sistema de vigilancia epidemiológica alrededor del mundo que permita estudiar la evolución y dinámica de la transmisión de rotavirus, así como la eventual aparición de cepas con rearreglos

genéticos humano/animales. Es probable que la formulación de la próxima generación de vacunas deba ser ajustada considerando estas variaciones geográficas.

BIBLIOGRAFIA

1. Glass RI, Bresee J, Jiang B, Gentsch J, Ando T, Fankhauser R, Noel J, Parashar U, Rosen B, Monroe SS. Gastroenteritis viruses: an overview. In: Novartis Found Symp. John Wiley & Sons. LTD, Chichester. England 2001; p. 5-25.
2. Estes MK, Kapikian AZ. Rotaviruses. En: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Straus SE editores. *Fields Virology*. 5^{ta} edición. Kluwer Health/Lippincott, Williams and Wilkins. Philadelphia. 2007; p.1917–1974.
3. Parashar UD, Hummelman EG, Bresee JS, Miller MA, Glass RI. Global Illness and Deaths Caused by Rotavirus Disease in Children. *Emerg Infect Dis* 2003; 9:565-572.
4. Wilhelmi I, Roman E, Sánchez-Fauquier A. Review: Viruses causing gastroenteritis. *Clin Microbiol And Infect* 2003; 9:247-262.
5. Bishop RF, Davidson GP, Holmes IH, Ruck BJ. Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute non-bacterial gastroenteritis. *Lancet* 1973; 2:1281-1283
6. Flewett TH, Bryden AS, Davies H. Virus particles in gastroenteritis. *Lancet* 1973; 2: 1497.
7. Esparza J, Viera de Torres B, Piñero A, Carmona FO, de Ilja RM. Rotaviruses in Venezuelan children with gastroenteritis. *Am J Trop Med Hyg* 1977; 26:148-5
8. Flewett TH, Bryden AS, Davies H, CA Morris. Relation between viruses from acute gastroenteritis of children and newborn calves. *Lancet* 1974; 2:61-63
9. Salinas B, González G, González R, Escalona M, Materán M, Schael IP. Epidemiologic and clinical characteristics of rotavirus disease during five years of surveillance in Venezuela. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23:S161-7.
10. Pérez-Schael I, Salinas B, González R, Salas H, Ludert JE, Escalona M, Alcalá A, Rosas MA, Materán M. Rotavirus mortality confirmed by etiologic identification in Venezuelan children with diarrhea. *Pediatr Infect Dis J*. 2007; 26: 393-7
11. Herring A, Inglis N, Ojeh C, Snodgrass D, Menzie S. Rapid diagnosis of rotavirus infection by direct detection of viral nucleic acid in silver-stained polyacrilamide gels. *J Clin Microbiol* 1982; 16:473-477.
12. Estes MK, Graham DY, Dimitrov DH. The molecular epidemiology of rotavirus gastroenteritis. *Prog Med Virol* 1984; 29:1-22
13. Mertens PPC; Duncan R, Attoui H, Dermody TS. Reoviridae. En: Fauquet C, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, Ball LA. , editors. *Virus Taxonomy: Eight Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier, Academic Press; Amsterdam, Holland: 2005; pp. 447–560.
14. Ciarlet M, Estes MK. Rotaviruses: basic biology, epidemiology and methodologies. In: Britton G., editor. *Encyclopedia of Environmental Microbiology*. John Wiley & Sons; New York: 2002; pp. 2573–2773.
15. Gorziglia M, Hoshino Y, Nishikawa K, Maloy WL, Jones RW, Kapikian AZ, Chanock RM. Comparative sequence analysis of the genomic segment 6 of four rotaviruses each with a different subgroup specificity. *J. Gen Virol* 1988; 69:1659–1669.

16. Iturriza-Gómara M, Wong C, Blome S, Desselberger U, Gray J. Molecular Characterization of VP6 Genes of Human Rotavirus Isolates: Correlation of Genogroups with Subgroups and Evidence of Independent Segregation. *J Virol* 2002; 76:6596–6601
17. Graham DY, Estes MK. Proposed working serologic classification system for rotaviruses. *Annales de l'Institut Pasteur de Virologie* 1985;136:5–12
18. Matthijnssens J, Ciarlet M, Heiman E, Arijis I, Delbeke T, McDonald SM, et al. Full genome-based classification of rotaviruses reveals common origin between human Wa-like and porcine rotavirus strains and human DS-1-like and bovine rotavirus strains. *J Virol*. 2008; 82:3204–3219.
19. Santos N, Hoshino Y. Global distribution of rotavirus serotypes/genotypes and its implication for the development and implementation of an effective rotavirus vaccine. *Rev. Med. Virol* 2005; 15:29-56
20. Ciarlet M, Liprandi F, Conner M.E. Estes MK. Species specificity and interspecies relatedness of NSP4 genetic groups by comparative NSP4 sequence analyses of animal rotaviruses. *Arch. Virol* 2000; 145:371-383.
21. Mori Y, Borgan MA, Ito N, Sugiyama M, Minamoto N. Sequential analysis of nonstructural protein NSP4s derived from Group A avian rotaviruses *Virus Research* 2002; 89:145-151
22. Ito H, Sugiyama M, Masubuchi K, Mori Y, Minamoto N. Complete nucleotide sequence of a group A avian rotavirus genome and a comparison with its counterparts of mammalian rotavirus. *Virus Res* 2001; 75:123-138.
23. Nakagomi O, Nakagomi T, Akatani K, Ikegami N. Identification of rotavirus genogroups by RNA-RNA hybridization. *Mol Cell Probes* 1989; 3:251–261.
24. Nakagomi O, Nakagomi T. Genomic relationships among rotaviruses recovered from various animal species as revealed by RNA-RNA hybridization assays. *Res Vet Sci* 2002; 73:207–214.
25. Ushijima H, Xin KQ, Nishimura S, Morikawa S, Abe T. Detection and sequencing of rotavirus VP7 gene from human materials (stools, sera, cerebrospinal fluids, and throat swabs) by reverse transcription and PCR. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 2893–97.
26. Arias CF, Guerrero CA, Méndez E, Zárate S, Isa P, Espinosa R, et al. Early events of rotavirus infection: the search for the receptor(s). *Novartis Found Symp*, John Wiley & Sons. LTD, Chichester. England. 2001; p.47-60.
27. Arias CF, Lopez S. Early steps in rotavirus cell entry. *Curr Top Microbiol Immunol* 2006; 309:39-66.
28. Gualtero DF, Guzmán F, Acosta O, Guerrero CA. Amino acid domains 280-297 of VP6 and 531-554 of VP4 are implicated in heat shock cognate protein hsc70-mediated rotavirus infection. *Arch Virol* 2007; 152:2183-96.
29. López S, Arias CF. Multistep entry of rotavirus into cells: a Versaillesque dance. *Trends Microbiol* 2004; 12:271-278.
30. Ruiz MC, Cohen K, Michelangeli F. Role of Ca^{2+} in the replication and pathogenesis of rotavirus and other viral infections. *Cell Calcium* 2000 ; 28: 137-149.
31. Kordasti S, Sjoval H, Lundgren O, Svensson L. Serotonin and vasoactive intestinal peptide antagonists attenuate rotavirus diarrhoea. *Gut* 2004; 53:952–957.
32. Offit PA. Correlates of protection against rotavirus infection and disease. *En Gastroenteritis viruses*. Novartis Found Symp. Ed. by John Wiley & Sons, LTD, Chichester, England 2001; 106-124.
33. Flint SJ, Enquist LW, Racaniello V R, Skalka AM. Viral pathogenesis. *En: Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis, and Control of Animal Viruses*, 1^{ra} ed. ASM Press. Washington DC. 2000; 595-628.

34. Bishop RF, Barnes GL, Cipriani E, Lund JS. Clinical immunity after neonatal rotavirus infection. A prospective longitudinal study in young children. *N Engl J Med* 1983; 309:72-76.
35. Feng N, Lawton JA, Gilbert J, Kuklin N, Vo P, Prasad BV, Greenberg HB. Inhibition of rotavirus replication by a non-neutralizing, rotavirus VP6-specific IgA mAb. *J Clin Invest* 2002; 109: 1203-121
36. Ball JM, Tian P, Zeng CQ-Y, Morris AP, Estes MK. Age-dependent diarrhea induced by a rotaviral nonstructural glycoprotein. *Science* 1996; 272:101-104.
37. Johansen K, Hinkula J, Espinoza F, Levi M, Zeng C, Rudén U, et al. Humoral and cell-mediated immune responses in humans to the NSP4 enterotoxin of rotavirus. *J Med Virol* 1999; 59:369-377.
38. Vizzi E, Calviño E, González R, Pérez-Schael I, Ciarlet M, Kang G, et al. Evaluation of serum antibody responses against the rotavirus nonstructural protein NSP4 in children after rhesus rotavirus tetravalent vaccination or natural infection. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005; 12:1157-63
39. Pérez-Schael I, González R, Fernández R, Alfonso E, Inaty D, Boher Y, Sarmiento L. Epidemiological features of rotavirus infection in Caracas, Venezuela: implications for rotavirus immunization programs. *J. Med Virol* 1999; 59:520-526.
40. Widdowson MA, Bresee JS, Gentsch JR, Glass RI. Rotavirus disease and its prevention. *Curr Opin Gastroenterol* 2004; 21:26–31.
41. Midthun K, Greenberg HB, Hoshino Y, Kapikian AZ, Wyatt RG, Chanock RM. Reassortant rotaviruses as potencial live rotavirus vaccine candidates. *J Virol* 1985; 53:949-954.
42. Kapikian AZ, Hoshino Y, Chanock RM, Pérez-Schael I. Efficacy of a quadrivalent rhesus rotavirus-based human rotavirus vaccine aimed at preventing severe rotavirus diarrhea in infants and young children. *J Infect Dis* 1996; 174:S65-72.
43. Zanardi LR, Haber P, Mootrey GT, Niu M, Wharton M, VAERS working group. Intussusception among recipients of rotavirus vaccine: report to the vaccine adverse reporting system. *Pediatrics* 2001; 107:1-6.
44. Glass RI, Parashar UD, Bresee JS, Turcios R, Fischer TK, Widdowson MA, Jiang B, Gentsch JR. Rotavirus vaccines: current prospects and future challenges. *Lancet* 2006; 368:323-32.
45. Salinas B, Pérez-Schael I, Linhares AC, Ruiz Palacios GM, Guerrero ML, Yarzábal JP, Cervantes Y, Costa Clemens S, Damaso S, Hardt K, De Vos B. Evaluation of safety, immunogenicity and efficacy of an attenuated rotavirus vaccine, RIX4414: A randomized, placebo-controlled trial in Latin American infants. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24:807-16
46. Vesikari T, Matson DO, Dennehy P, Van Damme P, Santosham M, Rodriguez Z, et al. Rotavirus Efficacy and Safety Trial (REST) Study Team. Safety and efficacy of a pentavalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine. *N Engl J Med* 2006; 354:23–33.
47. Ruiz-Palacios GM, Perez-Schael I, Velazquez FR, Abate H, Breuer T, Clemens SC, et al. Human Rotavirus Vaccine Study Group. Safety and efficacy of an attenuated vaccine against severe rotavirus gastroenteritis. *N Engl J Med* 2006; 354:11–22.
48. Bernstein DI, Smith VE, Sherwood JR, Schiff GM, Sander DS, DeFeudis D, et al. Safety and immunogenicity of live, attenuated human rotavirus vaccine 89-12. *Vaccine* 1998; 16:381-387
49. Heaton PM, Goveia MG, Miller JM, Offit P, Clark HF. Development of a pentavalent rotavirus vaccine against prevalent serotypes of rotavirus gastroenteritis. *J Infect Dis* 2005;192:Suppl 1:S17-S21
50. Clark HF, Offit PA, Plotkin SA, Heaton PM. The new pentavalent rotavirus vaccine composed of bovine (strain WC3) -human rotavirus reassortants. *Pediatr Infect Dis J.* 2006 ;25:577-83

51. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Delayed onset and diminished magnitude of rotavirus activity – United States. First report indicating that the new rotavirus vaccines are having a positive effect in the USA. November 2007–May 2008. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2008; 57:697–700.
52. Jiang B, Gentsch JR, Glass RI. Inactivated rotavirus vaccines: A priority for accelerated vaccine development. Vaccine 2008; 26:6754–6758
53. Simonsen L, Viboud C, Elixhauser A, Taylor RJ, Kapikian AZ. More on RotaShield and intussusception: the role of age at the time of vaccination. J Infect Dis 2005; 192(Supl 1):S36–43

Salus

Revista de la Facultad de Ciencias de la Salud-Universidad de Carabobo

VOLUMEN 12 – Sup. 1 Editor invitado: Prof. Francisco Triana Alonso

Decano FCS y Presidente Consejo Superior

Prof. José Corado

Editora- Fundadora

Prof. María Jordán de Pelayo
(1997-2006)

Directora-Editora

Prof. Ana Rita De Lima

Co-Editora

Prof. Marisol García de Yegüez

Coordinador Técnico

Prof. Cruz Manuel Aguilar

Salus online

Prof. Ricardo Montoreano

Comité Asesor

Prof. María Jordán de Pelayo

Prof. Gladys Febres de Salas

Prof. Wolfan Araque

Prof. Ricardo Montoreano

Prof. Julio González

Árbitros

Miembros del Personal Docente y de Investigación U.C. y de otras instituciones de educación superior

Colaboradores

Prof. Jeannette Silva

Dpto. Idiomas FCS

<http://servicio.ciduc.edu.ve/fcs>

<http://salus-online.fcs.uc.edu.ve/>